

**Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental**

JOÃO CAIRO FERREIRA

**BACTÉRIAS POTENCIALMENTE RESISTENTES A
ANTIBIÓTICOS, DESINFETANTES E RADIAÇÃO
ULTRAVIOLETA, ISOLADAS DE ESGOTO
HOSPITALAR E ESGOTO SANITÁRIO.**

DISSERTAÇÃO

**LONDRINA
2015**

JOÃO CAIRO FERREIRA

**BACTÉRIAS POTENCIALMENTE RESISTENTES A
ANTIBIÓTICOS, DESINFETANTES E RADIAÇÃO
ULTRAVIOLETA, ISOLADAS DE ESGOTO
HOSPITALAR E ESGOTO SANITÁRIO**

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Engenharia Ambiental, do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Câmpus Apucarana/Londrina. Área de Concentração: Saneamento Ambiental

Orientadora: Profa. Dra. Kátia Valéria Marques
Cardoso Prates

Coorientador: Prof. Dr. Ajadir Fazolo

LONDRINA

2015

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Biblioteca UTFPR - Câmpus Londrina

F383b Ferreira, João Cairo

Bactérias potencialmente resistentes a antibióticos, desinfetantes e radiação ultravioleta, isoladas de esgoto hospitalar e esgoto sanitário/ João Cairo
Ferreira. – Londrina: [s.n.], 2015.

162 f.: il.; 30 cm.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Kátia Valéria Marques Cardoso Prates

Co-Orientador: Prof. Dr. Ajadir Fazolo

Dissertação (Mestrado) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná.
Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental. Londrina, 2015.

Bibliografia: f. 143-162.

1. Esgotos. 2. Efluentes. 3. Águas Residuais - Tratamento. I. Prates, Kátia Valéria Marques Cardoso, orient. II. Fazolo, Ajadir, coorient. III. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. IV. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental. V. Título.

CDD: 628



Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Pró-reitora de Pesquisa e Pós Graduação
Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental
Campus Apucarana/Londrina



TERMO DE APROVAÇÃO

BACTÉRIAS POTENCIALMENTE RESISTENTES A ANTIBIÓTICOS, DESINFETANTES E RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA, ISOLADAS DE ESGOTO HOSPITALAR E ESGOTO SANITÁRIO

por

João Cairo Ferreira

Dissertação de mestrado apresentada no dia 09 de abril de 2015 como requisito parcial para a obtenção do título de MESTRE EM ENGENHARIA AMBIENTAL pelo Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental, Câmpus Apucarana/Londrina, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. O Candidato foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho Aprovado (Aprovado ou Reprovado)

Kátia Valéria Marques Cardoso Prates
Prof. Dr^(a)- Orientador - (UTFPR)

Renata Katsuko Takayama Kobayashi
Prof. Dr^(a)- Membro Titular - (UEL)

Ricardo Nagamine Costanzi
Prof. Dr^(a)- Membro Titular - (UTFPR)

Prof. Dr Edson Fontes de Oliveira

Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental

À Tatiana Vettori Ferreira, pelo exemplo de garra e fibra que
companheira e persistente não me deixou esquecer desse sonho,
sempre me apoiando e me fazendo persistir até o fim.

AGRADECIMENTOS

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

Primeiramente agradeço a Deus pelo seu amor infinito e por ter me dado força e sabedoria para continuar nos meus momentos mais difíceis. Agradeço a minha esposa Tatiana Vettori Ferreira, por toda sua dedicação e força que me deu neste período e em toda nossa vida juntos.

Agradeço também a meu pai Ademar Santo Ferreira, pelas leituras e ajudas em busca de alternativas mirabolantes de metodologia e a minha mãe Elizabeth Fernandes Ferreira, pela força e paciência em dados momentos.

Quero agradecer em especial a Profa. Dra. Kátia Valéria Marques Cardoso Prates, que sem entender porque, aceitou e deu voto de confiança a algo que alguns acharam uma loucura, outros impossível e outros sonho. Sua paciência, incentivo e amizade juntamente com o Prof. Dr. Ajadir Fazolo, mudaram minha vida acadêmica e tornaram tudo isso possível.

A todos os professores do programa, sem os quais, não poderia ter chego aqui, que sempre tinham tempo mesmo em corredores ou em sala de aula. Especialmente ao professor Dr. Ricardo Nagamine Costanzi que sempre estava disposto a retirar dúvidas e acrescentar a essa pesquisa. Aos professores Jorge Alberto Martins, Profa. Luciana Furlaneto-Maia, Prof. Admir Crésio de Lima Targino e Prof. Edson Fontes de Oliveira, sempre solícitos a retiradas de dúvidas.

Aos meus amigos, Michel Iuri Caetano, Laura Lahr Lourenço da Silva, Rafaela Mayumi Kawata, Luis Demétrio, Danielle Nakagawa, Camila Zoe, Taís Fernandes, Bruna, Flávia Gonçalves, Ana Alícia, pelo companheirismo, paciência e ajuda nos momentos de pesquisa e parte laboratorial do trabalho.

Ao professor Dr. Avacir Casanova Andrello, pela sua disposição e pronto atendimento aos testes realizados no Departamento de Física da Universidade Estadual de Londrina.

Á SAMAE – Serviço Autônomo Municipal de Água e Esgoto da cidade de Ibiporã-PR por ter permitido o acesso e a coleta do Entrada da ETE e tratado utilizados neste trabalho.

Ao Hospital Santa Terezinha de Ibiporã, em especial a seu administrador Paulo Roberto Zapparoli – Diretor Administrativo, pela disponibilidade de acesso e coleta do esgoto hospitalar para análise.

Este trabalho conta também com o aporte financeiro da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES.

*"Não diga para um sonhador – Você não vai conseguir!
Pois isso já torna o impossível em possível!"*

(Autor desconhecido)

RESUMO

FERREIRA, João Cairo. **Bactérias potencialmente resistentes a antibióticos, desinfetantes e radiação ultravioleta, isoladas de esgoto hospitalar e esgoto sanitário.** 2015 161f. Dissertação (Mestrado Acadêmico em Engenharia Ambiental) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental, Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Câmpus Apucarana/Londrina. Londrina, 2015.

O uso da água e seu posterior lançamento em corpos hídricos, pode ser um possível fator de disseminação de microrganismos potencialmente patogênicos e/ou resistentes. A presença destes microrganismos em águas tratadas ou não, pode representar considerável risco a saúde da população em geral e ao meio ambiente. No Brasil, segundo a legislação atual, os estabelecimentos assistenciais de saúde podem direcionar seus efluentes para a rede coletora e de tratamento de esgoto, juntamente com o esgoto doméstico. Considerando a sobrevivência dos microrganismos patogênicos lançados no esgoto hospitalar e sua permanência após os processos de tratamento, buscou-se realizar a quantificação, isolamento, identificação de bactérias ambientais oportunistas e/ou feco-orais (*Acinetobacter spp.*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*), presentes em esgoto hospitalar, entrada e saída de uma estação tratamento de esgoto - ETE, além de estudar a sensibilidade destes isolados a antimicrobianos (antibióticos e desinfetantes) e exposição à radiação Ultravioleta (UV). Amostras de esgoto foram coletadas durante um período de oito meses (Maio a Dezembro de 2013), sendo realizadas análises quanto a seus parâmetros físico-químicos (DQO, Série de Sólidos, pH, Nitrogênio Amoniacal, Turbidez) e análises microbiológicas (Isolamento, quantificação e identificação), e testes de sensibilidade a antibióticos e desinfetantes mais utilizados nos hospitais brasileiros e de contato com radiação ultravioleta. Foi constatado a existência de todos os gêneros/espécies foco deste estudo, em todos os pontos de coleta, além de resistência das bactérias aos antibióticos testados e tratamentos propostos. Um dos fatores de baixa eficiência para os tratamentos pode ser atribuída a quantidade elevada de sólidos suspensos dispersos no efluente e a crescente emergência de multirresistência para os testes de antibiograma. Estes fatores suscitam a necessidade de um maior controle pela comunidade científica e pela população em geral no que diz respeito ao impacto da presença dessas bactérias nos esgotos e posteriormente nos corpos hídricos, em seu ecossistema e a saúde pública.

Palavras-chave: multirresistência bacteriana; Inativação por radiação ultravioleta; efluentes brutos e tratados

ABSTRACT

FERREIRA, João Cairo. **Bacteria potentially resistant to antibiotics, disinfectants and UV radiation, isolated from hospital sewage and sanitation sewage.** 2015 161p. Dissertation (Master's Degree in Environmental Engineering) – Environmental Engineering Graduate Program, Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Campus of Apucarana/Londrina. Londrina, 2015.

The use of water and its posterior release into hydric bodies can be a possible factor of dissemination of microorganisms potentially pathogenic and/or resistant. The presence of these organisms in treated or untreated water may represent considerable threat to the general population's health and the environment. In Brazil, according to current legislation, health assistance establishments can direct its effluents to the sewage treatment and collection network together with domestic sewage. Taking into consideration the survival of pathogenic microorganisms released in hospital sewage as well as its permanence after treatment processes, this study realized the quantification, isolation and identification of opportunistic environmental and/or fecal-oral bacteria (*Acinetobacter spp.*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*), present in hospital sewage and in sewage treatment station entry and exit –ETE, and studied the sensibility of these isolated towards antimicrobials (antibiotics and disinfectants) and exposure to UV (Ultraviolet Radiation). Sewage samples were collected during a period of 8 months (from May to December 2013) to analyze their chemical-physical parameters (COD, Series of Solids, pH, Nitrogen Ammonia, Turbidity) and to carry out microbiological analyses (Isolation, quantification and identification) and sensibility tests to the most used antibiotics and disinfectants by Brazilian hospitals and in contact with UV radiation. The presence of all the species/ genus, which were the focus of this study, was detected in all collection points plus their resistance to tested antibiotics and proposed treatments. One of the low efficiency factors for the treatments were the high amount of suspended solids dispersed in the effluent and the increasing multi-resistance emergency to antibiogram tests. These factors have created the need for greater control by the scientific community and the general population in regards to the impact of the presence of these bacteria in sewages and later in hydric bodies, its ecosystem and public health.

Key words: bacterial resistance; Inactivation by UV radiation; thick and treated effluents

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Rotas e uso da água.....	28
Figura 2 – Classificação e distribuição dos sólidos em função do tamanho	35
Figura 3 - Quantidade total do grupo de antibióticos usados nos países europeus em 2011	43
Figura 4 – Consumo de diversas classes de antibióticos na Europa 2011.	44
Figura 5 - Datas da Descoberta de Classes Distintas de Drogas Antibacterianas	45
Figura 6 - Etapas principais da execução da pesquisa.....	56
Figura 7 - Diagrama de Dimensões e Fluxos da ETE onde foram realizadas as coletas.	59
Figura 8 - Pontos de amostragem. (A) Caixa Séptica do Hospital (Hospital); (B) Entrada de Esgotos na Estação de Tratamento de Esgoto – ETE (Entrada) e (C) Saída de Esgotos na Estação de Tratamento de Esgoto – ETE (Saída).	61
Figura 9 - Fotos do procedimento de Coleta. (A) Detalhe do Aparato de Coleta de amostra, (B) Coleta de amostra na saída da ETE, (C) Amostra coletada na ETE sendo envasada e (D) Amostra no frasco de coleta mantido sob refrigeração.	62
Figura 10 - Diluição em série das amostras coletadas e inoculação em Ágar <i>Difco CHROmagar Orientation</i> BD.....	69
Figura 11 - Aspecto e coloração das colônias em meio Ágar <i>Difco CHROmagar Orientation</i> BD	69
Figura 12 - Isolamento de colônias em meio Kasvi Ágar Mac Conkey Kasvi.....	70
Figura 13 – Resultado da bacterioscopia dos isolados para identificação da morfologia e coloração de Gram.	70
Figura 14 - Diagrama de teste de sensibilidade a antibióticos (antibiograma).	73
Figura 15 - Resultado de antibiograma, com destaque para a medida do tamanho do halo inibitório ao redor do disco de antibiótico.....	73
Figura 16 – Representação esquemática do procedimento para teste de sensibilidade a desinfetantes.	75
Figura 17 - Esterilizador de Água AG-01 – SIBRAPE UVC. 1 – Lâmpada Philips UVC 15WT8; 2 – Abertura para Entrada de Esgoto; 3 – Abertura para Saída de Esgoto; 4 - Tampa de Vedação em Aço Inox; 5 – Adaptador e Alimentador de Lâmpada; 6 – Conector Elétrico com Fusível; 7 – Botão liga/desliga; 8 – Ladrão para Purga.....	76
Figura 18 – Esquema de Aparato para Teste de Sensibilidade de UV - Faixas de Abrangência e Intensidade Luminosa.....	77
Figura 19 - Representação esquemática do procedimento para teste de sensibilidade com Radiação Ultravioleta.	79
Figura 20 - Esquema dos Cinco Números	80
Figura 21 - Esquema do Gráfico em Forma de Caixa - <i>Bloxplot</i>	81
Figura 22 – Digrama <i>boxplot</i> dos dados de DQO nos três pontos de amostragem ao longo do período de monitoramento.	83
Figura 23 – Diagrama <i>boxplot</i> do monitoramento da série de sólidos do esgoto hospitalar, na entrada e saída da ETE. (a) sólidos totais; (b) sólidos totais fixos; (c) sólidos totais voláteis; (d) sólidos suspensos totais; (e) sólidos suspensos fixos; e (f) sólidos suspensos voláteis.....	86
Figura 24 – Diagrama <i>Boxplot</i> de turbidez nos três pontos de amostragem ao longo do período de monitoramento.	89
Figura 25 – Diagrama <i>boxplot</i> dos dados de pH nos três pontos de amostragem ao longo do período de monitoramento.	90
Figura 26 – Diagrama <i>boxplot</i> dos dados de nitrogênio amoniacal nos três pontos de amostragem ao longo do período de monitoramento.....	92
Figura 27 - Quantificação Bactérias em Estudo (UFC.mL ⁻¹) por mês e pontos de coleta.	94

Figura 28 - Quantificação em UFC.mL ⁻¹ de <i>Acinetobacter spp.</i> por pontos e meses de coleta.	95
Figura 29 - Quantificação em UFC.mL ⁻¹ de <i>Escherichia coli</i> por pontos e meses de coleta.....	96
Figura 30 - Quantificação em UFC.mL ⁻¹ de <i>Klebsiella pneumoniae</i> por pontos e meses de coleta.	98
Figura 31 - Quantificação em UFC.mL ⁻¹ de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> por pontos e meses de coleta.	99
Figura 32 - Quantificação em UFC.mL ⁻¹ de <i>Staphylococcus aureus</i> por pontos e meses de coleta	100
Figura 33 - Perfil de sensibilidade a antibióticos dos isolados de <i>Acinetobacter spp.</i>	102
Figura 34 – Perfil de sensibilidade a antibióticos dos isolados de <i>Escherichia coli</i>	103
Figura 35 – Perfil de sensibilidade a antibióticos dos isolados de <i>Klebsiella pneumoniae</i>	105
Figura 36 - Perfil de sensibilidade a antibióticos dos isolados de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	106
Figura 37 - Perfil de Sensibilidade a Antibióticos dos Isolados de <i>Staphylococcus aureus</i>	107
Figura 38 – Isolados bacterianos testados em contato com hipoclorito de sódio diluídos em água estéril.	111
Figura 39 - Isolados bacterianos testados em contato com hipoclorito de sódio diluídos em solução TSB Hospital.	113
Figura 40 - Isolados bacterianos testados em contato com hipoclorito de sódio diluídos TSB Saída.....	114
Figura 41 - Isolados bacterianos testados em contato com cloreto benzalcônico diluídos em água estéril.	115
Figura 42 - Isolados bacterianos testados em contato com cloreto benzalcônico diluído em caldo TSB - Hospital	116
Figura 43 - Isolados bacterianos testados em contato com cloreto benzalcônico diluídos caldo TSB - Saída da ETE.	117
Figura 44 - - Isolados bacterianos testados em contato com peróxido de hidrogênio diluído em Água Estéril.	119
Figura 45 - Isolados bacterianos testados em contato com peróxido de hidrogênio diluído em caldo TSB- Hospital	120
Figura 46 - Isolados bacterianos testados em contato com peróxido de hidrogênio diluído em caldo TSB - Saída da ETE.	121
Figura 47 – Curva padrão e de percentual de decaimento para os isolados diluídos em solução estéril em contato com radiação ultravioleta pelo tempo. (a) Curva Padrão (Referência); (b) Isolados de <i>Acinetobacter spp.</i> (c) Isolados de <i>Escherichia coli</i> . (d) Isolados de <i>Klebsiella pneumoniae</i> . (e) Isolados de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (f) Isolados de <i>Staphylococcus aureus</i> ..	124
Figura 48 – Curva padrão e de percentual de decaimento para os isolados diluídos em solução TSB Hospital em contato com radiação ultravioleta pelo tempo. (a) Curva Padrão (Referência); (b) Isolados de <i>Acinetobacter spp.</i> (c) Isolados de <i>Escherichia coli</i> . (d) Isolados de <i>Klebsiella pneumoniae</i> . (e) Isolados de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (f) Isolados de <i>Staphylococcus aureus</i> ..	129
Figura 49 - Curva padrão e de percentual de decaimento para os isolados diluídos em solução TSB Hospital em contato com radiação ultravioleta pelo tempo. (a) Curva Padrão (Referência); (b) Isolados de <i>Acinetobacter spp.</i> (c) Isolados de <i>Escherichia coli</i> . (d) Isolados de <i>Klebsiella pneumoniae</i> . (e) Isolados de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (f) Isolados de <i>Staphylococcus aureus</i> ..	134

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Níveis de qualidade do efluente esperados para diferentes tecnologias de tratamento de esgotos, em termos de coliformes termotolerantes (CT.100mL ⁻¹).....	30
Tabela 2 - Formas predominantes do nitrogênio	32
Tabela 3 - Média de consumo de água no hospital em estudo por dia.....	58
Tabela 4 - Dados de vazão de chegada do esgoto na entrada da ETE	58
Tabela 5 - Volumes de solução de KHP usados na preparação da curva analítica	64
Tabela 6 – Resultados esperados para provas bioquímicas após identificação.	71
Tabela 7– Parâmetros do Esgoto Real e Meios Sintéticos para Teste de Sensibilidade a Desinfetantes.....	74
Tabela 8 –Dados de monitoramento de DQO do esgoto hospitalar, na entrada e saída da ETE.	83
Tabela 9 - Dados de monitoramento da série de sólidos do esgoto hospitalar, na entrada e saída da ETE.	85
Tabela 10 - Dados de monitoramento de turbidez do esgoto hospitalar, na entrada e saída da ETE.	88
Tabela 11 - Dados de monitoramento do pH no esgoto hospitalar, na entrada e saída da ETE... ..	90
Tabela 12 - Dados de monitoramento do Nitrogênio Amoniacal no esgoto hospitalar, na entrada e saída da ETE.....	91
Tabela 13 - Isolados Bacterianos Escolhidos para Caracterização de Perfil de Sensibilidade a Antibióticos, Desinfetantes e Radiação Ultravioleta.	101
Tabela 14 - Tabela com a porcentagem de isolados testados sensíveis, intermediários e resistentes aos antibióticos testados, para cada espécie.	110
Tabela 15 – Porcentagem de eficiência de tratamento por isolados do gênero <i>Acinetobacter spp.</i>	135
Tabela 16 - Porcentagem de Eficiência de Tratamento por Isolados da Espécie <i>Escherichia coli.</i>	136
Tabela 17 - Porcentagem de Eficiência de Tratamento por Isolados da Espécie <i>Pseudomonas aeruginosa.</i>	136
Tabela 18 - Porcentagem de Eficiência de Tratamento por Isolados da Espécie <i>Klebsiella pneumoniae</i>	137

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Atendimentos Prestados na Unidade de Saúde por Convênio Atendido.....	57
Quadro 2 - Parâmetros para monitoramento físico-químico das amostras coletadas nos três pontos de amostragem.	63
Quadro 3 Antibióticos a serem utilizados para avaliar a sensibilidade de cada bactéria em estudo.	72
Quadro 4 – Identificação e conteúdo de tubos de ensaio para teste de sensibilidade a antimicrobianos.....	75

LISTA DE ABREVIATURAS

ANA - Agência Nacional de Águas

ANS - Agência Nacional de Saúde

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

CETESB - Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental

CLSI - *Clinical Laboratory Standards Institute*

CONAMA - Conselho Nacional do Meio Ambiente

Ct - Coliformes termotolerantes

CT - Coliformes Totais

DNA - Ácido Desoxirribonucleicos

DQO - Demanda Química de Oxigênio

EAS - Estabelecimentos Assistenciais de Saúde

ESBLs - β -lactases de espectro expandido

ETE - Estação de Tratamento de Esgoto

FDA - Agency of Food and Drugs Administration – US

FUNASA - Fundação Nacional de Saúde

OMS - Organização Mundial de Saúde

PANSAB - Plano Nacional de Saneamento Básico

pH - potencial Hidrogeniônico

PPMOs - Oligomeros Fosforodiamidato Morfolino Peptídicos Conjugados (OFMPC)

RDC - Resolução da Diretoria Colegiada

RNA - Ácido Riboxirribonucleicos

SAAE- Serviço Autônomo de Água e Esgoto

SAMAE - Serviço Autônomo Municipal de Água e Esgoto

SSF - Sólidos Suspensos Fixos

SST - Sólidos Suspensos Totais

SSV - Sólidos Suspensos Voláteis

ST - Sólidos Totais

STF - Sólidos Totais Fixos

STV - Sólidos Totais Voláteis

TSB - *Triple Soy Broth*

TSI - Triple Sugar Iron

UFC - Unidades Formadoras de Colônia

UNT = Unidade Nefelométrica de Turbidez

UTFPR - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

UV - Ultravioleta

WHO - *World Health Organization*

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	20
2 OBJETIVOS	22
2.1 Objetivo Geral.....	22
2.2 Objetivos Específicos.....	22
3 REFERÊNCIAL TEÓRICO	23
3.1 Esgoto Sanitário.....	24
3.2 Esgoto de Estabelecimentos de Assistência à Saúde (EAS).....	25
3.3 Tratamento de Esgotos.....	27
3.4 Principais Parâmetros de Caracterização dos Esgotos.....	31
3.4.1 pH.....	31
3.4.2 Turbidez.....	32
3.4.3 Concentração de Nitrogênio.....	32
3.4.4 Demanda Química de Oxigênio (DQO).....	34
3.4.5 Sólidos.....	34
3.4.6 Parâmetros Microbiológicos.....	36
3.5 Linhagens Bacterianas Multirresistentes.....	37
3.6 Bactérias Ambientais Oportunistas e/ou Nativas de Animais de Sangue Quente.....	38
3.6.1 <i>Acinetobacter spp</i>	38
3.6.2 <i>Escherichia coli</i>	39
3.6.3 <i>Klebsiella pneumoniae</i>	40
3.6.4 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	40
3.6.5 <i>Staphylococcus aureus</i>	41
3.7 Métodos de Controle Bacteriano.....	41
3.7.1 Antibióticos.....	42
3.7.1.2 Amoxicilina.....	46
3.7.1.3 Cefalexina.....	46
3.7.1.4 Ciprofloxacina.....	47
3.7.1.5 Cloranfenicol.....	47
3.7.1.6 Doxiciclina;.....	48
3.7.2 Desinfetantes de Uso Hospitalar.....	50
3.7.2.1 Hipoclorito de Sódio.....	51
3.7.2.2 Cloreto de Benzalcônio.....	51

3.7.2.3	Peróxido de Hidrogênio	52
3.7.3	Métodos de Desinfecção para Esgotos	52
4.	MATERIAL E MÉTODOS	56
3.1	Caracterização dos pontos de coleta de amostras	57
4.1.1	Hospital	57
4.1.2	Estrutura da Estação de Tratamento de Esgotos (ETE)	58
4.2	Coleta das Amostras	60
4.3	Análises Físico-Químicas	62
4.3.1	Determinação de DQO	63
4.3.2	Série de Sólidos	64
4.3.2.1	Determinação de sólidos totais (ST)	65
4.3.2.2	Determinação de Sólidos Totais Fixos e Voláteis (STF e STV)	65
4.3.2.3	Determinação de Sólidos Totais em Suspensão (SST).....	65
4.3.2.4	Determinação de Sólidos Suspensos Fixos e Voláteis (SSF e SSV)	66
4.3.3	Determinação de Turbidez.....	66
4.3.4	Determinação de pH.....	67
4.3.5	Determinação de Nitrogênio Amoniacal.....	67
4.4	Análises Microbiológicas	68
4.4.1	Quantificação, Isolamento e Identificação das Bactérias	68
4.4.2	Caracterização do Perfil de Sensibilidade a Antimicrobianos e Radiação Ultravioleta.....	71
4.4.2.1	Avaliação da Sensibilidade das Bactérias à Antibióticos	72
4.4.2.2	Avaliação da Sensibilidade das Bactérias à Soluções Desinfetantes	73
4.4.2.3	Avaliação da Sensibilidade das Bactérias à Exposição à Radiação Ultravioleta	76
4.5	Tratamento Estatístico dos Dados.....	80
5.	RESULTADOS E DISCUSSÕES	82
5.1	Análises Físico-químicas.....	82
5.1.1	DQO	82
5.1.2	Série de Sólidos	84
5.1.3	Turbidez	88
5.1.4	pH.....	89
5.1.5	Nitrogênio Amoniacal	91
5.2	Análises Microbiológicas	92
5.2.1	Quantificação, Isolamento e Identificação Microbiológica.....	92
5.2.1.1	Acinetobacter spp	95

5.2.1.2 Escherichia coli	96
5.2.1.3 Klebsiella pneumoniae	97
5.2.1.4 Pseudomonas aeruginosa	98
5.2.1.5 Staphylococcus aureus	99
5.2.2 Perfil de Sensibilidade a Antibióticos, Desinfetantes e Radiação Ultravioleta.	100
5.2.2.1 Teste de Sensibilidade a Antibióticos - Antibiograma	101
5.2.2.2 Teste de Sensibilidade a Desinfetantes	111
5.2.2.3 Teste de Sensibilidade a Radiação Ultravioleta	123
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	140
7 RECOMENDAÇÕES	142
REFERÊNCIAS	143

1 INTRODUÇÃO

O amplo uso da água e seu posterior lançamento em corpos hídricos, com tratamento não efetivo, pode ser considerado como um possível fator de disseminação de microrganismos potencialmente patogênicos e/ou resistentes a antimicrobianos. A presença destes microrganismos em águas tratadas ou não, representam considerável risco a saúde da população em geral e ao meio ambiente.

Embora grandes avanços tenham sido realizados no que se refere ao tratamento de águas e esgotos, doenças de veiculação hídrica ainda causam sérios danos à saúde humana. Outro agravante ante a esta realidade é descrito por Tenover e Hughes (1996), Kolár *et. al.* (2001), Reis (2011) e OMS (2014), quando abordam que o uso generalizado de agentes antimicrobianos no tratamento de doenças em seres humanos e animais, levou à disseminação de bactérias resistentes em todo o mundo, sendo agora uma crescente preocupação global.

Segundo Wen *et. al.* (2004), Ilha *et. al.* (2006), Lima (2007), Hoag (2008) e Escher *et. al.* (2011), os efluentes gerados pelas atividades de Estabelecimentos Assistenciais de Saúde - EAS, de análise e de investigação, que são muito específicas aos hospitais e Unidades de Tratamento de Saúde (Consultórios médicos, clínicas e laboratórios de análises clínicas), podem conter produtos químicos, líquidos biológicos, excreções contagiosas de resíduos de medicamentos eliminados nos excrementos dos pacientes.

Além deste fato, o consumo de água em hospitais é maior em comparação ao consumo de água residencial, sendo em média de $950 \text{ L} \cdot \text{dia}^{-1} \cdot \text{leito}^{-1}$, e $100 \text{ L} \cdot \text{dia}^{-1} \cdot \text{habitante}^{-1}$, respectivamente (EMANNUEL *et. al.*, 2009; ANA, 2012; RODRIGUEZ-MOZAZ, 2014).

Estes efluentes provenientes de EAS apresentam diversidade em qualidade e quantidade, dependendo das atividades desenvolvidas na instituição, seu aporte de leitos e de procedimentos. O mais preocupante para este efluente é citado por Berto *et. al.* (2009) quando descreve que geralmente, estes efluentes não recebem tratamento adequado, sendo descartados em corpos d'água ou sistemas públicos de esgoto carreando substâncias tóxicas e microrganismos patogênicos.

Vecchia *et al.* (2009) comentam que o volume desses efluentes 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 com o risco de doenças. Os autores supracitados, ainda destacam a possibilidade desses efluentes levarem ao aumento de microrganismos resistentes que podem provocar doenças mais severas e de difícil tratamento.

A presença de microrganismos potencialmente resistentes, como *Acinetobacter spp.*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* no meio ambiente, é considerado como um problema de saúde pública mundial (OMS, 2014). A propagação destes patógenos pode contribuir para o aumento das taxas de infecção hospitalar e comunitária com consequente elevação das taxas de morbidade e mortalidade, como relatado por Resende (2009).

Esses microrganismos podem adquirir genes de resistência de outras bactérias que estão presentes no ambiente (solo, água e ar) ou mesmo no efluente em que estão inseridos e consequentemente transmitirem este fator de resistência a outros possíveis microrganismos patógenos ou não patógenos de diferentes gêneros.

Partindo-se da hipótese que ocorra a sobrevivência dos microrganismos patogênicos lançados no efluente hospitalar e sua permanência nas redes coletoras de esgoto e após os processos de tratamento é onde se justifica esta pesquisa, que buscou realizar a quantificação, isolamento, identificação de determinado grupo de bactérias presentes no esgoto hospitalar, entrada e saída de uma estação tratamento de esgoto - ETE, além estudar a sensibilidade destes isolados a antimicrobianos (antibióticos e desinfetantes) e exposição à radiação Ultravioleta (UV).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar a existência e o perfil de sensibilidade de bactérias ambientais e/ou feco-orais isoladas de esgoto hospitalar, esgoto sanitário bruto e tratado.

2.2 Objetivos Específicos

- Monitorar os parâmetros físico-químicos (cor, demanda química de oxigênio, nitrogênio amoniacal, pH, série de sólidos, turbidez,) dos esgotos coletados nos três pontos em estudo;
- Quantificar, isolar e identificar as bactérias *Acinetobacter spp.*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, e *Staphylococcus aureus*, presentes nos esgotos estudados;
- Caracterizar o perfil de sensibilidade das bactérias em estudo a antimicrobianos (desinfetantes e antibióticos) de uso hospitalar e a radiação UV.

3 REFERÊNCIAL TEÓRICO

A água é considerada um direito básico e imprescindível a existência do ser humano estando presente em todos os seguimentos da vida, sendo utilizada principalmente para ingestão direta, preparo de alimentos, higiene pessoal e de utensílios. Porém, tornou-se, nos últimos anos, um dos maiores problemas globais, em função de sua escassez e qualidade (CARVALHO; RECCO PIMENTEL, 2007, NETO; SANTOS; FRANCO, 2008, BARROS, 2011 e OMS 2014).

Em ambientes onde a ação antrópica é marcante, como centros urbanos, a situação dos recursos hídricos é agravada pelo crescimento acelerado e desordenado, sem a implantação adequada de saneamento básico, fazendo com que a qualidade de água deixe de ser afetada somente por fatores naturais (DAMASCENO, 2005 e OLIVEIRA E SILVA, 2014).

Sendo assim, o salto quantitativo populacional e tecnológico, a exploração desordenada dos recursos naturais (incluindo a água) e a degradação ambiental levam ao lançamento de efluentes nos corpos hídricos sem considerar os possíveis fatores de disseminação de microrganismos patogênicos e de comprometimento da qualidade da água (SANTOS, 2014).

De acordo com o Manual de Saneamento da ANS (2012), as doenças de transmissão hídrica e/ou feco-orais tem se agravado no quadro epidemiológico do Brasil, ocasionadas pela falta de saneamento adequado, sendo os déficits de saneamento centralizados, principalmente nos bolsões de pobreza.

Além desses fatores, o aumento da resistência microbiana também deve ser abordada como problema de saneamento, pois a pressão seletiva dos antimicrobianos pode ser apontada como um importante fator de seleção e disseminação desses microrganismos no meio ambiente. Augustinho e Ferreira (2004) afirmam que grandes centros urbanos concentram o maior número de estabelecimentos de saúde e elevado contingente populacional, o que pode gerar o aumento da quantidade de efluentes contaminados não devidamente tratados, provocando diversas doenças (RESENDE, 2009).

O estudo da resistência microbiana nos esgotos hospitalares e doméstico, é de suma importância, uma vez que pode indicar o grau de alteração do ecossistema pela ação antrópica, pois a presença de linhagens bacterianas resistentes a antimicrobianos pode ser um fator preocupante por dificultar o tratamento de doenças em animais e humanos, agravando os quadros clínicos antes mais facilmente curáveis (MOTA *et. al.*, 2005 e VIANA e MELO, 2012).

3.1 Esgoto Sanitário

O esgoto sanitário é qualificado em dois tipos, por Hoag (2008) e Pessoa et. al. (2011): os que são provenientes das cozinhas, as rejeições que resultam das atividades de lavanderia e de higiene; e, os que contém óleos, detergentes e produtos químicos, além de águas provenientes das garagens e locais de manutenção. Portanto, podemos identificar o esgoto sanitário como todo e qualquer efluente residencial e/ou comercial – abrangendo escritórios e outras atividades que compõem a entrada de efluentes no sistema de tratamento, sendo diferenciado somente em razão da sua utilização. Além disso, podem receber contribuições irregulares como águas de infiltração através das juntas, conexões e onde a tubulação apresenta mal estado de conservação, as quais muito contribuem para determinar suas características (Berto *et. al.*, 2009).

As características desse esgoto sanitário estão relacionadas diretamente a função que a água utilizado foi submetida, com características físicas em média de matéria sólida em concentração de 0,1% e 99% de água em sua composição. Para esgotos recém lançados outras características como cor acinzentada, turbidez baixa, temperatura de 20°C a 25°C e odor de mofo podem ser evidenciados, enquanto para esgoto retido as características mudam para cor negra, turbidez elevada, temperatura acima de 25°C e odor diferenciado ocasionado pelo gás sulfídrico. Nota-se também que a vazão pode modificar as características desse esgoto, isso devido ao relativo costume de utilização dos habitantes (GONCALVES E SOUZA, 1997, VON SPERLING 2011, JORDÃO E PESSÔA, 2011 e ANS, 2012).

Com relação às características químicas dos esgotos sanitários, ainda de acordo com a ANS (2012) as principais são: matéria orgânica e matéria inorgânica. A matéria orgânica, compondo 70% dos sólidos no esgoto doméstico, sendo, geralmente, formados por uma combinação de carbono, hidrogênio, oxigênio e nitrogênio. Os grupos de substâncias orgânicas presentes nos esgotos são constituídos de proteínas (entre 40 a 60%), carboidratos (entre 25 e 50%), gorduras e óleos (10%) e ureia, surfactantes, fenóis, pesticidas, entre outros (Jordão e Pessoa, 2011). E a matéria inorgânica, é caracterizada pelas areias e substâncias minerais dissolvidos.

Tratando-se da composição microbiológica, os esgotos sanitários são compostos por bactérias, protozoários, parasitas e vírus. As bactérias são importantes organismos presentes nos esgotos, pois agem tanto na natureza como nas estações de tratamento decompondo e estabilizando a matéria orgânica. Tratando-se dos microrganismos indicadores de contaminação, existem vários organismos que se presentes num corpo d'água indicam poluição

(ANS, 2012). Porém, quando se refere à indicação de contaminação de origem fecal, é comum a utilização de bactérias do grupo coliforme, sendo essas típicas do intestino do homem e de outros animais de sangue quente (ANS, 2012 e FUNASA, 2006). A presença de bactérias do grupo coliformes nos corpos d'água ou esgotos, indica a potencialidade da existência de organismos patogênicos (ANS, 2012 e FUNASA 2006).

3.2 Esgoto de Estabelecimentos de Assistência à Saúde (EAS)

Nos estabelecimentos de assistência à saúde (EAS), entre eles hospitais e postos de saúde, há constante geração de resíduos, consumo de água elevado e consequente descarte de efluentes que necessitam de uma destinação adequada (PRADO, 2007). Os esgotos líquidos provenientes desses estabelecimentos são considerados semelhantes aos esgotos domésticos, não exigindo tratamento especial, senão aquele que deve ser dado aos esgotos de qualquer comunidade. Este tratamento realizado juntamente com o esgoto doméstico, não tem um monitoramento abrangente e eficaz em relação às bactérias patogênicas que mais influenciam nas infecções hospitalares no Brasil (AUGUSTINHO e FERREIRA, 2004 e RESENDE, 2009).

Kümmerer (2003) afirma que:

“o esgoto hospitalar apresenta pouca diferença em relação aos esgotos domésticos em se tratando de concentração de matéria orgânica, metais ou pH, contudo a presença de substâncias como drogas, desinfetantes químicos e bactérias multirresistentes a antibióticos apresentam-se em elevadas concentrações nas águas residuárias hospitalares.”

A afirmação de Kummerer (2003) é confirmada por Guedes (2004), Prado (2007) e Oliveira e Silva (2014), que estudaram os referidos esgotos e obtiveram resultados onde os parâmetros físico-químicos normalmente utilizados na caracterização de esgotos: Demanda Química de Oxigênio, Série de Sólidos, Turbidez, pH, Nitrogênio Amoniacal e Cor, mantiveram-se equivalentes, porém com aporte e características específicas para os microrganismos presentes neste tipo de esgoto devido a sua quantidade e potencial patogênico (GUEDES, 2004, VECCHIA *et. al.*, 2009; GAUTAM; KUMAR; SABUMON, 2007 e HOAG, 2008 e Oliveira e Silva, 2014).

Outro problema a ser considerado é que, o consumo médio de água dos hospitais vem aumentando gradativamente, no ano de 2007 estava em torno de 400 L.dia⁻¹.leito⁻¹ conforme Gautam *et. al.* (2007), 500 L.dia⁻¹.leito⁻¹ no ano de 2009 segundo Emmanuel *et. al.*

(2009), chegando a $950 \text{ L.dia}^{-1}.\text{leito}^{-1}$ segundo ANA (2012), sendo superior ao consumo individual gerado em uma residência que em média é de $100 \text{ L.dia}^{-1}.\text{habitante}^{-1}$ (Emmanuel *et. al.* 2009).

Este aumento gradativo da geração de efluentes provenientes de EAS, principalmente de hospitais, apresentam diversidade em qualidade dependendo das atividades desenvolvidas na instituição, seu aporte de leitos e também pelo crescimento e desenvolvimento de novas técnicas de assepsia e limpeza demandando conseqüentemente maior quantidade de água (MORIYA *et. al.*, 2008).

O ponto mais preocupante com relação a este tipo de efluente é que geralmente não recebem tratamento adequado, sendo descartados em corpos d'água ou sistemas públicos de esgotamento carreando substâncias tóxicas e microrganismos patogênicos (BERTO, 2006 e OMS 2014). Outro fator importante a ser levantado sobre os esgotos de EAS, segundo Vechhia *et.al.* (2009) e OMS (2014), é que esses esgotos podem conter microrganismos resistentes que podem provocar doenças mais severas e de difícil tratamento.

Kummerer (2009) também ressalva a mesma colocação onde relata que o contato com antibióticos e agentes antimicrobianos, mesmo em baixas concentrações podem ser considerados como um risco ao meio ambiente e a saúde pública devido a possível emergência da resistência nessas bactérias despejadas no esgoto sanitário.

Além disso, o uso indiscriminado ou autorizado dos antibióticos e seus descartes promovendo o contato de microrganismo e antibacterianos, compõem um quadro de possível desenvolvimento de resistência e menor efetividade dos tratamentos realizados atualmente (PRUNEAU *et. al.*, 2011; MARTI *et. al.*, 2014), sendo essa emergência e propagação dessas bactérias resistentes o terceiro maior desafio para a saúde pública mundial, vindo atrás da cura do câncer e da AIDS (OMS, 2014).

A legislação atual no Brasil, referente aos recursos hídricos, criou normas que regulamentam a utilização destes recursos minimizando os impactos negativos causados pela poluição ambiental derivados da emissão de efluentes para corpos receptores (STEIN, 2012 e MIERZWA *et. al.*, 2005). Esses esgotos hospitalares podem ser despejados diretamente na rede coletora de esgotos sem tratamento prévio. O Ministério da Saúde possui, desde 1994, uma norma para projetos físicos de Estabelecimentos Assistenciais de Saúde (EAS) - Portaria GM/MS1884/94, substituída 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, etc. (se for o caso)” (RDC nº 050/02).

Outro ponto abordado pela mesma resolução é que:

“O lançamento de esgotos 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” (RDC nº 050/02).

Sendo assim os efluentes hospitalares em particular, constituem uma parcela significativa do esgoto sanitário, porém não leva-se em consideração a periculosidade dos componentes orgânicos, infecciosos e tóxicos em sua caracterização (VERLICHY et. al., 2010; CHAGAS et. al., 2011 e RODRIGUEZ-MOZAZ et. al., 2015), além disso sendo esse esgoto a fonte com maior contribuição, em importância para a disseminação e seleção de bactérias multirresistentes (CHAGAS et. al., 2011 e HUANG et. al., 2012) além de disseminação de antibióticos (SANTOS et. al., 2013 e COUTU et. al., 2013).

Portanto um monitoramento das bactérias que estão sendo lançadas no corpo hídrico deve ser desenvolvido, de forma a realmente mensurar e desenvolver novos meios de controle para as mesmas, evitando a contaminação gradativa e possível seleção de bactérias resistentes. Além desse monitoramento biológico, o monitoramento da poluição de antimicrobianos nos meios aquáticos também deve ser desenvolvido, pois segundo Hirsch et. al. (1999), Costanzo et. al. (2005), García-Galán et. al. (2011) e Leung et. al. (2012), esses antimicrobianos são tão emergencialmente responsáveis pela severa formação de bactérias multirresistentes por serem possíveis seletores dessas bactérias, sendo considerados como poluentes emergentes pelos autores.

3.3 Tratamento de Esgotos

Segundo Gonçalves e Souza (1997), tratar esgoto consiste na inserção de energia para separar os poluentes e contaminantes das águas de abastecimento pelo uso que delas foi feito. Além disso, de acordo com as considerações de Lapolli et al (2007), os sistemas de tratamento de esgotos podem ser ferramentas para a prevenção à poluição e à saúde pública e utilizados como equipamentos para produção de água para reuso.

A água residual, antes de ser lançada em um recurso hídrico, deve passar por tratamento em Estações de Tratamento de Efluentes (ETEs), a fim de que atinja os parâmetros exigidos pela legislação, uma vez que se lançada indevidamente com os seus poluentes

característicos, causa alteração de qualidade nos corpos receptores, resultando em contaminação das águas superficiais e subterrâneas, bem como no solo (Figura 1) (OLIVEIRA et. al. 2012).

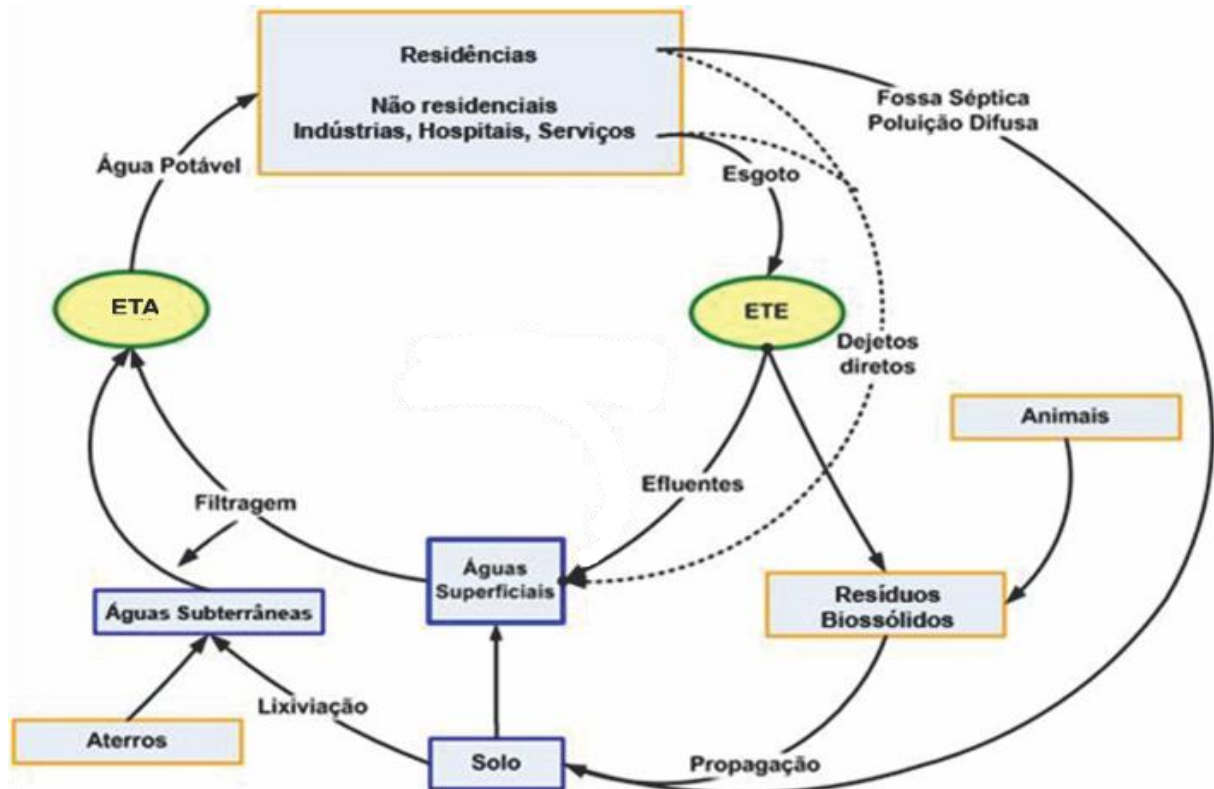


Figura 1 – Rotas e uso da água
Fonte: Autoria Própria

A cobertura da rede de coleta de esgotos no Brasil vem se ampliando nas últimas décadas, porém, a construção das ETEs não tem acompanhado esse ritmo, tendo como resultado negativo a degradação da maioria dos cursos d'água urbanos e caracterizando-se assim um déficit de saneamento (GOTARDO et. al., 2005, ANA 2014).

Quanto maior o déficit de saneamento e maior geração do esgoto, maior será o aumento da contaminação dos corpos d'água, devido a lançamento sem tratamento prévio, podendo promover a exposição dos seres humanos, animais e plantas a dejetos e contaminações (CHERNICHARO, 2001; NUVOLARI, 2003 e PLANSB, 2013). Entretanto, a relação carga poluente lançada pode ou não ser significativamente prejudicial dependendo da vazão do corpo d'água, portanto a escolha do nível de tratamento para um determinado tipo de despejo sanitário irá depender da análise das condições locais.

O tratamento dos esgotos sanitários baseia-se na remoção de matéria orgânica e inorgânica e de microrganismos patogênicos, os quais estão presentes em suspensão ou

dissolvidos na água. São utilizados processos físicos, químicos e biológicos a fim de remover estes materiais.

Além disso, os sistemas podem ser classificados por meio de sua eficiência ou grau de tratamento, dividido em várias etapas, iniciando-se com o tratamento preliminar que é caracterizado pela remoção de grandes sólidos usando para isso um sistema de gradeamento e uma caixa de areia para proteger as demais unidades de tratamento, os dispositivos de transporte (bombas e tubulações) e os corpos receptores. Em seguida, o esgoto passa para o tratamento primário onde ainda contém sólidos em suspensão não grosseiros cuja remoção pode ser feita em unidades de sedimentação, reduzindo a matéria orgânica contida no efluente, sendo necessário uso de decantador circular, seguido pelo tratamento secundário e/ou terciário finalizando o tratamento (LEME,1982, CHERNICHARO, 2001, VON SPERLIN, 2011).

No tratamento secundário é realizada a remoção de sólidos e de matéria orgânica não sedimentável. Tratando-se dos processos biológicos, estes simulam os processos naturais que ocorrem nos corpos d'água ao receber os despejos, onde a matéria orgânica é transformada em produtos mineralizados por meio de mecanismos naturais chamados de autodepuração. Em uma ETE, os mesmos fenômenos ocorrem, porém com o auxílio de tecnologia (VON SPERLING, 2011).

Os principais processos biológicos de tratamento segundo Jordão e Pessoa (2011) são:

Oxidação biológica – aeróbia, como lodos ativados, filtros biológicos aeróbios, valos de oxidação e lagoas de estabilização; e anaeróbia, como reatores anaeróbios e de fluxo ascendente, ou de manta de lodo, lagoas anaeróbias e tanques sépticos.

As lagoas de tratamento de efluente foram o primeiro sistema a ser descoberto e, logo depois este sistema foi projetado de forma a garantir a eficiência e a economia no tratamento. Em seguida, foram implantados os reatores anaeróbios, os quais atualmente iniciam o tratamento seguidos das lagoas de estabilização. As lagoas são consideradas como uma das técnicas mais simples de tratamento de esgotos. As lagoas dependem da área disponível, da topografia do terreno e do grau de eficiência desejado. O tratamento é constituído por processos naturais através de três zonas: anaeróbia, aeróbia e facultativa. O efluente percolado leva alguns dias de acordo com o tempo de detenção hidráulica da lagoa para a estabilização da matéria orgânica. A fonte de energia usada para esta estabilização é a radiação solar, portanto, um fator importante para implantação deste sistema é a temperatura (NASCIMENTO, 2007).

O tratamento terciário por sua vez objetiva a remoção de poluentes tóxicos e não biodegradáveis, e também poluentes não suficientemente removidos no tratamento secundário.

Nesta etapa, é realizada a desinfecção que pode se dar por processo natural com lagoas de estabilização ou processos artificiais como cloração e radiação ultravioleta e finalizando o sistema o lodo é deixado no secador e posteriormente levado para um destino final adequado, podendo ser usado como fertilizante (SAAE, 2014; VON SPERLING, 2011).

Em relação à capacidade de remoção de coliformes termotolerantes e ovos de helmintos, são apresentados na Tabela 1 os diversos sistemas de tratamento de esgotos, incluindo o sistema por aeração prolongada e a capacidade de remoção destes microrganismos. Observa-se que os processos que envolvem lagoas de maturação, infiltração no solo e desinfecção são as alternativas capazes de reduzir significativamente os níveis de coliformes e ovos de helmintos (CHERNICHARO, 2001).

Tabela 1 – Níveis de qualidade do efluente esperados para diferentes tecnologias de tratamento de esgotos, em termos de coliformes termotolerantes (CT.100mL⁻¹).

Sistema	Coliformes Termotolerantes (CT.100mL ⁻¹)			
	10 ⁶	10 ⁵	10 ⁴	10 ³
Lagoa Facultativa	X			
Lagoa Anaeróbia + Lagoa Facultativa	X	X		
Lagoa aerada facultativa	X	X		
Lagoa Aerada mistura completa + Lagoa de sedimentação	X			
Lagoa + Lagoa de maturação	X	X	X	X
Lagoa + lagoa de alta taxa	X	X		
Lagoa + remoção de algas	X	X		
Tanque séptico + filtro anaeróbio	X			
Tanque séptico + infiltração	X	X	X	X
Reator UASB				
Reator UASB + lodos ativados	X			
Reator UASB + biofiltro aerado submerso	X			
Reator UASB + filtro anaeróbio	X			
Reator UASB + lagoa de maturação	X	X	X	X
Reator UASB + escoamento superficial	X	X		
Lodos ativados convencional				
Aeração prolongada	X			
Reator por batelada				
Lodos ativados com remoção biológica de N				
Lodos ativados com remoção biológica de N/P				
Lodos ativados + filtração	X	X	X	X
Filtro biológico de baixa taxa				
Filtro biológico de alta taxa				
Biofiltro aerado submerso				
Biofiltro aerado submerso com remoção biológica de N				
Biodisco				
Qualquer das tecnologias acima + desinfecção	X	X	X	X

Fonte: adaptado de CHERNICHARO (2001).

3.4 Principais Parâmetros de Caracterização dos Esgotos

Os parâmetros de caracterização dos esgotos são fatores bióticos e abióticos que influenciam a sobrevivência dos organismos vivos nos efluentes e no ambiente. Conforme Noble et al. (2004) entre os fatores abiótico pode-se destacar o pH, turbidez, concentrações de nitrogênio, demanda química de oxigênio e sólidos.

3.4.1 pH

O termo pH (potencial de hidrogênio) é usado universalmente segundo Suu et. al. (2015) para expressar o grau de acidez ou basicidade de uma solução, ou seja, é o modo de expressar a concentração de íons de hidrogênio nessa solução, com escala entre 0 e 14. Sua variação pode ocorrer pela decomposição da matéria orgânica gerando carbonatos que interferem nas propriedades da água a receber o efluente.

Sua concentração é um importante parâmetro de caracterização dos esgotos, pois para existência de vida em ambientes aquáticos este parâmetro tem faixa de concentração estreito e crítica. Os despejos com concentração inadequada do íon hidrogênio são difíceis de ser tratados por métodos biológicos após despejo, além de influenciar na distribuição de espécies iônicas de compostos químicos (BRAILE; CAVALCANTI, 1979).

O pH nos sistemas biológicos formados no tratamento de esgotos, é uma condição que influi decisivamente no processo de tratamento. Normalmente a condição de pH, corresponde à formação de um ecossistema mais diversificado e a um tratamento mais estável, tanto para meios aeróbio, quanto para meios anaeróbios. Sendo assim considerado um parâmetro de estabilidade para o ambiente de tratamento (CETESB, 2014).

Dado a isso, as alterações de pH nos despejos de esgotos em corpos hídricos, podem provocar aumento da concentrações de espécies limnológicas devido a maior biodisponibilidade de sais minerais e crescimento fitoplantônico, além de possível aumento da toxicidade ou mesmo inserção e aumento de concentração de algumas substâncias que existiam em baixa quantidade no corpo hídrico (MACÊDO, 2004).

3.4.2 Turbidez

Segundo Colombo (2011) o tamanho das partículas em suspensão varia desde grosseiro ao colóide, dependendo do grau de turbidez. A presença destas partículas provoca a dispersão e a absorção da luz, deixando a água com aparência nebulosa e esteticamente indesejável.

Um esgoto tratado lançado em águas naturais com presença de turbidez elevada provoca a redução de intensidade dos raios luminosos que penetram no corpo d'água, influenciando decisivamente nas características do ecossistema presente, diminuindo assim o potencial fotossintetizante das plantas devido a não existência de energia solar. Quando sedimentadas, estas partículas formam bancos de lodo onde a digestão anaeróbia leva a formação de gases metano e gás carbônico, principalmente, além de nitrogênio gasoso e do gás sulfídrico (PIVELI, 1996).

Sendo assim a turbidez pode ser medida para caracterizar a eficiência do tratamento ou mesmo qual a quantidade de partículas em suspensão, além de alteração que ocorrem na Entrada da ETE ou tratado (CETESB, 2014).

Além disso, a turbidez torna-se importante, pois alguns microrganismos podem se alojar nas partículas em suspensão, se protegendo da ação de desinfetantes ou mesmo da radiação ultravioleta, sendo assim considerado este parâmetro como importantíssimo do ponto de vista sanitário (SANTOS, 2007 e Vaz *et.al.* 2010).

3.4.3 Concentração de Nitrogênio

O nitrogênio na biosfera alterna-se entre várias formas e estados de oxidação, como resultado de diversos processos bioquímicos. No meio aquático, o nitrogênio pode ser encontrado nas formas apresentadas na Tabela 2 (MOTA e VON SPERLING, 2009).

Tabela 2 - Formas predominantes do nitrogênio

Forma	Fórmula	Estado de Oxidação
Nitrogênio Molecular	N ₂	0
Nitrogênio Orgânico	Variável	Variável
Amônia Livre	NH ₃	-3
Íon Amônio	NH ₄	-3
Íon Nitrito	NO ₂ ⁻	+3
Íon Nitrato	NO ₃ ⁻	+5

Fonte: MOTA e VON SPERLING, 2009.

Em um curso de água a determinação da forma predominante do nitrogênio pode fornecer indicações sobre o estágio de poluição eventualmente ocasionada por algum lançamento de esgoto a montante, ou seja, a degradação do nitrogênio pode indicar a idade do esgoto e/ou sua estabilização em relação a demanda de oxigênio (MELO *et. al.* 2009).

Sendo este componente de grande importância em termos de geração e também do próprio controle da poluição das águas, devido, principalmente, segundo Mota e Von Sperling (2009) e Melo *et. al.* (2009), aos seguintes aspectos:

Quando considerado como poluição das águas:

- O nitrogênio é um elemento indispensável para o crescimento de algas, em certas condições, pode conduzir ao fenômeno de eutrofização dos corpos d'água;
- Nos processos de conversão da amônia em nitrito, e em seguida, do nitrito em nitrato (nitrificação), implica no consumo de oxigênio dissolvido no corpo d'água;
- O nitrogênio na forma de amônia livre é diretamente tóxico aos peixes;
- O nitrogênio na forma de nitrato está associado à doenças como a metemoglobinemia.

Quando considerado no tratamento de esgoto:

- O nitrogênio é um elemento indispensável para o crescimento dos microrganismos responsáveis pelo tratamento de esgoto;
- Nos processos de conversão da amônia a nitrito e, em seguida, do nitrito em nitrato (nitrificação), que eventualmente possa ocorrer em uma ETE, implica no consumo de oxigênio e aumento da alcalinidade;
- No processo de desnitrificação, que eventualmente ocorre em uma ETE, implica na economia de oxigênio e alcalinidade ou deteriorização da sedimentabilidade do Iodo, devido a aderência de bolhas de N₂ aos flocos de sedimentação.

Segundo Von Sperling (2011) o nitrogênio é um composto indispensável para o crescimento microbiano, principalmente para os microrganismos responsáveis pelo tratamento de esgoto. O mesmo autor cita este parâmetro físico-químico como um dos fatores que caracterizam as águas residuárias brutas e tratadas além de implicar na quantidade e consumo de oxigênio dissolvido na água devido a sua conversão de amônia a nitrito e deste a nitrato consumirem oxigênio.

3.4.4 Demanda Química de Oxigênio (DQO)

DQO segundo Von Sperling (2011) é um parâmetro de caracterização indireta do teor de matéria orgânica nos corpos hídricos ou esgoto, portanto, indicando o potencial de consumo do oxigênio dissolvido.

Sawyer (1996) descreve o teste de DQO como aquele que mede o consumo de oxigênio ocorrido em função de oxidação química de matéria orgânica, indicando indiretamente o teor de matéria orgânica presente em uma amostra.

A adição ou lançamento de matéria orgânica nos cursos d'água consome o oxigênio dos mesmos, por meio de oxidação química e principalmente da bioquímica, via respiração dos microrganismos, depurando assim a matéria orgânica do ambiente (VALENTE *et. al.* 1997). Quando esta demanda de matéria orgânica excede a capacidade de autodepuração do corpo hídrico, ele fica sem oxigênio podendo provocar eutrofização do corpo hídrico.

Esse excesso de matéria orgânica nos corpos d'água pode levar ao crescimento excessivo de alguns organismos aquáticos, acarretando prejuízo a determinados usos dos recursos hídricos superficiais e subterrâneos. Esses nutrientes, são comumente responsáveis pela proliferação acentuada de algas. A existência dessas algas pode aumentar a quantidade de seres vivos consumidores podendo deflagrar desequilíbrio no ecossistema onde foram lançados os nutrientes (BRAGA *et. al.*, 2005).

3.4.5 Sólidos

Sólidos nas águas e esgotos, correspondem a toda matéria que permanece como resíduo, após evaporação, secagem ou calcinação (VON SPERING, 2011). Nos estudos de controle de poluição das águas naturais e principalmente nos estudos de caracterização de esgotos sanitários, as determinações dos níveis de concentração das diversas frações de sólidos resultam em um quadro geral da distribuição das partículas com relação ao tamanho e com relação a sua natureza (PIVELI, 1996).

Esses sólidos são caracterizados como sólidos em suspensão, sólidos coloidais e sólidos dissolvidos, enquanto suas características químicas são orgânicas e inorgânicas. Outro fator a considerar é o tamanho, sendo este definido por convenção onde, sólidos dissolvidos são os de menores dimensões capazes de passar por um filtro de tamanho especificado, enquanto

os com maiores dimensões e que ficam retidos em filtros de papel com dimensões definidas, como sólidos em suspensão (VAZ *et. al.* 2010 e VON SPERLING, 2011).

A Figura 3 mostra a distribuição e classificação das partículas segundo o tamanho.

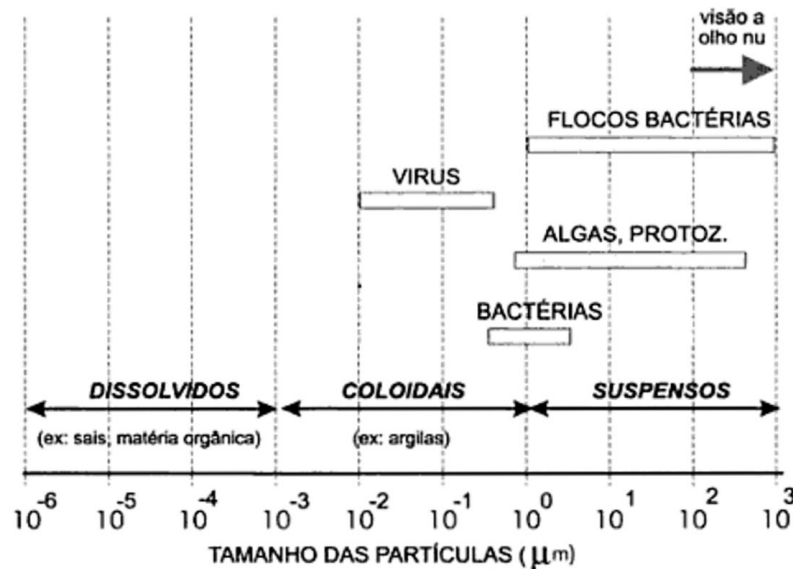


Figura 2 – Classificação e distribuição dos sólidos em função do tamanho
Fonte: VON SPERLING (2011)

Contudo, os sólidos também são classificados quanto a suas características químicas, que são relacionadas a suas frações volatilizadas e não volatilizadas (após submissão a temperatura de 550°C), sendo caracterizados como sólidos voláteis, os que após contato com a temperatura descrita se volatilizam, representado a matéria orgânica. Enquanto os que ficaram fixos ou que não volatilizaram, representam a matéria inorgânica ou mineral (VON SPERLING, 2011).

Os sólidos podem, se caso despejados em demasia nos corpos hídricos, decantarem provocando possíveis assoreamentos, além de diminuição da transparência do leito do corpo hídrico. Outro fator preponderante em relação a sólidos é a oclusão dos microrganismos, o que pode descrever uma discrepância no decaimento exponencial em relação ao tratamento desses, por desinfecção ou mesmo por radiação ultravioleta (GONÇALVES, 2003).

3.4.6 Parâmetros Microbiológicos

Os microrganismos são os seres vivos que desempenham fundamental importância, principalmente no que se refere ao tratamento biológico. Dentre os organismos presentes nos esgotos, podem haver saprófitas, comensais, simbiontes, e parasitas, estes últimos são responsáveis pela transmissão de doenças aos homens e aos animais (VON SPERLING, 2011).

A biota de microrganismos existentes nos esgotos é formada por algas, bactérias, protozoários e fungos. Estes organismos reproduzem-se na medida em que há alimento disponível. Sendo as bactérias as que estão presentes em maior quantidade nos esgotos comparada a outros microrganismos (STEIN, 2012; GONÇALVES, 2003; KELLNER *et. al.*, 1998).

De acordo com Jordão e Pessôa (2011), existem vários organismos indicadores de poluição, entretanto, para indicar contaminação fecal num corpo d'água e determinar a sua extensão, é usual adotar como indicadores as bactérias do grupo coliformes. Essas bactérias, comumente encontradas no intestino humano e dos animais de sangue quente, estão presentes em grande quantidade nas fezes humanas, na ordem de 100 bilhões de coliformes totais.hab.dia⁻¹, e por isso são de fácil isolamento e quantificação, possibilitando, assim, a indicação de uma possível contaminação fecal.

Os Coliformes Totais, segundo Jordão e Pessôa (2011), foram as primeiras bactérias utilizadas para indicação de contaminação humana. Porém, estas não indicam necessariamente a contaminação de águas residuárias por contribuição humana ou animal, pois estas bactérias também se desenvolvem no solo e na vegetação. Sua unidade de medida é dada por: Número Mais Provável de Coliformes – NMP.100ml⁻¹.

De acordo com Von Sperling (2011),

os organismos indicadores de contaminação fecal, são predominantemente não patogênicos, mas possibilitam uma satisfatória indicação da contaminação de uma água por fezes humanas ou animais, e da sua potencialidade para transmitir doenças. Os principais indicadores usualmente utilizados para comprovar a contaminação fecal são: coliformes totais (CT), coliformes termotolerantes e a *Escherichia coli*.

Porém, o mesmo autor cita que essas bactérias podem ser utilizadas como referência para averiguação da efetividade de remoção de microrganismos, porém não devem

ser o único meio de averiguação quanto a quantidade de microrganismos patogênicos, já que existem microrganismos que não são removidos pelo tratamento.

Deve-se salientar também que as bactérias têm importância característica quando é visado o controle de transmissão de doenças (TELLES; COSTA, 2007; LIBÂNIO, 2008, STEIN, 2012).

3.5 Linhagens Bacterianas Multirresistentes

A permanência de microrganismos patogênicos e compostos químicos nos recursos hídricos é um importante meio de transmissão de várias doenças, sendo o despejo de esgoto sem tratamento o mais frequente fator de contaminação, porém o esgoto tratado de forma a somente selecionar e não inativar as bactérias também pode ser prejudicial.

As doenças veiculadas pela água estão entre uma das causas comuns de morte no mundo e afetam especialmente países em desenvolvimento (OMS, 2014). Segundo Straub & Chandler (2003), estima-se que 25% dos leitos hospitalares no mundo estejam ocupados por pacientes com doenças transmitidas por veiculação hídrica. Sendo assim, o ambiente hospitalar deve ser alvo de preocupação por parte da sociedade, pois conforme Coelho (2000), esta preocupação é devida pelo grande número de doentes em um mesmo local e pela diversidade de microrganismos encontrados, que estariam presentes também nos resíduos gerados.

Segundo Morel e Bertussi Filho (1997) os primeiros estudos realizados com o intuito de caracterizar os efluentes de EAS, em termos qualitativos e quantitativos, foram realizados em 1978, quando foi identificada uma série de microrganismos presentes na massa de resíduos indicando-lhes o potencial de risco, recomendando cuidados de gerenciamento como acondicionamento e coleta.

As linhagens multirresistentes e patogênicas podem originar-se a partir da aquisição de genes por processos de transdução, transformação ou conjugação bacteriana. A transdução pode ser caracterizada como a transferência de material genético mediada por vírus (bacteriófagos), a transformação corresponde à incorporação de DNA livre, geralmente decorrente da lise celular. E a conjugação consiste no processo de transferência de DNA de uma bactéria para outra, envolvendo o contato entre as duas células (WANJUGI & HARWOOD, 2013).

O grande aporte de bactérias de mesma espécie ou de espécies diferentes, mesmo originárias de diferentes pontos específicos ou fontes de esgotos podem favorecer todos os

processos citados. Wanjugi & Harwood (2013), afirmam que o papel das bactérias indicadoras de contaminação fecal na avaliação da qualidade da água promove o alerta acerca do aumento do risco da presença de patógenos. Afirmção está confirmada pela US - Agency of Food and Drugs Administration – FDA (MOE et. al., 2009) quando cita que elevadas quantidades de bactérias podem indicar a presença de patógenos na água, com potenciais riscos à saúde humana. Além disso, a presença de espécies não nativas do ambiente podem ameaçar as nativas e romper com o balanço ecológico.

3.6 Bactérias Ambientais Oportunistas e/ou Nativas de Animais de Sangue Quente

A Organização Mundial de Saúde (OMS, 2014) em seu Relatório Global de Vigilância sobre Resistência Bacteriana, divide as bactérias em dois grupos específicos, os referentes a bactérias ambientais oportunistas, onde estão listadas as espécies *Acinetobacter spp.* e *Pseudomonas aeruginosa* e as bactérias naturais dos seres vivos de sangue quente. Este último grupo é subdividido em dois subgrupos, bactérias nativas intestinais *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae* e bactérias nativas da pele e sistema respiratório *Staphylococcus aureus*.

3.6.1. *Acinetobacter spp*

As espécies de *Acinetobacter* são organismos do solo e água (saprófitas de solo, água e esgotos), embora ocasionalmente possam ser encontradas como parasitas de animais. O gênero *Acinetobacter* são Gram-negativos, bacilo, estritamente aeróbio, não fermentador, resistentes à penicilina e possuem oxidase negativa (BITTON et. al, 2010).

Hauser (2010) aponta estas bactérias como causadores de várias das infecções hospitalares e adquiridas na comunidade, sendo incluídas dentre elas pneumonia, bacteremia e infecções de feridas.

Além disso, o mesmo autor coloca que a *Acinetobacter spp.* é uma das bactérias responsáveis pela Pneumonia Adquirida no Hospital (PAH) de forma tardia após os primeiros cinco dias de internação sendo responsável pela morte de 26% após sua infecção. Outro fator levantado por Hauser (2010) é que essas bactérias são altamente resistentes à antibióticos, sendo crescente sua resistência.

O mesmo autor também relata que por ser uma infecção tardia, os fatores de risco são maiores, pois a probabilidade do paciente ser infectado por esta bactéria multirresistente é maior sendo necessária a utilização de múltiplas drogas e um tratamento mais complexo, podendo este paciente com a saúde debilitada não ser autossuficiente para sua sobrevivência.

3.6.2 *Escherichia coli*

Escherichia coli é encontrada em esgotos, efluentes tratados e águas naturais sujeitas a contaminação recente por seres humanos, atividades agropecuárias, mamíferos selvagens e pássaros (OMS, 2014). É a principal bactéria do grupo de coliformes termotolerantes, sendo abundante nas fezes humanas e de animais de sangue quente, sendo utilizada como indicador de contaminação exclusivamente fecal (VON SPERLING, 2011)

São visualizadas como bacilos Gram-negativos isolados, aos pares ou em cadeias curtas. Podem ou não ser bactérias encapsuladas, não esporuladas, com motilidade variável e anaeróbia facultativas. Caracterizam-se também por não utilizarem o citrato como fonte única de carbono e por fermentarem a glicose, sendo denominadas fermentadoras e patógenas oportunistas (RESENDE, 2009 e HAUSER, 2010).

A espécie *Escherichia coli*, também é descrita por Hauser (2010), como comumente responsáveis por infecções do trato urinário, infecções intra-abdominais, gastroenterite, pneumonias adquiridas em hospitais e infecções de feridas.

Clark (2010) também cita essas bactérias como potencialmente resistentes a múltiplos fármacos, isso devido a seu amplo contato com estes agentes químicos. Hauser (2010) que classifica esta bactéria como produtora de β -lactases especialmente resistente, chamadas de β -lactamases de espectro expandido (ESBLs).

A maioria das infecções e possíveis contaminações com agravo a saúde de seres humanos estão particularmente associadas aos cuidados e tratamento de saúde, sendo por contaminação direta ou indireta, ou mesmo por desenvolvimento de virulência das bactérias no corpo do paciente tratado em ambientes hospitalares (HAUSER, 2010).

3.6.3 *Klebsiella pneumoniae*

A espécie *Klebsiella pneumoniae*, bactérias entéricas oportunistas também podem ser encontradas no solo e água. Essa espécie diferencia-se das outras enterobactérias pois é a única deste grupo com capacidade de fixar N₂ no ambiente (CLARK, 2010).

A *Klebsiella pneumoniae* é caracterizada como bastonete Gram-negativo, anaeróbio facultativo, mas com melhor crescimento em condições aeróbias, oportunista e versátil, possuindo reação de oxidase negativa, fermenta glicose, reduz nitrato, indol negativo, tríplice açúcar ferro (TSI) positivo com produção de gás, utiliza o citrato como fonte de carbono e também hidrolisa a uréia, formando gás (KONEMAN, 2001 e HAUSER, 2010).

A referida espécie é frequentemente observada como fator de infecção nas comunidades em indivíduos sadios e frequentemente associados à serviços de saúde, com infecções associadas a sondas urinárias, pneumonias adquiridas no hospital e bacteremia, infecções de feridas e intra-abdominais (SCAPATE e COSSATIS, 2009 e HAUSER, 2010).

Como *Escherichia coli*, Clark (2010) e Hauser (2010) classifica essas bactérias como potencialmente resistentes a múltiplos fármacos, podendo ser produtora de ESBL. Sendo essas bactérias particularmente associadas com tratamento de saúde e resistentes a maioria dos antibióticos.

3.6.4 *Pseudomonas aeruginosa*

Classificada como 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 (HAUSER, 2010 e TRABULSI E ALTERHUM, 2005). Taxonomicamente, dentro da família Pseudomonadacea, é uma bactéria definida como um bacilo Gram-negativo reto, não esporulado, móvel por um simples flagelo polar (TRABULSI E ALTERHUM, 2005). Sua obtenção de energia ocorre a partir de carboidratos por meio de metabolismo oxidativo (dependente de O₂), o que o inclui no grupo dos micro-organismos não fermentadores, podendo ser observados como células isoladas, aos pares, ou em cadeias curtas (NOVAES 2009).

Descrita como a bactéria de maior importância médica e frequente em infecções hospitalares, sendo responsável em especial por pneumonia, infecção do trato urinário e infecção de feridas. Além disso, o tratamento é extremamente complicado, devido ao arranjo

de mecanismos de resistência que ela alberga a múltiplos antibióticos (HAUSER, 2010, CLARK, 2010, LIM et. al., 2015).

As características com maior influência para a resistência dessa bactéria são, ter membrana externa relativamente impermeável, que contém porinas altamente seletivas, produzindo múltiplas bombas de efluxo e além disso, possuir cromossomo contendo uma β -lactamase induzível, além de colonizar superfícies formando biofilme (TRAUBULSI e ALTERTHUM, 2005 e HAUSER, 2010, LIM et. al, 2015).

3.6.5 *Staphylococcus aureus*

Bactéria de proveniência bucal e na pele, as bactérias da espécie *Staphylococcus aureus* pertencem ao grupo dos cocos Gram-positivos, aeróbios, catalase positiva, possuem ácido teóico na parede celular (CLARK, 2010 e HAUSER, 2010). Santos (2007) descreve que 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. Frequentemente esta espécie de bactéria forma colônias amarelo-ouro nas placas de ágar (daí o nome “aureus”, que significa ouro).

Santos (2007) também cita que essas bactérias são responsáveis por bacteremia, endocardite, osteomielite, pneumonia, infecção de pele e tecidos moles, além de responsável por pneumonias, também cita que por razões históricas *Staphylococcus aureus*, são resistentes à penicilina, devido a sua ampla utilização para tratamento por um amplo período de tempo, isso devido à essa bactéria ter a capacidade de modificar parte do peptídeoglicano.

3.7 Métodos de Controle Bacteriano

O controle bacteriano iniciado com estudos de Pasteur e Lister ainda é um desafio, sendo o crescimento bacteriano o fator determinante (GALVÃO, 2014). Dentre os métodos mais utilizados estão, o controle por drogas antibacterianas (antibióticos), por contato com agentes químicos (desinfetantes) e por agentes físicos (Radiação Ultravioleta).

3.7.1 Antibióticos

Os antibióticos são drogas capazes de interagir com bactérias que causam infecções. As primeiras substâncias descobertas eram produzidas por fungos e bactérias, mas essas drogas também podem ser sintetizadas em laboratórios farmacêuticos. Independente de qual a sua origem, sua função é impedir ou dificultar a manutenção de um certo grupo de células vivas (OMS, 2012).

Por mais de 60 anos, drogas antibacterianas têm sido consideradas como a panacéia para curar infecções bacterianas, porém em seu discurso do Prêmio Nobel em 1945, Alexander Fleming, que descobriu a penicilina, advertiu que as bactérias podem se tornar resistentes a essas drogas notáveis. Com efeito, o desenvolvimento de cada nova droga antibacteriana foi seguido pela detecção da resistência a drogas descobertas anteriormente (OMS, 2014).

O mesmo estudo (OMS, 2014) descreve que as bactérias tem a capacidade de se propagar e espalhar em ambientes favoráveis e que o desenvolvimento da resistência é um processo evolutivo normal para os microrganismos, sendo acelerada pela pressão seletiva exercida pela utilização generalizada de medicamentos antibacterianos.

Melo et al. (2001), Kummerer (2003) e ESAC (2011) estimaram que, a cada ano 11,2 milhões Kg de antimicrobianos são aplicados em animais para finalidades não terapêuticas e 900.000 Kg são administrados para terapia. Nos seres humanos são gastos anualmente 1,3 milhões de Kg de antibióticos em todo o mundo (OMS, 2012). Este grande consumo sem controle médico, seleciona cepas bacterianas resistentes a estas drogas, sendo necessária a pesquisa constante visando a descoberta 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.

A *European Surveillance of Antimicrobial Consumption* (ESAC, 2011) é uma rede de sistemas de vigilância que coletou dados sobre o uso de antibióticos na Europa. Os dados serviram para programas de prevenção de resistência bacteriológicas. A Figura 3 apresenta a quantidade total dos grupos de antibióticos usados nos principais países na Europa em 2011.

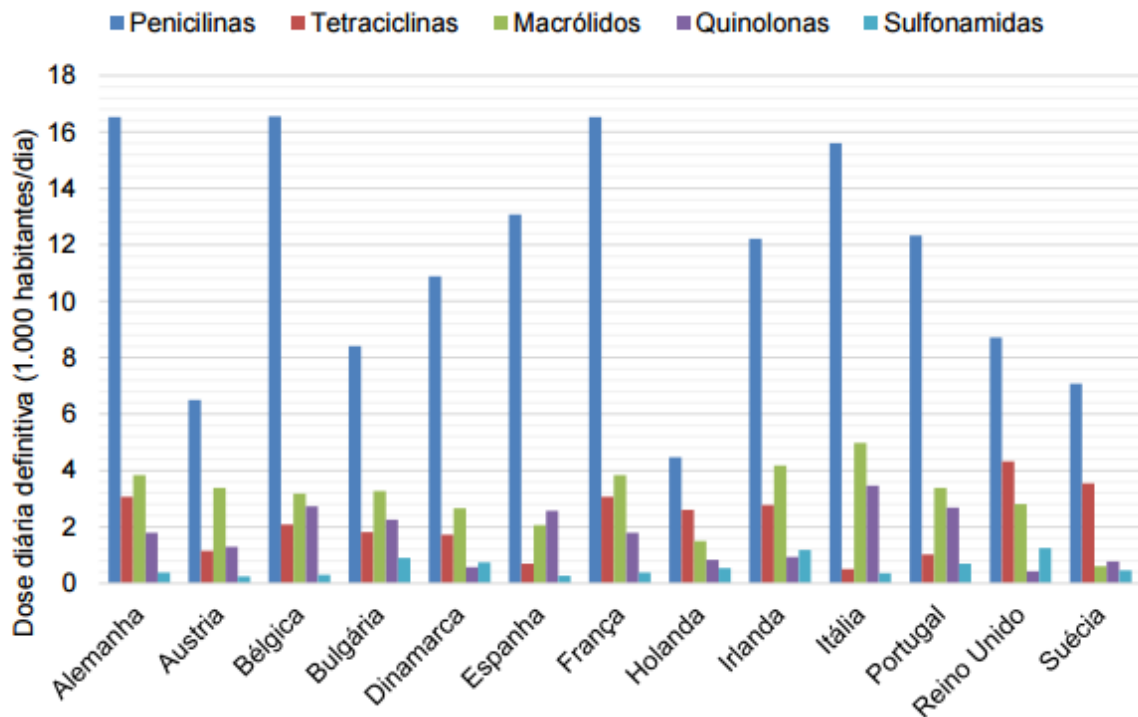


Figura 3 - Quantidade total do grupo de antibióticos usados nos países europeus em 2011
 Fonte: Adaptado de ESAC, 2011.

A DDD (Dose diária definitiva) é um instrumento que serve para comparar dados de padrões de consumo de medicamentos farmacêuticos. É definido pela OMS (Organização Mundial de Saúde) como: “a dose diária de manutenção de um medicamento, usado para sua indicação principal no adulto” (OMS, 2014).

Com base nos dados do gráfico da Figura 4, verifica-se que a classe das penicilinas detém o maior consumo na Europa, indicado pela cor azul, de 60% em relação aos outros tipos de classe de antibióticos.

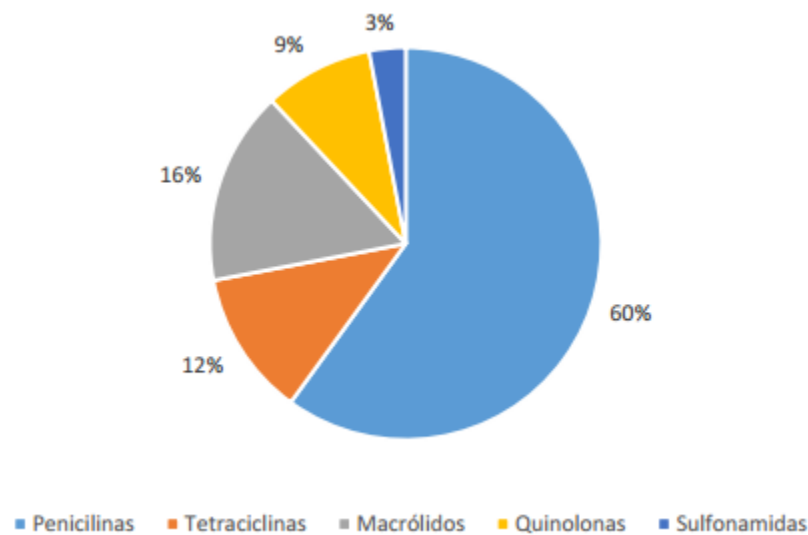


Figura 4 – Consumo de diversas classes de antibióticos na Europa 2011.
Fonte: Adaptado de ESAC, 2011.

Outro fator importante sobre a resistência bacteriana é que anualmente a Europa gasta € 1.500.000.000 somente com pesquisas sobre este tema e seu tratamento (OMS, 2014).

Cerca de 40 bilhões de dólares foram gastos em 2013 para compra de antibióticos no mundo, dos quais 1,24 bilhão foram gastos pelo Brasil. Comparando com o ano de 2008, o Brasil gastou com os mesmos medicamentos 875 milhões de dólares. Dentre todos os medicamentos em geral, os antibióticos ocupam a quinta posição em maior quantidade vendida no mundo, atrás apenas de drogas de combate ao câncer, dores, diabetes e hipertensão (LOYOLA, 2014).

Em 2011, tendo em vista o uso indiscriminado de antibióticos, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) pela resolução RDC 20/2011, decretou a necessidade de receita médica para compra deste tipo de medicamento, sendo o estabelecimento comercial responsável legal pela venda e exigindo a obrigatoriedade de retenção da receita, como medida para diminuir o uso indiscriminado deste medicamento e o aumento da crescente resistência bacteriana.

Brundtland (2000) e OMS (2014) descrevem que até os anos 1970, muitas drogas antibacterianas foram desenvolvidas para os patógenos mais comuns que foram inicialmente susceptíveis, mas as últimas classes destes medicamentos antibacterianos para tratamento de amplo espectro de bactérias foram descobertos na década de 1980 (Figura 5). O que determina a essencial necessidade de se preservar a eficácia desses medicamentos e minimizar o desenvolvimento e propagação da resistência a eles. Brudtland (2000) ainda destaca que em média, a pesquisa e o desenvolvimento de drogas antimicrobianas levam de 10 a 20 anos.

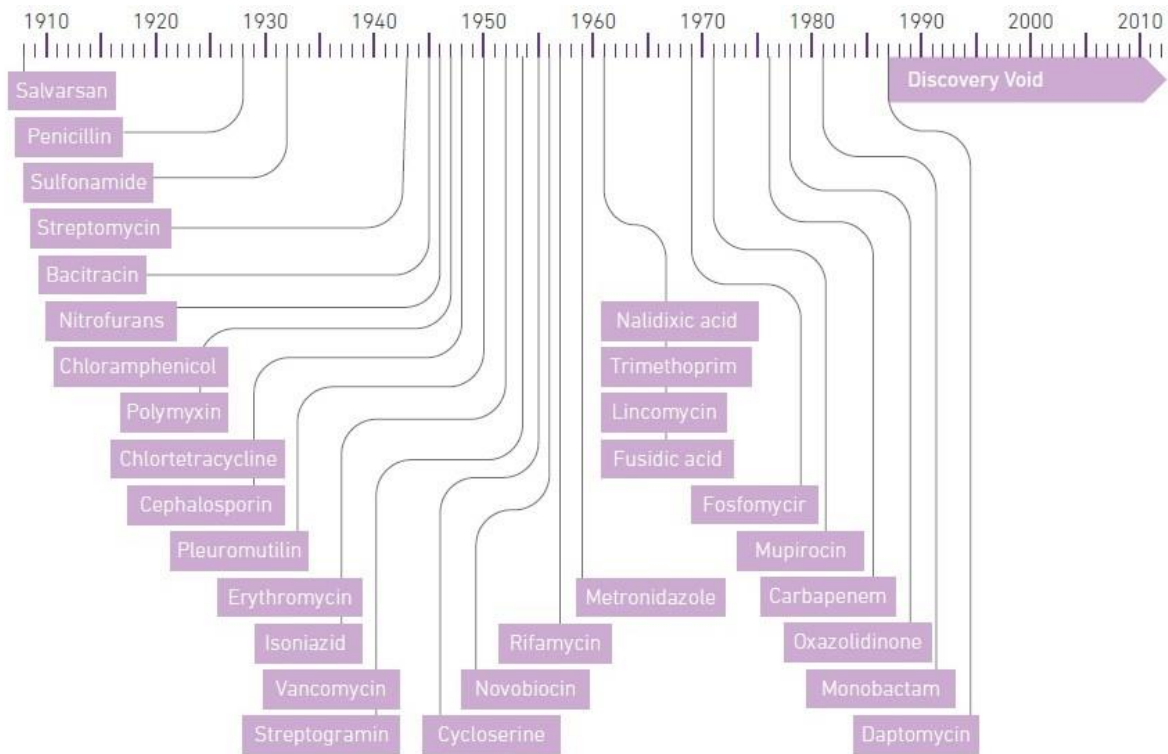


Figura 5 - Dados da Descoberta de Classes Distintas de Drogas Antibacterianas

Fonte: OMS (2014) - Resistance to Antibacterial Drugs

Atualmente, foram descobertas outras classes de antibióticos, porém os mesmos têm espectros focados em bactérias específicas, levando novamente ao problema do desenvolvimento de novas drogas com espectro difuso (OMS, 2014).

Exemplos desse tipo de antibióticos específicos são os PPMOs (Oligômeros Fosforodiamidato Morfolino Peptídicos Conjugados - OFMPC) que utilizando-se de análogos de DNA/RNA de bactérias torna o antibiótico específico para cada espécie de bactérias evitando o uso de antibióticos de amplo espectro e diminuindo assim o aumento da multirresistência bacteriana (GELLER *et. al.*, 2013)

Alguns dos antibióticos utilizados nos hospitais brasileiros nos últimos 10 anos, apresentam formas de ação diferentes dependendo do seu princípio ativo. Na sequência serão apresentados alguns dos antibióticos mais utilizados conforme Bertoldi (2010), para as bactérias em estudo neste trabalho.

3.7.1.1 Ampicilina

Sendo um beta-lactâmico, semi-sintético, com elevado consumo na medicina, sintetizada desde 1959, tornou-se viável para comercialização desde 1960. Considerada como uma aminopenicilina tem espectro de atividade semelhante à das penicilinas naturais (NEIL, 2006 e HAUSER, 2010). Com espectro de atividade como inibidor de beta lactamase de muitas bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, permitindo assim que o composto passe pelas porinas na membrana externa resultando em sua inativação.

Barros et. al. (2008) caracteriza a ampicilina como antibiótico voltado para tratamento de *Acinetobacter ssp*, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, sendo excretada principalmente pelos rins.

3.7.1.2 Amoxicilina

A amoxicilina é uma penicilina semi-sintética introduzida no mercado em 1970. Obtida pela hidroxilação da cadeia fenólica lateral da ampicilina tem espectro de atividade como inibidor de beta lactamase que permite passar pelas porinas na membrana externa de bastonetes Gram-negativos. Sendo mais abrangente que as aminopenicilinas porém tem a mesma composição e atuação que as penicilinas (LEVINSON e WETZ, 1998, LANGONI *et. al.*, 2000 e Hauser 2010).

Barros et. al. (2008) caracteriza a Amoxicilina como antibiótico voltado para tratamento de *Klebsiella pneumonia*, sendo excretada principalmente pelos rins, deve ser indicada para este tipo de bactéria por agir diretamente sobre a parede peptídeoglicana da bactéria, além de ser bem eficiente para o tratamento combinado com outros componentes como, por exemplo, o clavulanato de potássio e sulbactam.

3.7.1.3 Cefalexina

Segundo Hauser (2010) a cefalexina ou cefalosporina são agentes antimicrobianos poderosos, indicados para o tratamento de *Klebsiella pneumonia* e voltado a esta bactéria devido a sua susceptibilidade ao princípio ativo da beta-lactamase. O mesmo autor

descreve que este antibiótico não é indicado para o tratamento de *Pseudomonas aeruginosa* diminuindo somente sua atividade e mascarando uma possível cura.

Esta cefalosporina de primeira geração, utilizado para infecções por microrganismos Gram-positivos e Gram-negativos, também é utilizada para profilaxia pré-operatória e responsável pela redução da ocorrência de infecção de feridas operatórias, normalmente utilizado em até 48 horas antes da cirurgia (BARROS *et. al.* 2008 e HAUSER, 2010)

Barros *et. al.* (2008) indica também que sua ação é ativa durante os primeiros 15 dias de infecção, se persistir a mesma o medicamento deve ser modificado, devido a fragilidade do medicamento a mudanças genéticas da bactéria.

3.7.1.4 Ciprofloxacina

Segundo Barros *et. al.* (2008) e Hauser (2010) a ciprofloxacina é uma das fluoroquinolonas, totalmente voltada para bactérias Gram-negativas aeróbias, é considerada a quinolona mais potente contra bactérias como *Pseudomonas aeruginosas* e *Acinetobacter spp.*

Antibiótico do grupo das quinolonas de 2ª geração, no ano de 1982 teve sua fórmula sintetizada, com largo histórico de efeitos adversos debilitantes, é apropriado somente quando antibióticos melhores tolerados tiverem sido inefetivos para cura da infecção, sendo indicada somente em casos em que os benefícios superem os riscos (LANGONI *et. al.*, 2000, BARROS *et. al.*, 2008 e HAUSER 2010).

Deve-se salientar também este antibiótico é a última linha de defesa contra essas bactérias, devido ao seu uso restrito.

3.7.1.5 Cloranfenicol

Hauser (2010) descreve o Cloranfenicol como o antibiótico mais antigo (disponível primeiramente para uso clínico em 1947). Embora permaneça ativo, é sua toxicidade que limita sua utilização. Barros *et. al.* (2008) descreve o Cloranfenicol como um antibiótico de amplo espectro sendo eficaz contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, sendo

considerado também bloqueador específico de ribossomos bacterianos e atua na síntese proteica bacteriana.

Este antibiótico, atua em muitas espécies bacterianas, dentre elas *Staphylococcus aureus* e a *Pseudomonas aeruginosa*. Deve-se salientar que mesmo com eficiência comprovada para as duas bactérias, não deve ser utilizado por pacientes em estado crítico de saúde ou mesmo menores de 10 anos de idade.

3.7.1.6 Doxiciclina;

Antibiótico da família das tetraciclina, diferenciada por ser mais lipofílica que as demais drogas da família, garantindo penetração nos fluidos e tecidos orgânicos, possibilitando a redução de dosagens diárias para alcançar o efeito pretendido. Datada dos anos 1950, a doxiciclina possui capacidade de maior ligação a proteínas plasmáticas, prolongando a meia-vida de efeito da droga, sua eliminação é realizada pelas fezes como conjugado ou quelado inativo (BARROS *et. al.* 2008, BAYER 2014).

Possui atividade bacteriostática de amplo espectro contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, além de micoplasmas, espiroquetas, clamídias e riquetsias (BAYER, 2014). Tem como função base o bloqueio de síntese de proteínas, destinada para o tratamento de *Acinetobacter spp.* Hauser (2010) afirma que a Doxiciclina é um antibiótico seguro porém seus anéis nucleares são um potente quelante para íons como o cálcio.

3.7.1.7 Eritromicina

A Eritromicina ou *erythromycinum* é uma substância antibacteriana do grupo dos macrolídeos, descoberta em 1952. Esta droga tem lactona macrocíclico e é mais tolerada que os outros macrolídeos, devido a sua idade e utilização. Sua capacidade de ligação com a subunidade 50S do ribossoma bacteriano bloqueia a saída de novos peptídeos sintetizados evitando a formação de proteínas.

Barros *et. al.* (2008) coloca que a mutação no lugar dos cromossomos são extremamente difíceis, aumentando o tempo de ação deste antibiótico, voltado para o tratamento de *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia* e *Staphylococcus aureus*. No Brasil, a utilização deste antibiótico é difundida devido a seu espectro de ação, porém estudos como os

de Santos Filho (2002), demonstram que este espectro de ação vem diminuindo devido ao uso indiscriminado e evolução da multirresistência dessas bactérias.

3.7.1.8 Gentamicina

A Gentamicina droga antibacteriana da classe dos aminoglicosídeos, produzida por um actinomiceto (*Micromonospora purpúrea*), foi estudada inicialmente em 1963, purificada e posteriormente distribuída para o mercado consumidor em 1964. São amino glicosídeos mais ativo contra *Acinetobacter* spp, pode ser utilizado também para o tratamento de infecções por *Pseudomonas aeruginosa*, porém com baixa eficiência, podendo ser utilizada para níveis avançados de pneumonia e tuberculose hospitalar (BARROS *et. al.*, 2008 e ANVISA, 2010).

Hauser (2010) descreve a gentamicina também como o aminoglicosídeo mais utilizado no mundo, mesmo sendo um antibiótico com utilização a mais de 30 anos, ainda mantém sua efetividade. Este antibiótico tem carga positiva que permite a sua ligação com a membrana externa da célula (Gram-negativa) formando orifícios e assim podendo chegar a área ribossômica ligando-se ao RNA mensageiro e inativando-o.

3.7.1.9 Tetraciclina

As tetraciclina são um grupo de antibióticos de amplo espectro que atende a tratamento de infecções de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, são produzidas por várias espécies de *Streptomyces* ou produzidos de forma semi-sintéticas. São denominadas como tetraciclina devido sua estrutura química, formada de quatro anéis (BARROS *et. al* 2008 e ANVISA, 2010).

Sua descoberta ocorreu no ano de 1948 e sua comercialização em 1953. Tem como função base o bloqueio da síntese de proteínas. Destinada para o tratamento de *Acinetobacter* spp, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus* tem espectro de atividade menor em meia vida que a doxiciclina, porém com maior espectro de atuação sendo indicado para pacientes com dúvidas de diagnóstico ou mesmo com infecção formada por mais de uma bactéria (BARROS *et.al.* 2008)

3.7.1.10 Vancomicina

A Vancomicina é um antimicrobiano glicopéptidico usado no tratamento de infecções bacterianas, mesmo inicialmente limitada pela toxicidade. A vancomicina é uma das drogas mais antigas ainda em uso, devido a seu processo de purificação (BARROS *et. al.* 2008 e CALIXTO e CAVALHEIRO, 2013). Descoberta na década de 50, a Vancomicina é produzida pela fermentação da actinobactéria *Amycolatopsis orientalis*, sua molécula tem uma estrutura complexa e contém aminoácidos e açúcares (CALIXTO e CAVALHEIRO, 2013).

Sendo formada por um peptídeo tricíclico glicosilado, não produzido em ribossoma, mas sim por enzima específicas, ele não é absorvido pelo intestino e deve ser administrado somente via intravenosa, o que limita seu uso de forma indiscriminada, e por isso é considerada por Barros *et. al.* (2008) e Hauser (2010) como o “cavalo de batalha” entre os agentes microbianos, sendo sua ação direta na parede celular rompendo-a, devido a sua ligação a porção D-alanil-D-Alanina de cadeia peptídica.

Seu limitante é a atuação da droga de espectro para bactérias Gram-positivas, sendo uma das mais utilizadas em casos de infecções hospitalares dessas bactérias (HAUSER 2010).

3.7.2 Desinfetantes de Uso Hospitalar

Desinfetantes são substâncias que são aplicadas em superfícies não vivas para inativar os microrganismos, embora direcionados a todos os microrganismos, os processos de desinfecção estão relacionados à remoção e/ou morte de somente parte da carga microbiana, diferente da esterilização que visa à morte de todas as formas vivas (FERNANDES, 2000 e TORRES e LISBOA, 2008).

Em algumas circunstâncias, a utilização de desinfetantes não é sempre necessária, visto que o processo de higienização de uma superfície está dividido em duas etapas: limpeza e desinfecção, que consistem respectivamente na remoção de contaminação (sujidade) e na remoção de microrganismos.

Segundo Torres e Lisboa (2008) 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.

Tanto Martins (2001) quanto Mozachi (2005) e Torres e Lisboa (2008) citam que para a escolha de um produto desinfetante, algumas características devem ser observadas, especialmente a sua forma de uso e sua concentração. Estes parâmetros devem ser definidos de acordo com a superfície a ser tratada e com os microrganismos a serem potencialmente eliminados.

Os desinfetantes a seguir, são os mais comumente utilizados em hospitais no Brasil, sendo destacados em cartilhas de desinfecção de ambientes hospitalares e EAS, além de laboratórios conforme cartilha de procedimentos padrão da ANS (2011).

3.7.2.1 Hipoclorito de Sódio

O hipoclorito de sódio é 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 (TORRES E LISBOA, 2008).

Rutala e Weber (2008) descrevem que o hipoclorito tem ação bactericida, fungicida, tuberculicida, virucida e também sobre esporos de *Bacilu sutillis*, sendo que o espectro varia de acordo com a concentração e o tempo de exposição ao produto

A ação do hipoclorito de sódio, diluído em água, pode ser determinada 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 (BOROWSKY *et. al.*, 2006, RUTALA E WEBER, 2008).

3.7.2.2 Cloreto de Benzalcônio

Segundo Borowsky et al. (2006) o cloreto de benzalcônio (cloreto de aquil dimetil benzil amônio) é um agente de tensão superficial para aumentar o contato nitrogenoso e catiônico pertencente ao grupo de compostos de amônio quaternário.

Rutala e Weber (2008) caracterizam como compostos que são utilizados em produtos de limpeza, apresentando propriedades germicidas e empregados como desinfetantes em compostos de detergentes catiônicos. São ótimos agentes limpadores, e cada composto tem características antimicrobianas próprias. Em geral, a ação antimicrobiana é alcançada com teores do princípio ativo entre 0,1 e 0,5%.

Esses compostos químicos são agentes 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 micobactérias (BLOCK, 2001)

3.7.2.3 Peróxido de Hidrogênio

Outro composto químico utilizado para desinfecção é o peróxido de hidrogênio, que segundo Souza e Daniel (2005), é especialmente indicado 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.

3.7.3 Métodos de Desinfecção para Esgotos

Desinfecção de esgotos é definida, de acordo com Von Sperling (2011), como a inativação seletiva de organismos presentes nos esgotos, os quais ameaçam a saúde humana, seguindo os padrões de qualidade estabelecidos para diferentes usos da água. A etapa de desinfecção numa estação de tratamento é inserida de forma específica por meio da construção de uma unidade exclusiva para desinfecção, ou de uma adaptação aos processos existentes a fim de obter também a desinfecção (GONÇALVES, 2003).

A finalidade principal da desinfecção de esgotos, segundo Jordão e Pessoa (2011) é a proteção da saúde pública atendendo à legislação de acordo com os usos da água. Os usos definidos como os principais são: abastecimento para consumo, irrigação ou uso agrícola e recreação. São considerados, para cada um desses usos, os critérios e padrões de qualidade, abrangendo não somente as concentrações máximas dos organismos como também os próprios organismos, grupos e tipos.

As formas de desinfecção destacadas por Daniel (2001) são divididas em três grupos:

- Destruição da parede celular, do citoplasma ou núcleo celular dos microrganismos;
- Alteração de compostos relacionados ao catabolismo, modificando o balanço de energia da célula;
- Modificação dos processos de síntese e crescimento celular;

A contaminação das águas por organismos patogênicos como bactérias, protozoários, vermes e vírus traz consigo uma série de fatores indesejáveis, afetando a saúde pública e a economia de um local, como por exemplo: o aumento das doenças, o crescimento da mortalidade infantil, a diminuição da produtividade e da vida média das pessoas, o crescimento das despesas hospitalares (JORDÃO e PESSÔA, 2011).

Para Chernicharo (2000) o risco de contaminação do homem se dá pelo fato de que os esgotos contêm uma sequência de organismos patogênicos, os quais são excretados por meio das fezes de indivíduos infectados. Portanto, a desinfecção dos esgotos deve ser aplicada quando se objetiva a redução dos riscos de transmissão de doenças infectocontagiosas (LAPOLLI et al., 2005). Neste sentido, é geralmente utilizada para proteger os corpos d'água que servem para usos públicos, como lazer e recreação, ou também quando reutilizados para fins agrícolas (NUVOLARI, 2003).

Os organismos considerados mais preocupantes são as bactérias e os vírus entéricos, além dos parasitas intestinais, e sua transmissão para o homem pode ocorrer através da:

- Ingestão direta de água não tratada;
- Ingestão direta de água tratada – onde há falha no processo de tratamento;
- Ingestão de alimentos infectados com patógenos presentes em águas contaminadas;
- Penetração resultante do contato da pele com a água contaminada;

O fato é que, de acordo com Chernicharo (2000), o saneamento no Brasil sendo extremamente precário além da saúde pública ser ineficiente, traz como consequência pessoas portadoras de diversas doenças as quais podem ser transmitidas pelas fezes e assim pelos esgotos oriundos desta população.

A decisão sobre desinfetar os esgotos de determinado local deve envolver (U.S. EPA, 2006, CHERNICHARO, 2000/2001):

- Uma análise sobre os usos da água à jusante do ponto de lançamento e sobre os riscos de saúde pública associados àquela água;
- Uma avaliação das possibilidades disponíveis para o controle dos esgotos contaminados por patógenos;
- Um estudo dos impactos ambientais que as medidas de controle podem ocasionar.

De acordo com Chernicharo (2001) quando se decide realizar a desinfecção, alguns processos existentes naturais e artificiais podem ser utilizados, tais como:

- Processos naturais: lagoas de maturação e infiltração no solo;
- Processos artificiais: cloração, ozonização, membranas e radiação ultravioleta.

A desinfecção por lagoas de maturação se dá através da radiação ultravioleta do sol incidindo sobre as lagoas rasas, destruindo assim os microrganismos patogênicos. Este processo apesar de possuir baixo custo de implantação e operação e de não necessitar de produtos químicos, necessita de grandes áreas (CHERNICHARO, 2001).

Já no processo de desinfecção por infiltração no solo a ação se dá por meio das condições desfavoráveis do solo que promovem a morte dos patogênicos. Como vantagem, este processo não demanda o uso de produtos químicos, porém exige grandes áreas (CHERNICHARO, 2001).

O processo de ozonização, o qual utiliza o ozônio como desinfetante, atua na membrana citoplasmática, nos sistemas enzimáticos e nos ácidos nucléicos dos microrganismos. Ele é eficaz principalmente na eliminação dos cistos de protozoários e nos vírus. Além de ser um desinfetante, ele não reage com a matéria orgânica (CHERNICHARO, 2001).

A geração de ozônio, explica Jordão e Pessoa (2011) ocorre no local de aplicação, através da passagem de uma massa de ar filtrado, seco, com alto teor de oxigênio, entre dois eletrodos os quais se aplica uma corrente elétrica de alta voltagem. Possui como

vantagens a rápida ação devido ao alto potencial de oxidação-redução, a alta eficiência na eliminação de patogênicos no tratamento de esgotos e a baixa toxicidade produzida (CHERNICHARO, 2001).

A utilização de membranas como forma de desinfecção se dá através da passagem do esgoto tratado por membranas que possuem uma porosidade menor se comparada aos organismos patogênicos, retendo-os. Como exemplo deste processo, tem-se a ultrafiltração e a nanofiltração. Apesar de não utilizar produtos químicos, este método é considerado caro (CHERNICHARO, 2001).

A utilização de produtos químicos para o tratamento de esgotos domésticos como por exemplo a cloração, possibilita a formação de substâncias carcinogênicas (trialometanos), resultado da reação do cloro residual livre com substâncias orgânicas. O processo de desinfecção por radiação ultravioleta utiliza lâmpadas especiais, e o meio de atuação se dá pela interferência na reprodução dos patógenos (CHERNICHARO, 2001). Geralmente é montado um conjunto de lâmpadas em bandejas removíveis, a fim de facilitar a manutenção, e estas são colocadas no meio líquido de tal maneira que estejam favoráveis a fornecer a quantidade adequada de aplicação.

A utilização da radiação ultravioleta artificial de 206 a 254 nm surge como alternativa eficiente na inativação de microrganismos patogênicos, micro poluentes farmacêuticos, inibidores de corrosão e biocidas e sem risco de surgimento de substâncias carcinogênicas que comprometam a saúde dos seres humanos e a qualidade ambiental (GUO *et al.*, 2009, HALLMICH; GEHR, 2010, ZHAO *et al.*, 2011, DE LA CRUZ *et al.*, 2012).

A radiação ultravioleta artificial interfere na biossíntese e crescimento dos microrganismos patogênicos. A radiação é absorvida pelos nucleotídeos (blocos de construção do DNA e RNA), promovendo a união entre nucleotídeos adjacentes, criando moléculas duplas ou dímeros de timina e citosina. Tais moléculas impedem a duplicação normal do DNA, interrompendo o processo de reprodução celular. Assim, ocorre uma redução significativa na capacidade patogênica desses microrganismos (GUO *et al.*, 2009; HALLMICH; GEHR, 2010).

Possui como desvantagem a exigência de limpeza dos tubos das lâmpadas, que o efluente seja clarificado para que a radiação atinja os microrganismos patógenos, porém sua vantagem é não gerar resíduos (JORDÃO e PESSÔA, 2011 e CHERNICHARO, 2001).

4. MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho de pesquisa foi desenvolvido nos laboratórios de Microbiologia Ambiental e Saneamento do Departamento Acadêmico de Engenharia Ambiental na Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR Campus Londrina, tendo por objetivo estudar bactérias potencialmente resistentes presentes nos esgotos hospitalar, bruto e após tratamento em ETE, bactérias essas selecionadas mediante o potencial de patogenicidade e importância quanto a serem os gêneros/espécie relacionada a infecções hospitalares: *Acinetobacter spp*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*. Para estudar a resistência ou multirresistência das bactérias foco deste estudo foram escolhidos três métodos de inativação dessas bactérias, antibióticos, desinfetantes e contato com radiação ultravioleta.

Os desinfetantes escolhidos foram os mais utilizados em hospitais no Brasil conforme Torres *et. al.* (2010): hipoclorito de sódio, cloreto de benzalcônico e peróxido de hidrogênio. Da mesma forma foram escolhidos os antibióticos mais receitados e indicados para tratamento das bactérias foco desta pesquisa conforme OMS (2014), Barros *et. al.* (2008) e Hauser (2010): Ampicilina, Amoxicilina, Cefalexina, Ciprofloxacina, Clorafenicol, Doxiciclina, Eritromicina, Gentamicina, Tetraciclina e Vancomicina.

Na Figura 6 são apresentadas as etapas principais de execução da pesquisa.

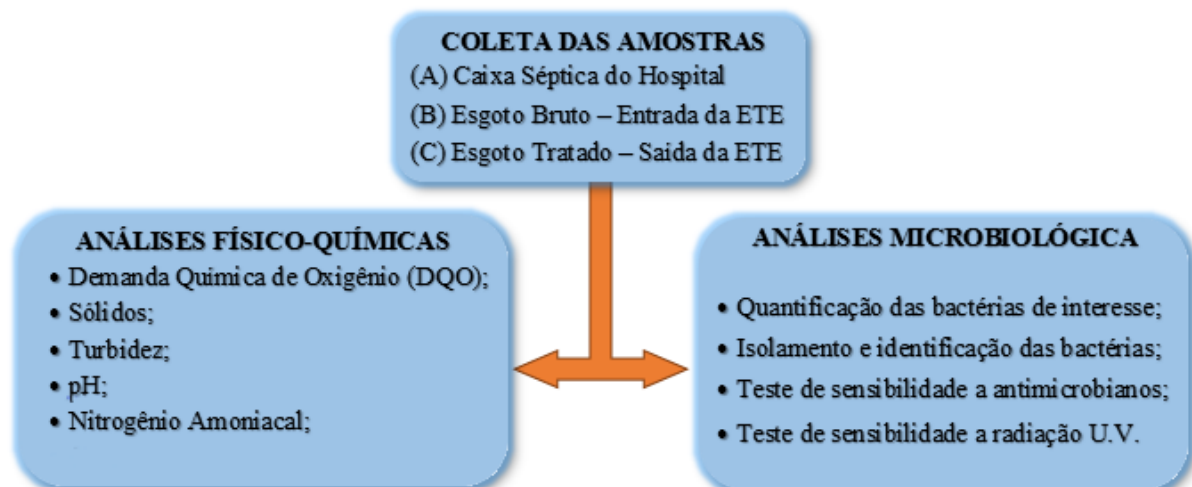


Figura 6 - Etapas principais da execução da pesquisa

Fonte: Autoria própria

3.1 Caracterização dos pontos de coleta de amostras

4.1.1 Hospital

O esgoto hospitalar foi coletado em uma EAS localizada na região metropolitana de Londrina-PR, sendo classificado conforme o Ministério da Saúde- (MS, 2014) como um hospital geral, com esfera administrativa privada, de gestão dupla, com sua atuação iniciada em 1970. É uma unidade de médio porte, de atendimento contínuo de 24 h atendendo a serviços de apoio, especializados e de diagnóstico, com corpo clínico fechado e permanente e de nível de atividade secundário.

Suas atividades são divididas em: 1. ambulatorial com níveis de atenção básica e de média complexidade com gestão municipal e estadual e 2. atenção hospitalar, de média complexidade com gestão estadual de suas atividades.

Os atendimentos prestados pela Unidade de Saúde estão caracterizados no Quadro 1, que descreve os tipos de atendimentos e quais os convênios estabelecidos pela mesma.

Tipo de Atendimento	Convênio Atendido
Ambulatorial	Particular
Internação	Sistema Único de Saúde / Particular
Serviço de Apoio à Diagnose e Terapia	Sistema Único de Saúde / Particular
Urgência	Particular
Fluxo De Clientela	
Atendimento de Demanda Espontânea e Referenciada	

Quadro 1 – Atendimentos Prestados na Unidade de Saúde por Convênio Atendido.

Fonte: Adaptação de MS 2014 (Datasus).

Na Tabela 3 são apresentados os dados médios de consumo de água no hospital por dia.

O esgoto gerado pelo hospital é lançado diretamente na rede coletora de esgoto da cidade para tratamento conforme legislação vigente (RDC 050/02), outra informação relevante para o estudo é que os laboratórios de análises clínicas ficam em outro prédio não anexo ao hospital onde o esgoto foi coletado, sendo estas análises desenvolvidas por empresa terceirizada.

Tabela 3 - Média de consumo de água no hospital em estudo por dia.

Parâmetro	Atendimento	Utilização de Água Diária (L.s ⁻¹)
Leitos	39 leitos	9,03 x 10 ⁻⁵
Pacientes Pronto Socorro	156 pacientes atendidos.dia ⁻¹	3,06 x 10 ⁻⁵
Número de Funcionários	78 funcionários	1,08 x 10 ⁻²
Refeições Servidas	240 refeições.dia ⁻¹	1,01 x 10 ⁻²
Lavanderia	56 kg.dia ⁻¹	9,03 x 10 ⁻²
Total Utilizado		2,38 x 10⁻¹

Fonte: Dados fornecidos pelo estabelecimento de saúde.

4.1.2 Estrutura da Estação de Tratamento de Esgotos (ETE)

A ETE recebe o esgoto lançado pelo hospital em estudo e da região central e norte da cidade de Ibioporã - PR, atendendo a 96% da cidade, aproximadamente 49.700 habitantes, sendo composto por residências, estabelecimentos comerciais e EAS (SAMAE, 2014). Situada em terreno de cinco alqueires, é composta por quatro lagoas de tratamento sendo três anaeróbias e uma facultativa (Figura 7).

Na Tabela 4 são apresentados os dados de vazão de chegada de esgotos, que foi mensurada em períodos fixos de 1 (uma) hora, durante 24 horas.

Tabela 4 - Dados de vazão de chegada do esgoto na entrada da ETE

Horário	Vazão (L.s ⁻¹)	Horário	Vazão (L.s ⁻¹)
00:00	51	12:00	60
01:00	39	13:00	53
02:00	20	14:00	51
03:00	19	15:00	48
04:00	22	16:00	52
05:00	42	17:00	42
06:00	60	18:00	53
07:00	117	19:00	70
08:00	120	20:00	82
09:00	86	21:00	64
10:00	65	22:00	43
11:00	62	23:00	48
Vazão (L.s⁻¹)			
Média		56.32	

Fonte: Autoria Própria

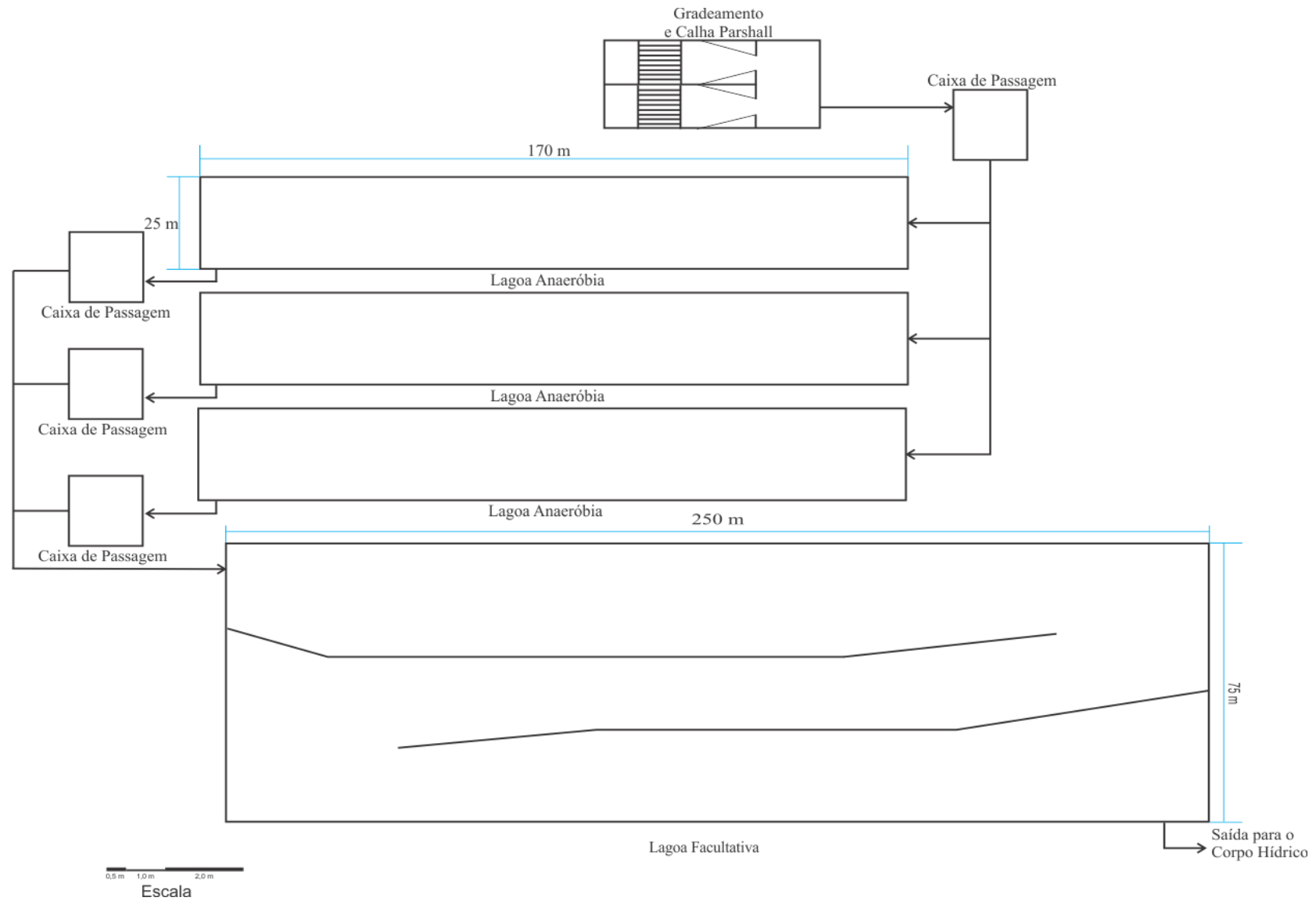


Figura 7 - Diagrama de Dimensões e Fluxos da ETE onde foram realizadas as coletas.
Fonte: Autoria Própria

As lagoas anaeróbias apresentam dimensões, conforme Figura 7 (170 m x 25 m), e vazão média horária de $41,75 \cdot 10^3 \text{ L.h}^{-1}$ com tempo de detenção hidráulica médio de 10,6 dias.

A lagoa facultativa (Figura 7) (250 m X 76 m), possui vazão média horária, de $1,26 \cdot 10^6 \text{ L.h}^{-1}$ com tempo de detenção hidráulica médio de 7,7 dias. O esgoto tratado é lançado no Ribeirão Jacutinga, corpo hídrico de água doce classificado segundo ANA (Agência Nacional de Águas, 2014) como pertencente aos rios classe II.

4.2 Coleta das Amostras

Foram realizadas 8 coletas, em cada ponto de amostragem, para as análises microbiológicas e físico-químicas durante o período compreendido entre Maio a Dezembro de 2013. As coletas ocorreram no período da manhã (entre às 9h00 e 11h00), na maioria delas às segundas-feiras e as amostras eram levadas imediatamente para os laboratórios de análise.

O horário das coletas realizado pela manhã foi escolhido em decorrência da necessidade de processar rapidamente as amostras para as análises microbiológicas. O dia de coleta predominante (segunda-feira) também foi escolhido para que houvesse tempo hábil de realizar as análises microbiológicas sem períodos longos de interrupção das metodologias aplicadas.

Os pontos de amostragem (Figura 8) foram:

- Hospital - última caixa séptica (Hospital);
- Entrada da Estação de Tratamento de Esgoto - ETE, antes do gradeamento (Entrada);
- Saída da Estação de Tratamento de Esgoto - ETE (Saída).

Os volumes de amostras necessários para realizar as análises em cada coleta foram de 500 mL de esgoto para os frascos destinados as análises microbiológicas e 500 mL para os frascos direcionados as análises físico-químicas, totalizando 1.000 mL de amostra para cada ponto.

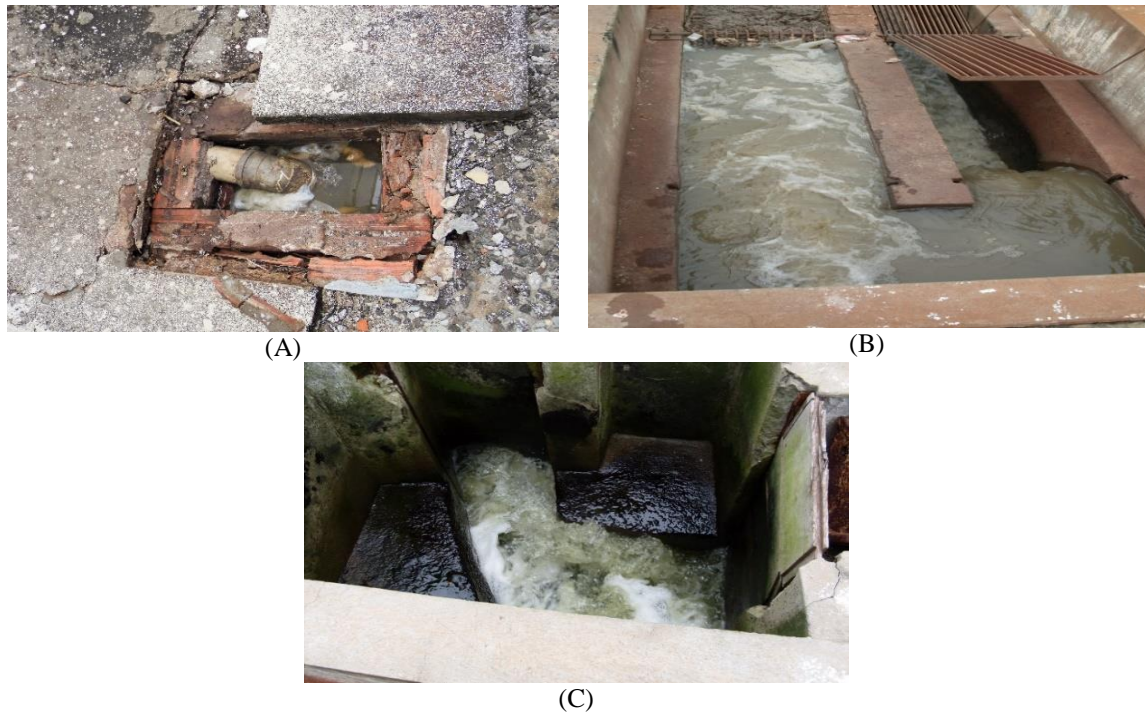


Figura 8 - Pontos de amostragem. (A) Caixa Séptica do Hospital (Hospital); (B) Entrada de Esgotos na Estação de Tratamento de Esgoto – ETE (Entrada) e (C) Saída de Esgotos na Estação de Tratamento de Esgoto – ETE (Saída).

Fonte: Autoria própria.

Para facilitar a realização das coletas foi construído um suporte com cano PVC destinado a fixação do recipiente coletor (Figura 9A). Fez-se necessário este aparato para a coleta de amostras em ponto com profundidade maior, evitando assim o contato direto do responsável pela coleta com o local de amostragem (Figura 9B). As amostras coletadas foram destinadas a frascos de coleta com o auxílio de funil, ambos previamente esterilizado (Figura 9C). Após as coletas os frascos foram armazenados sob refrigeração entre 4° e 8°C (caixa térmica contendo gelo), conforme norma ABNT NBR 9898 de junho de 1987 (Figura 9D).

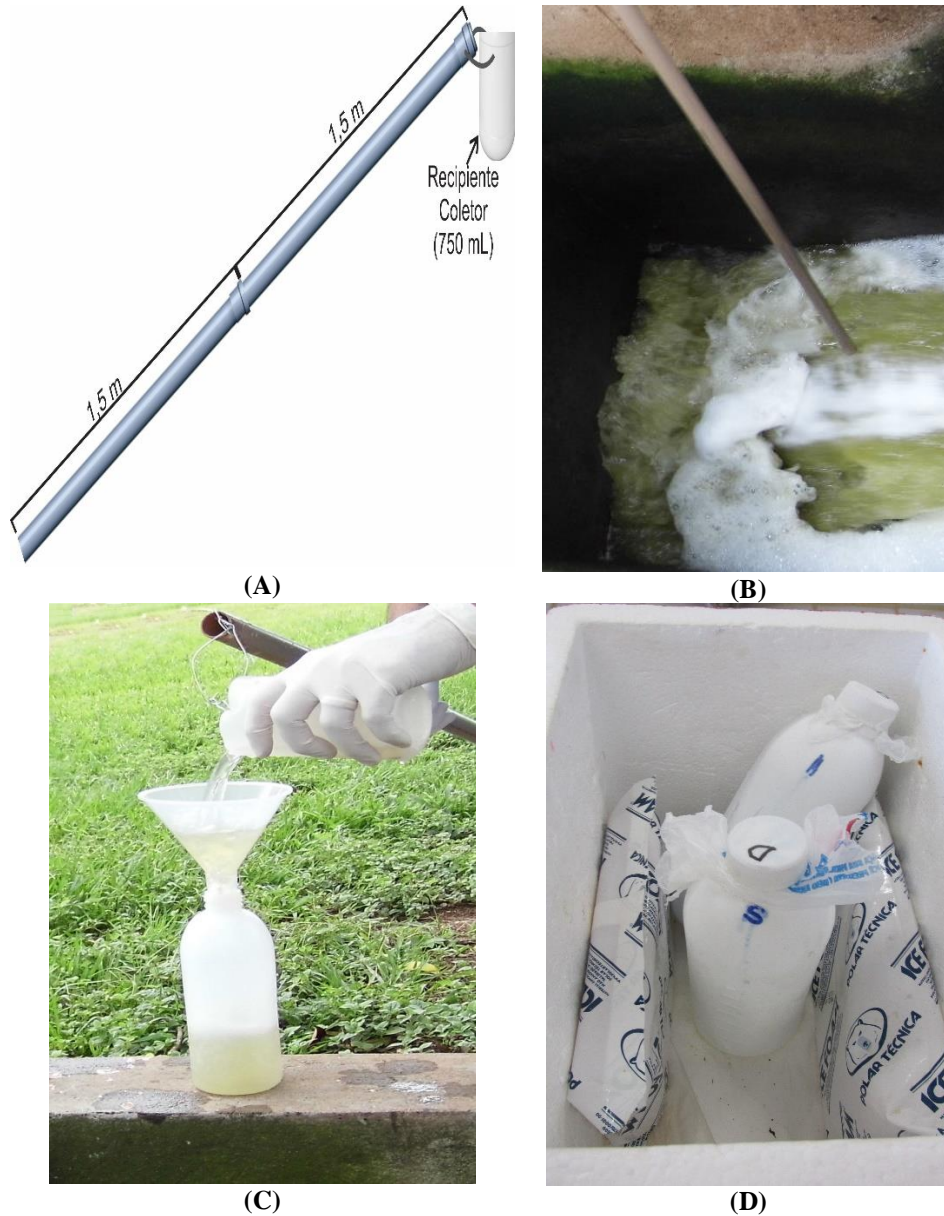


Figura 9 - Fotos do procedimento de Coleta. (A) Detalhe do Aparato de Coleta de amostra, (B) Coleta de amostra na saída da ETE, (C) Amostra coletada na ETE sendo envasada e (D) Amostra no frasco de coleta mantido sob refrigeração.

Fonte: Autoria própria.

4.3 Análises Físico-Químicas

As amostras destinadas para as análises físico-químicas, foram analisadas conforme os métodos listados no Quadro 2.

Parâmetro	Método	Referência
Demanda Química de Oxigênio (DQO) (mg/L)	5220 D – método colorimétrico por refluxo fechado	APHA; 2012
Sólidos Totais (ST) (mg/L)	2540 B – Sólidos totais seco a 103-105°C	
Sólidos Totais Fixos (STF) e Voláteis (STV) (mg/L)	2540 E – Sólidos fixos e voláteis inflamado a 550°C	
Sólidos Suspensos Totais (SST) (mg/L)	2540 D – Sólidos suspensos totais seco a 103-105°C	
Sólidos Suspensos Fixos (SSF) e Voláteis (SSV) (mg/L)	2540 E – Sólidos fixos e voláteis inflamado a 550°C	
Turbidez UTN	2130 – Turbidez	
pH	4500-H ⁺ B- Método eletrométrico	
Nitrogênio Amoniacal (mg NH ₄ ⁺ /L)	4500 – N – Nitrogênio Amoniacal	

Quadro 2 - Parâmetros para monitoramento físico-químico das amostras coletadas nos três pontos de amostragem.

Fonte: Autoria própria.

4.3.1 Determinação de DQO

Segundo APHA (2012), este método é usado para determinar concentrações de DQO na faixa de 2,0 a 50 mg.L⁻¹. O princípio do método é idêntico ao usado para determinar concentrações maiores.

Inicialmente preparou-se a curva analítica de DQO de amostras com baixa concentração (2,0 a 50 mg.L⁻¹), para leitura em espectrofotômetro utilizando solução estoque contendo padrão de hidrogenoftalato de potássio (DQO teórica de 10.000 mg L⁻¹), para isso, em um copo de bequer, foi aferido cerca de 425 mg de hidrogenoftalato de potássio (KHP), previamente seco a 110°C por, no mínimo, 3 horas. Anotou-se a massa para ser usada nos cálculos das concentrações reais. Transferiu-se para balão volumétrico de 50,0 mL, completando o volume com águas de lavagem.

Preparou-se a solução intermediária, diluindo 1,00 mL da solução estoque para 10,0 mL de água destilada. Preparo das soluções diluídas de KHP, e transferidas as alíquotas correspondentes à DQO desejada, sempre em réplica, conforme Tabela 5, para balão volumétrico de 50,0 mL.

O Procedimento utilizado para traçar a curva analítica, foi de transferir 10,0 mL de água destilada (branco) de cada solução padrão, para os tubos de DQO de 20 mL, adicionando-se, em seguida, 1,0 mL da solução de digestão (dicromato de potássio e sulfato de mercúrio) e 3,0 mL de solução de AgSO₄ em H₂SO₄. Após todos os tubos serem fechados os mesmos foram agitados por inversão e digeridos após pré-aquecimento a 150°C sendo mantida esta temperatura durante 2h (Reator de DQO – marca Biotec BT750).

Tabela 5 - Volumes de solução de KHP usados na preparação da curva analítica

Concentrações Aproximadas (mg/L)	Volumes da Solução Intermediária (µL)
0,0 (branco)	0,0
2,0	100
5,0	250
10,0	500
20,0	1000
40,0	2000
50,0	2500

Fonte: APHA (2012)

Foi deixado para esfriar em local escuro, efetuada leitura da absorvância correspondente, em espectrofotômetro (HACH, DR500) a 620 nm. Os valores das leituras com a média das absorvâncias foram anotados, sendo traçada a curva analítica de absorvância x DQO (mg.L⁻¹) em um processador gráfico para obtenção da equação da reta e avaliação de representatividade e confiabilidade do método.

O Procedimento geral de adição da amostra e das soluções foi de adicionar 10,0 mL da amostra pura, preparar o branco com 10,0mL de água recentemente destilada, adicionar 1,0 mL de solução de digestão (dicromato de potássio e sulfato de mercúrio) e 3,0 mL da solução de sulfato de prata em ácido sulfúrico ao tubo de DQO. Fechar os tubos com a tampa apropriada e agitar o conteúdo por inversão do frasco, transferir para aquecimento a 150°C durante 2h (Reator de DQO - Biotec BT750).

4.3.2 Série de Sólidos

Segundo APHA (2012) os procedimentos para determinação da série de sólidos é limitado a uma quantidade de sólidos secos próxima de 200 mg, para impedir a formação de uma camada que dificulte a secagem do resíduo, comum em massas maiores.

4.3.2.1 Determinação de sólidos totais (ST)

Para determinar-se a quantidade de ST, inicialmente, foi preparada a cápsula de porcelana que serviria de suporte para a amostra. Para isso, calcinou-se a cápsula em mufla (MARCONI – MA385) a 550°C até massa constante (neste caso, cerca de 15 minutos) e resfriada em dessecador (SOLAB – CL.A). Após pesagem (Balança SHIMADZU – AW 220), obtinha-se a massa M_1 , em miligramas.

Transferiu-se um volume da amostra (V_1 , em mL), para cápsula de massa conhecida (M_1). A amostra foi colocada para secar em estufa (FANEM – Estufa 502) a 103 - 105°C, até massa constante (neste caso, 24 horas) e determinada a massa do conjunto após resfriamento em dessecador (M_2 , em mg);

Usou-se para calcular ST a Equação 1:

$$\text{mg de ST.L}^{-1} = \frac{(M_2 - M_1) \times 1000}{V_1 (\text{mL})} \quad \text{Equação 1}$$

4.3.2.2 Determinação de Sólidos Totais Fixos e Voláteis (STF e STV)

Após determinação da concentração de ST, a cápsula foi calcinada com a amostra em forno tipo mufla a 550°C por tempo suficiente para atingir massa constante (neste caso, 2 horas). Determinou-se a massa do conjunto, após resfriamento em dessecador (M_3 , em mg) em balança analítica. Calculou-se STF pela Equação 2.

Equação 2:

$$\text{mg de STF.L}^{-1} = \frac{(M_3 - M_1) \times 1000}{V_1 (\text{mL})} \quad \text{Equação 2}$$

E STV pela Equação 3:

$$\text{mg de STV.L}^{-1} = \frac{(M_2 - M_3) \times 1000}{V_1 (\text{mL})} \quad \text{Equação 3}$$

4.3.2.3 Determinação de Sólidos Totais em Suspensão (SST)

Para determinação dos SST, inicialmente foi transferida uma membrana para a cápsula de porcelana, e esta foi calcinada em forno tipo mufla, a 550°C, por 15 minutos e resfriada até temperatura de segurança (150°C), em seguida transferiu-se o conjunto para dessecador e foi deixada para resfriar até temperatura ambiente.

Após o período de resfriamento determinou-se a massa do conjunto – (M₄) em mg. Após este procedimento, utilizou-se uma pinça metálica para inserir a membrana calcinada no sistema de filtração, filtrou-se um volume conhecido (V₂) de amostra, utilizando o sistema de filtração a vácuo.

Após o término do tempo de filtração transferiu-se a membrana contendo a amostra para a cápsula de porcelana, secou-se o conjunto em estufa a 103-105°C, até atingir massa constante (neste caso, 24 horas) e, após resfriamento em dessecador, determinou-se a massa do conjunto (M₅, em mg). Calculou-se o STS utilizando a Equação 4.

$$\text{mg de SST.L}^{-1} = \frac{(M_5 - M_4) \times 1000}{V_2(\text{mL})} \quad \text{Equação 4}$$

4.3.2.4 Determinação de Sólidos Suspensos Fixos e Voláteis (SSF e SSV)

Após a determinação da concentração de SST, calcinou-se o conjunto em um forno tipo mufla a 550°C, por tempo suficiente para atingir massa constante e, após resfriamento em dessecador, foi determinada a massa, (M₆, em mg);

Calculou-se o SSF pela Equação 5:

$$\text{mg de SSF.L}^{-1} = \frac{(M_6 - M_4) \times 1000}{V_2(\text{mL})} \quad \text{Equação 5}$$

E SSV pela Equação 6:

$$\text{mg de SSV.L}^{-1} = \frac{(M_5 - M_6) \times 1000}{V_2(\text{mL})} \quad \text{Equação 6}$$

4.3.3 Determinação de Turbidez

Para determinar a turbidez foi utilizado o método nefelométrico. Inicialmente calibrou-se o turbidímetro (HACH – AR 5000) de acordo com as instruções do fabricante.

Para medida de turbidez menor que 40 UNT: agitou-se a amostra suavemente e esperou até que as bolhas de ar desaparecessem e colocou-se a célula contendo a amostra no turbidímetro, fazendo-se a leitura da turbidez diretamente na escala do instrumento.

Para medida de turbidez acima de 40 UNT: foi diluída a amostra com três volumes iguais de água destilada isenta de turbidez até que a turbidez da amostra diluída ficasse entre 30 e 40 UNT.

Fez-se a leitura e multiplicação do resultado pelo fator de diluição, como indicado na Equação 7.

Equação 7:

$$UNT = \frac{A \cdot (B + C)}{C}$$

Equação 7

Onde:

UNT = Unidade de Nefelométrica Turbidez

A = Turbidez diluída

B = Volume da diluição (mL)

C = Volume da amostra tomado para a diluição.

4.3.4 Determinação de pH

A determinação de pH foi aferida a partir de medidor de pH (UNIT 1211), conforme metodologia descrita pelo fabricante. Ligando o aparelho esperou-se sua estabilização, após este procedimento foram lavados os eletrodos com água destilada e enxugados com papel absorvente. Como próximo passo foi necessário calibrar o aparelho com as soluções padrão (pH 4 e 7), após isto feito, foi realizada novamente a lavagem dos eletrodos com água destilada sendo devidamente enxugados com papel absorvente, foi introduzido os eletrodos na amostra a ser examinada e feita a leitura após estabilização. Após a leitura foi necessário a lavagem dos eletrodos e deixá-los em água destilada, antes de desligar o aparelho.

4.3.5 Determinação de Nitrogênio Amoniacal

Essa determinação foi aferida mediante a utilização de destilador de análise de nitrogênio (MARCONI – MA036). Antes de iniciar o processo de digestão foi corrigido o pH da amostra para aproximadamente 9,0 com uma solução de NaOH e colocou-se 100 mL da mesma em um tubo do destilador de nitrogênio. Após a digestão completa da amostra, titulou-se com H₂SO₄ 0,1 N e determinou-se sua concentração utilizando a equação 8.

$$N_{NH_4^+} = \frac{(V_1 - V_2)}{V} \times N_a \times 14.000 \quad \text{Equação 8}$$

Onde:

$N_{NH_4^+}$ = concentração do nitrogênio amoniacal, dado em mg NH₄⁺.L⁻¹;
 V_1 = volume de ácido utilizado para titular a amostra (mL);
 V_2 = volume de ácido utilizado para titular o branco (mL);
 V = volume da amostra (mL);
 N_a = normalidade do ácido utilizado na titulação (N);
 14.000 é o equivalente-Grama do nitrogênio contido no NH₄⁺.

4.4 Análises Microbiológicas

4.4.1 Quantificação, Isolamento e Identificação das Bactérias

Para avaliar a existência e quantificar os microrganismos objeto deste estudo (*Acinetobacter spp*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*), foram realizadas diluições em série até 10⁻⁵ de cada ponto, em solução salina 0,8% (Cloreto de Sódio P.A., Marca Synth – Peso Molecular: 58,44).

Finalizado o procedimento de diluição em série, foram inoculados 100 µL de amostra das diluições de 10⁻¹, 10⁻³ e 10⁻⁵, em placa de Petri contendo 20 mL do meio *Difco Chromagar Orientation* BD (preparado segundo as instruções do fabricante) e incubadas a 35°C durante 24 horas (Figura 10). O procedimento foi realizado em triplicata.

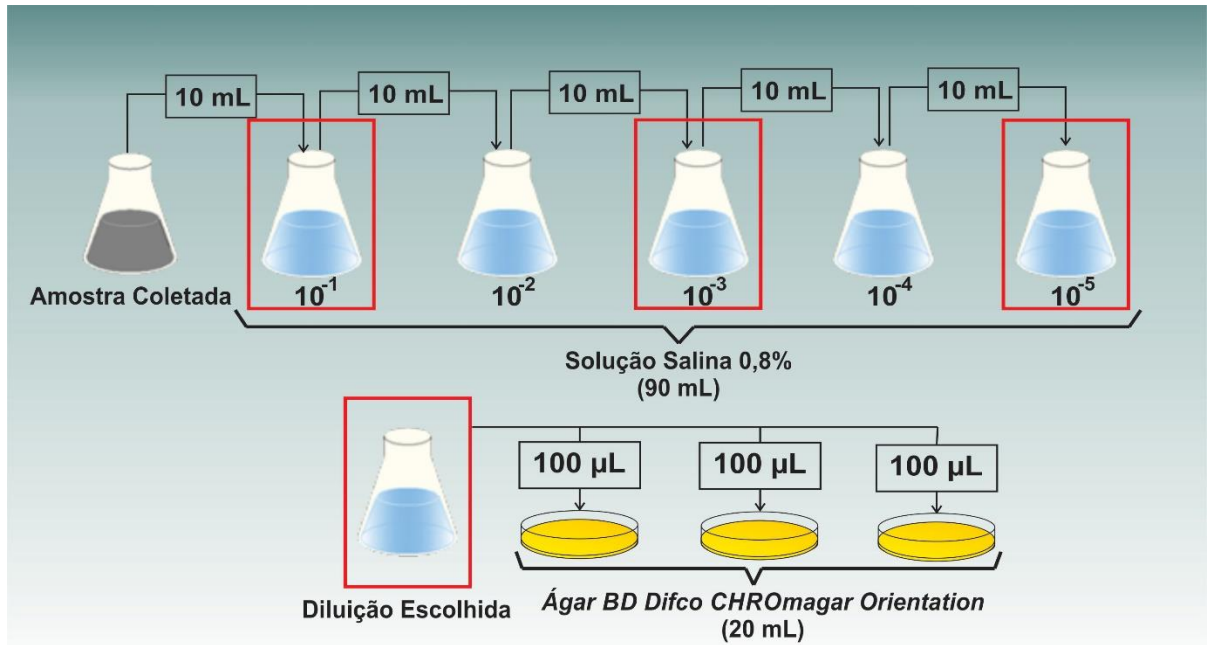
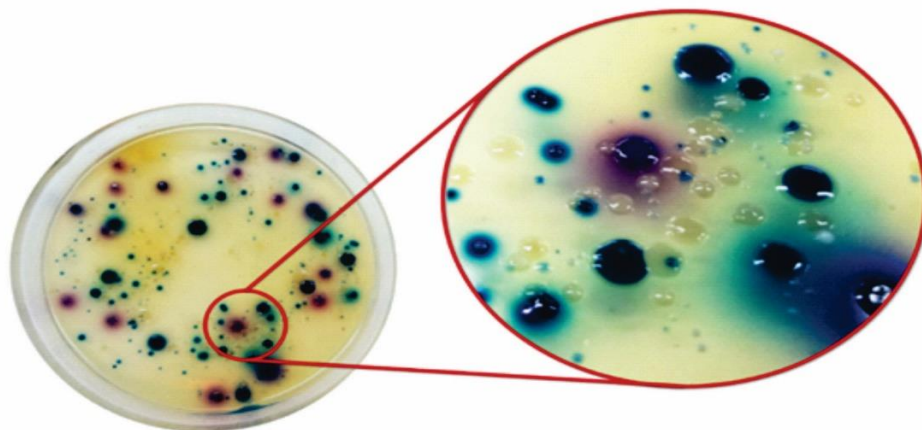


Figura 10 - Diluição em série das amostras coletadas e inoculação em Ágar Difco CHROMagar Orientation BD.

Fonte: Autoria própria.

Conforme as características específicas deste meio, durante a preparação e preservação, as placas de Petri foram envolvidas em papel alumínio e papel filme de PVC para evitar a exposição do meio à luz, uma vez que sua exposição poderia comprometer os cromogênios presentes. Após o crescimento das bactérias no meio de cultura, essas foram identificadas conforme a coloração da colônia formada (Figura 11).



Bactéria	Cor em Chromagar Orientation	Aspecto da Colônia
<i>Acinetobacter spp.</i>	Branca Fosca	Pequenas
<i>Escherichia coli</i>	Púrpura com halo transparente	Grandes – Seca
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Azul Esverdeada	Grandes - Mucoide
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Verdes Claras	Grandes – Brillhantes
<i>Staphylococcus aureus</i>	Dourada (natural)	Pequenas, Cremosas

Figura 11 - Aspecto e coloração das colônias em meio Ágar Difco CHROMagar Orientation BD

Fonte: Imagem autoria própria, Informações de cor e aspecto obtidas da Ficha Técnica do Produto BD Difco Chromagar Orientation (2013).

Depois da caracterização e contagem das colônias conforme a cor e aspecto, foram escolhidas aleatoriamente 3 colônias com características semelhantes para o procedimento de isolamento em placas de Petri, contendo 20 mL de meio Ágar Mac Conkey Kasvi (preparadas seguindo as especificações do fabricante) sendo mantidas a 37°C, por 48 horas em estufa bacteriológica (Figura 12).

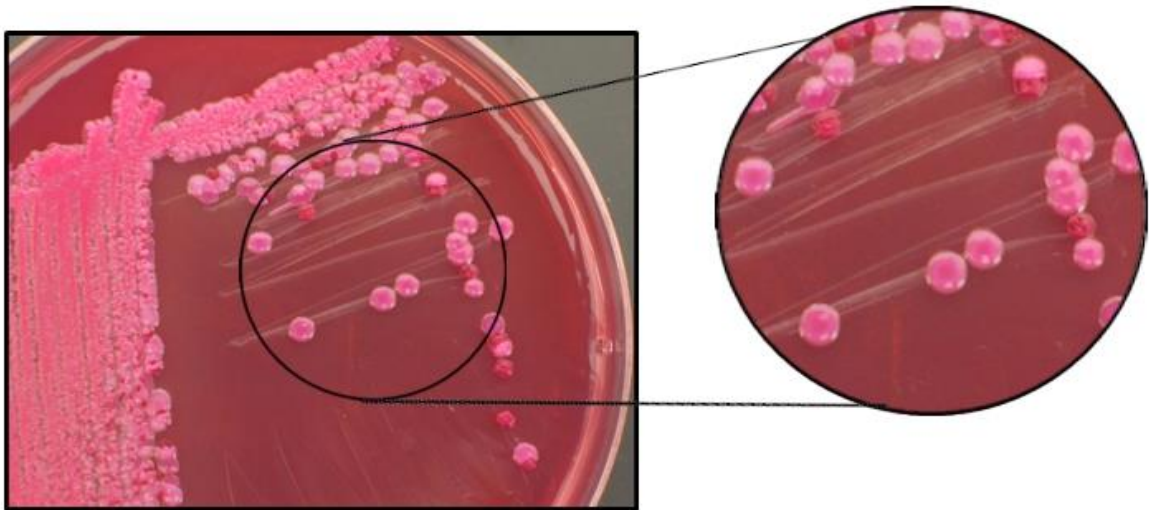


Figura 12 - Isolamento de colônias em meio Kasvi Ágar Mac Conkey Kasvi.
Fonte: Autoria própria

Com o intuito de confirmar os isolados bacterianos inicialmente foi realizado bacterioscopia e teste de coloração de Gram (Figura 13).

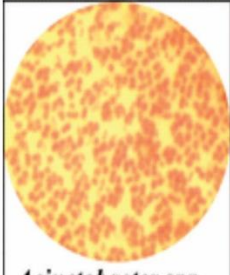
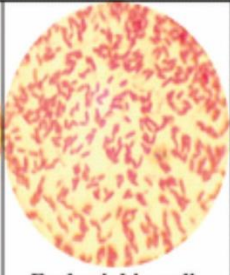
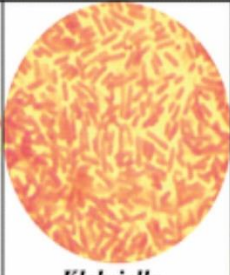
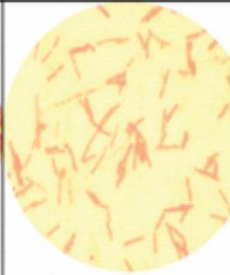
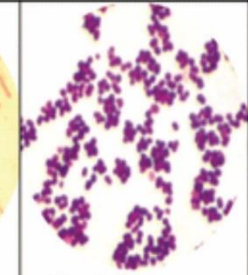
				
<i>Acinetobacter spp.</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Pseudomonas Aeruginosa</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
Bactéria	Morfologia	Coloração de Gram		
<i>Acinetobacter spp</i>	Cocobacilar/Cocos/Diplococos	Negativo		
<i>Escherichia coli</i>	Bacilos	Negativo		
<i>Klebsiella pneumonia</i>	Bacilos Grandes	Negativo		
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Bacilos (cadeias curtas)	Negativo		
<i>Staphylococcus aureus</i>	Cocos	Positivo		

Figura 13 – Resultado da bacterioscopia dos isolados para identificação da morfologia e coloração de Gram.
Fonte: Brook et. al. (2009), ANVISA (2010) e Clark et. al. (2010).

Após verificação da morfologia e coloração de Gram dos isolados, replicou-se as colônias em placas de Petri contendo 20 mL de meio Brain Heart Infusion - BHI (HIMEDIA), para a realização das provas bioquímicas (Tabela 6).

Tabela 6 – Resultados esperados para provas bioquímicas após identificação.

Bactérias Gram-positivas								
Morfologia	Bactéria	Cat.	H ₂ S	Glic.	Sac./Lac.	Sim.	Cetrimide	Manitol
Cocos	<i>Staphylococcus aureus</i>	+						+
Bactérias Gram-negativas								
Morfologia	Bactéria	Cat.	H ₂ S	Glic.	Sac./Lac.	Sim.	Cetrimide	Manitol
Cocobacilar/ Cocos / Diplococos	<i>Acinetobacter spp.</i>	+	-	-	-	+	-	
Bacilos	<i>Klebsiella pneumonia</i>	+	-	+	+	+	-	
Bacilos Grandes	<i>Escherichia coli</i>	+	-	+	+	-	-	
Bacilos (Cadeias Curtas)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	+	-	-	-	-	+	

Cat-Catalase, H₂S-Formação de H₂S, Glic.- Fermentação de Glicose, Sac./Lac.- Fermentação de Sacarose e/ou Lactose, Sim. - Citrato de Simmons, Cetrimide- Crescimento em Ágar Cetrimide e Manitol – Crescimento em Ágar Manitol.

Fonte: Brook *et. al.* (2009), ANVISA (2010) e Clark *et. al.* (2010).

Os isolados caracterizados como Gram-positivos e de morfologia cocos foram submetidos aos testes de Catalase e crescimento em Meio *Chapman Mannitol Salt Ágar (Bio Rad)* em triplicata.

Para os isolados identificados como Gram-negativos e de morfologia bacilos, cocos e cocobacilos foram realizados testes utilizando-se meio Triple Sugar Iron (ISOFAR) para avaliar formação de sulfeto de hidrogênio (H₂S), fermentação de glicose, fermentação de sacarose/lactose, testes de catalase, crescimento em Citrato de Simmons (ISOFAR) e crescimento em *Cetrimide Ágar Base (Bio Rad)*, todos em triplicata.

4.4.2 Caracterização do Perfil de Sensibilidade a Antimicrobianos e Radiação Ultravioleta.

Após a identificação e confirmação das bactérias estudadas, foram escolhidos aleatoriamente 10 isolados bacterianos para cada gênero e/ou espécie provenientes de todos os pontos de coleta, que foram identificados pela primeira letra de gênero/espécie e por número sequencial de 01 a 10 em ordem cronológica por meses. Esses isolados bacterianos foram testados quanto a resistência a um conjunto de antibióticos previamente selecionados para cada bactéria em estudo, os mesmos isolados também foram testados quanto a sensibilidade aos 3 desinfetantes mais utilizados nos hospitais do Brasil e a exposição à radiação U.V.

Para padronização da quantidade de UFC.mL⁻¹ foi utilizada a escala Mac Farland com grau de 0,5 (1,5x10⁸ UFC.mL⁻¹) para todos os testes de sensibilidade realizados. Para isto, os isolados foram semeados e espalhados em placa de Petri contendo meio BHI sólido, e mantidos a 35°C por 24 horas visando a obtenção de colônias em período de crescimento exponencial (Fase Log). Após transcorrido o tempo necessário, as UFC formadas foram colocadas em solução salina estéril (NaCl 0,8%) - Marca Synth – Peso Molecular: 58,44 - até se obter uma turvação compatível com o grau 0,5 da escala Mac Farland.

4.4.2.1 Avaliação da Sensibilidade das Bactérias à Antibióticos

A escolha dos antibióticos para desenvolvimento da avaliação de sensibilidade foi baseada em análise dos que são mais utilizados na rede pública de saúde, conforme ANVISA (2010) e relacionados a cada uma das bactérias em estudo conforme Barros et. al. (2008), CLSI 2013, HAUSER (2010) e OMS (2014). (Quadro 3).

Bactéria	Antibióticos
<i>Acinetobacter ssp</i>	Doxiciclina, Ampicilina, Ciprofloxacino, Gentamicina, Tetraciclina.
<i>Escherichia coli</i>	Cefalexina, Ampicilina, Tetraciclina, Vancomicina, Eritromicina.
<i>Klebsiella pneumonia</i>	Cefalexina, Ampliciclina, Amoxicilina, Vancomicina, Eritomicina.
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Eritomicina, Ciprofloxacino, Tetraciclina, Vancomicina, Cloranfenicol.
<i>Staphylococcus aureus</i>	Ampicilina, Vancomicina, Eritromicina, Tetraciclina, Cloranfenicol.

Quadro 3 Antibióticos a serem utilizados para avaliar a sensibilidade de cada bactéria em estudo.

Fonte: BARROS et. al. (2008); ANVISA (2010), HAUSER (2010), CLSI (2013) e OMS (2014).

Para a realização dos testes, as placas de Petri contendo 20 mL de ágar Miller Hinton (Fluka Analitical – Sigma Aldrich) e os frascos com os discos de antibióticos foram retirados com cerca de 20 a 30 minutos de antecedência da câmara de refrigeração para equalizarem-se a temperatura ambiente antes da realização do experimento, conforme instruções de CLSI (2013). As bactérias diluídas de acordo com escala Mac Farland 0,5 foram inoculadas (100µL) e espalhadas em toda a superfície do ágar presente nas placas de Petri contendo ágar Miller Hinton, utilizando-se *swab* estéril.

Após espalhamento, com auxílio de uma pinça previamente esterilizada, foram colocados 5 discos de antibióticos (Oxsoid) diferentes sobre a superfície do meio inoculado, sendo esta incubada com os discos em estufa bacteriológica a 36°C por 18 a 24 horas (Conforme especificação para cada bactéria segundo CLSI – 2013) (Figura 14).

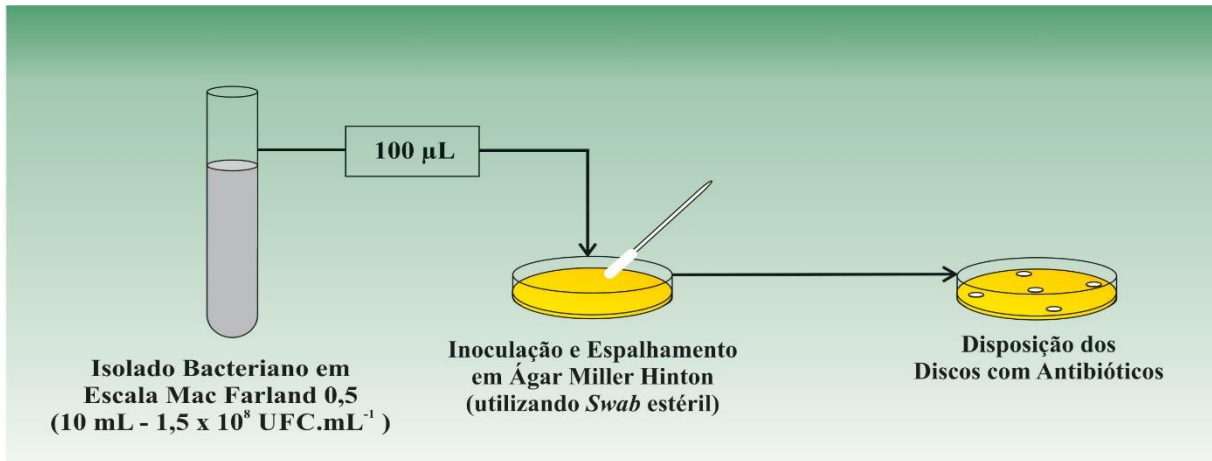


Figura 14 - Diagrama de teste de sensibilidade a antibióticos (antibiograma).
Fonte: Autoria própria.

Após o tempo de referência para cada antibiótico (CLSI, 2013), com o auxílio de uma régua mediu-se o diâmetro dos halos inibitórios ao redor de cada disco (Figura 15). Pela análise do tamanho do halo determina-se se a bactéria seria sensível, intermediária ou resistente aos antibióticos testados comparando com as informações de sensibilidade a antibióticos conforme instruções de CLSI (2013).

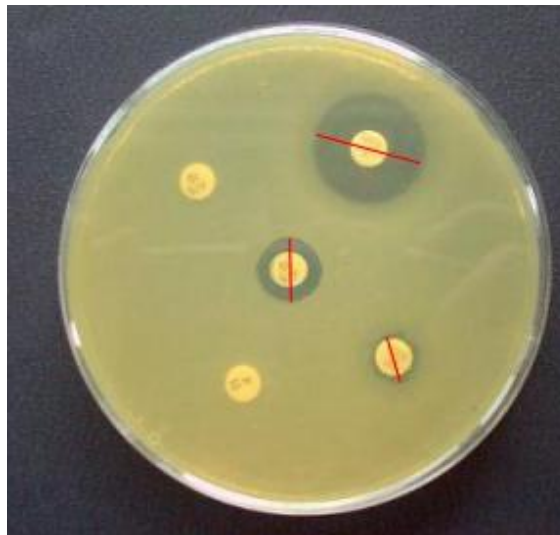


Figura 15 - Resultado de antibiograma, com destaque para a medida do tamanho do halo inibitório ao redor do disco de antibiótico.
Fonte: Autoria própria.

4.4.2.2 Avaliação da Sensibilidade das Bactérias à Soluções Desinfetantes

Para análise da sensibilidade aos desinfetantes utilizou-se a metodologia descrita por Medeiros (2009) com adaptações. Os testes foram realizados utilizando hipoclorito de

sódio, cloreto benzalcônico e peróxido de hidrogênio, preparados nas diluições indicadas pelo fabricante.

Os testes foram realizados buscando simular três condições distintas em relação a concentração de sólidos suspensos. Para simulação destes sólidos foi utilizado caldo *Tryptic Soy Broth* Kasvi, conforme metodologia adaptada de Castagnato (2006), Bochese (2008) e Santos (2010), para a diluição e preparo das soluções desinfetantes, conforme abaixo:

- Solução de água estéril (Estéril) – Contendo somente água estéril (isento de sólidos suspensos).
- Solução de Caldo TSB (TSB Hospital) contendo caldo TSB em concentração simulando a média de sólidos suspensos totais presentes no esgoto do hospital; e
- Solução de Caldo TSB (TSB Saída) – contendo caldo TSB, simulando a concentração média de SST do esgoto na saída da ETE.

Quatro parâmetros foram levantados nas soluções descritas, visando a padronização dessas às média dos meses estudados do esgoto nos pontos de coleta, Sólidos Suspensos Totais (SST), Turbidez, Condutividade e pH (Tabela 9).

Tabela 7– Parâmetros do Esgoto Real e Meios Sintéticos para Teste de Sensibilidade a Desinfetantes.

Parâmetros	Esgoto Hospitalar	TSB Hospital	Esgoto Saída da ETE	TSB Saída
SST (mg/L)	11	9	35	31
Turbidez (UTN)	28,7	27,1	30,4	29,7
Condutividade ($\mu\text{S m}^{-1}$)	200	192	705	704
pH	8,7	6,8	7,7	7,2

Fonte: Autoria própria

No quadro 4 são apresentadas as quantidades de cada solução (água estéril e Caldo) mais desinfetante que foram utilizadas para cada situação. O volume final em cada tubo de ensaio (10mL) foi de 0,8mL.

Cada um dos tubos previamente preparado (Quadro 4) contendo 0,8 mL, recebeu 1,2 mL do isolado bacteriano na escala Mac Farland, 0,5 sendo mantido em contato com o desinfetante nos tempos de 0”, 15”, 30”, 60”, 300”, 10’, 20’ e 30’.

Após transcorrido cada intervalo de tempo, 10 μL da solução foi inoculado em placa de Petri contendo ágar BHI sólido dividido em 8 seções, uma para cada tempo específico do teste. Após permanecer a 37° C por 24 horas foi avaliado o crescimento das amostras, sendo considerado resistente o isolado que apresentou crescimento na placa de Petri (Figura 16).

Identificação do Tubo	Água Estéril	TSB Hospital	TSB Saída	Hipoclorito de Sódio	Cloreto Benzalcônico	Peróxido de Hidrogênio
Hipoclorito Estéril	0,6 mL			0,20mL		
Hipoclorito Hospital		0,6mL		0,20mL		
Hipoclorito Saída			0,6mL	0,20mL		
Benzalcônico Estéril	0,78mL				0,22mL	
Benzalcônico Hospital		0,78mL			0,22mL	
Benzalcônico Saída			0,78mL		0,22mL	
Peróxido Estéril	0,75mL					0,25mL
Peróxido Hospital		0,75mL				0,25mL
Peróxido Saída			0,75mL			0,25mL

Quadro 4 – Identificação e conteúdo de tubos de ensaio para teste de sensibilidade a antimicrobianos.

Fonte: Autoria Própria

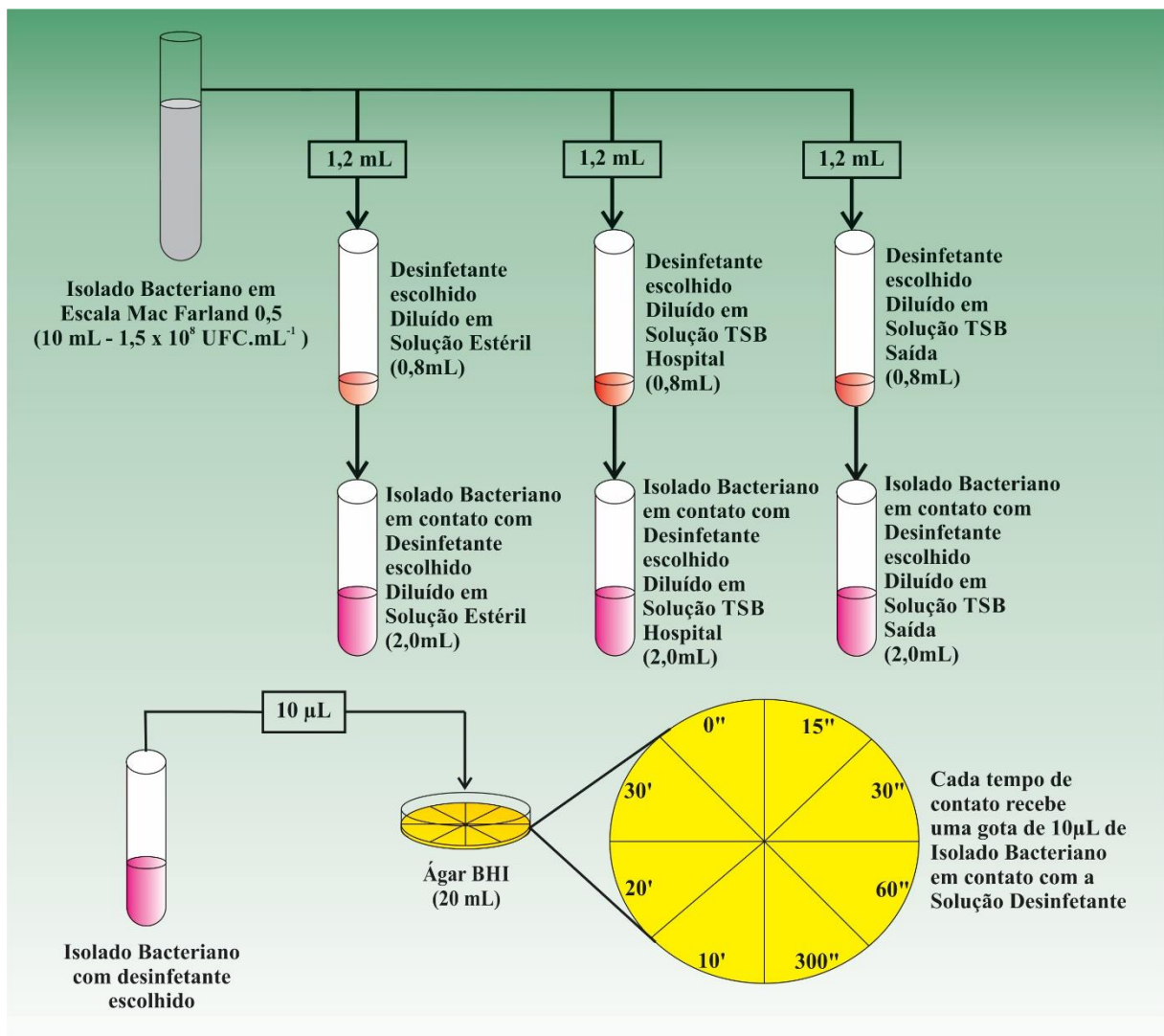


Figura 16 – Representação esquemática do procedimento para teste de sensibilidade a desinfetantes.

Fonte: Autoria própria.

4.4.2.3 Avaliação da Sensibilidade das Bactérias à Exposição à Radiação Ultravioleta

Para a realização da avaliação da sensibilidade das bactérias em estudo a exposição à radiação ultravioleta montou-se um procedimento experimental seguindo a mesma abordagem do teste usando desinfetantes.

Para este teste utilizou-se um esterilizador de água fabricado por Sibrape Esterilizadores UVC Ltda. de modelo AG-01, que tem acoplada em seu reservatório interno de aço inox, lâmpada da marca Philips, modelo UVC 15WT8 (Figura 17).

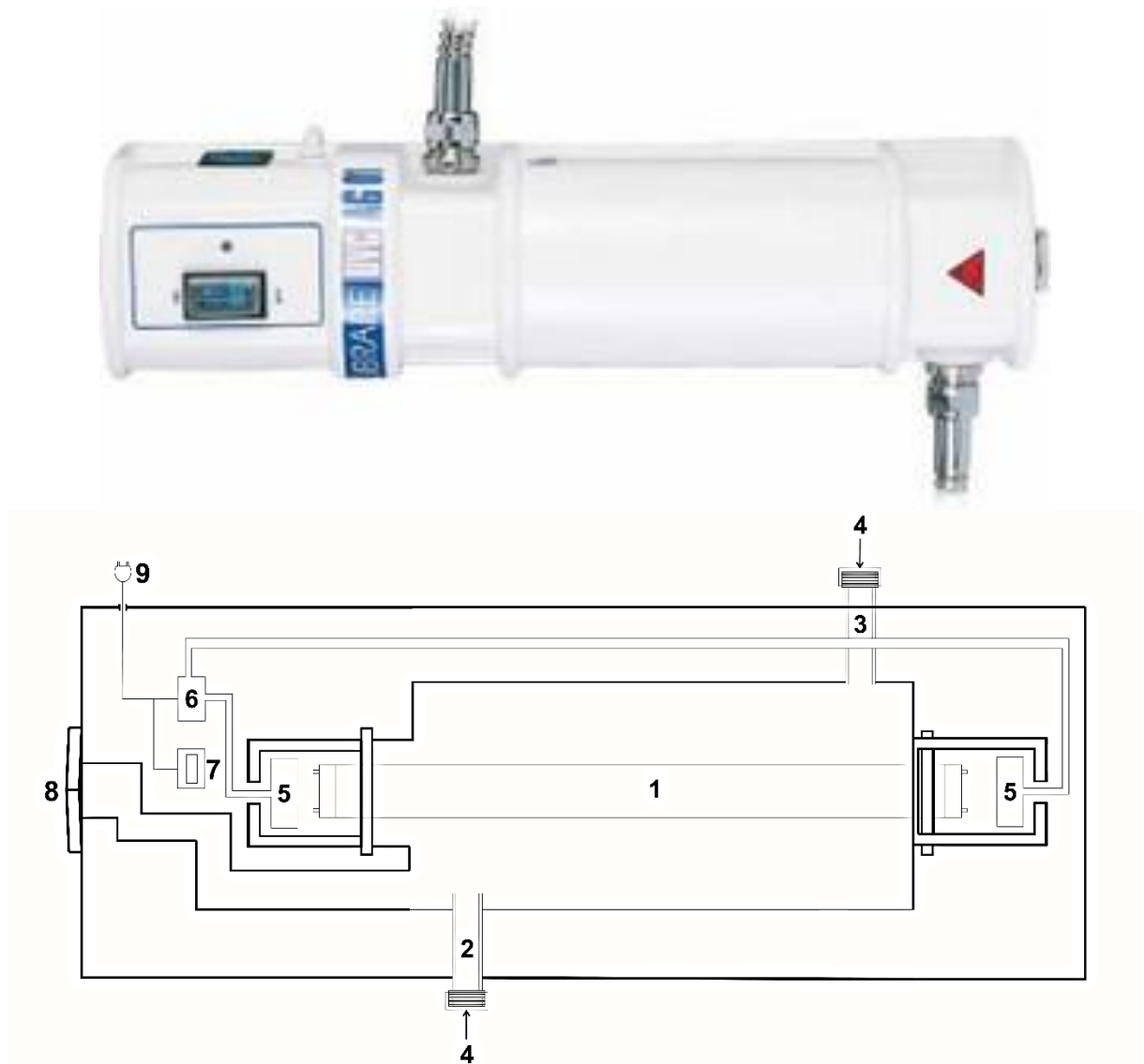


Figura 17 - Esterilizador de Água AG-01 – SIBRAPE UVC. 1 – Lâmpada Philips UVC 15WT8; 2 – Abertura para Entrada de Esgoto; 3 – Abertura para Saída de Esgoto; 4 - Tampa de Vedação em Aço Inox; 5 – Adaptador e Alimentador de Lâmpada; 6 – Conector Elétrico com Fusível; 7 – Botão liga/desliga; 8 – Ladrão para Purga

Fonte: Adaptado pelo autor do Manual do Equipamento – SIBRAPE UVC – AG-01.

Para melhor desenvolvimento dos testes de sensibilidade o aparelho utilizado para o experimento teve seu desempenho quanto a eficiência de sua lâmpada testada em luxímetro fotoradiômetro, específico para radiação ultravioleta (marca Delta OHM – modelo HD2102.2), disponibilizado pelo Departamento de Física da Universidade Estadual de Londrina e testado sob supervisão do Professor Dr. Avacir Casanova Andrello. Esse instrumento foi regulado entre as faixas de onda de radiação de 248 a 258 nm, visando testar qual a faixa de radiação emitida pela lâmpada no instrumento.

A Figura 18 demonstra a abrangência da faixa e sua intensidade, aferida pelo aparelho conforme teste realizado, deve-se salientar que em todos os meios de diluição o resultado não teve alteração.

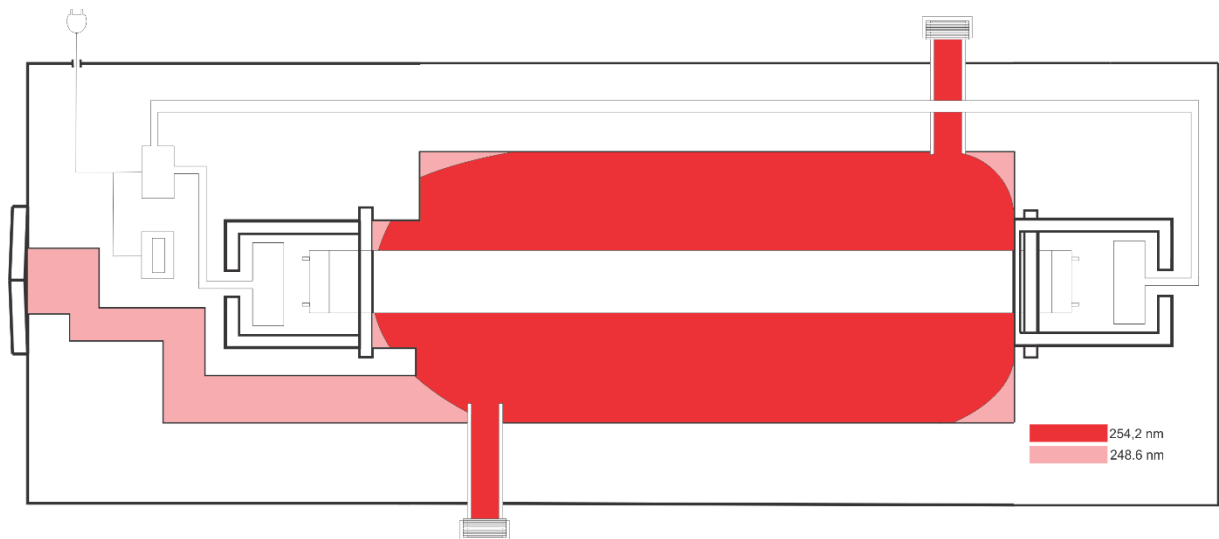


Figura 18 – Esquema de Aparato para Teste de Sensibilidade de UV - Faixas de Abrangência e Intensidade Luminosa.

Fonte: Autoria própria

Foi também mensurada a dose de radiação do equipamento sendo está descrita em mW/s chegando ao espectro de 54 a 56, com média de 55, segundo luxímetro fotoradiômetro (marca Delta OHM – modelo HD2102.2). Com os dados, pôde-se plotar as curvas padrões para análise de comportamento da eficiência do aparato ante a inserção das diluições inseridas no corpo de reator.

Foram preparados frasco contendo 400 mL de cada solução (Estérril, TSB –Hospital e TSB – Saída), e em seguida acrescentou-se 1,0 mL do isolado bacteriano na escala Mac Farland, 0,5.

A mistura de solução e isolado bacteriano foi colocada no Esterilizador e após seu fechamento a solução foi homogeneizada dentro do equipamento (homogeneização realizada com 10 movimentos de 45° do equipamento). Após o processo de homogeneização foi retirado

100 µL de solução de dentro do equipamento e inoculado em placa de Petri contendo 20 mL de Meio Ágar BHI, que foi considerado como tempo de 0”.

Após a retirada desta amostra o sistema de esterilização foi fechado e o equipamento foi ligado, outras amostra de 100µL foram retiradas após contato de tempo de 15”, 30”, 60”, 300”, 10’ e 20’ (Figura 19) conforme trabalhos de Campos (1999) e Gonçalves (2003) sendo feita homogeneização (10 movimentos de 45° do equipamento) em cada retirada de tempo. Para cada tempo foram utilizadas três placas de Petri contendo ágar BHI (20 mL), sendo as amostras espalhadas com a utilização de swab estéril. Após a inoculação as placas foram levadas a estufa bacteriológica onde permaneceram a 37°C por 24 horas.

Após o período de incubação procedeu-se a contagem das UFC formadas em cada placa. O crescimento em placa indicou a resistência das bactérias ao contato com radiação ultravioleta após exposição. Com os dados de contagem foi possível o cálculo de eficiência deste método de desinfecção para os pontos de coleta e qual a influência dos sólidos suspensos totais para este tratamento. Também foi construída uma curva de referência de eficiência de inativação das bactérias estudadas após o tempo de contato com a radiação UV, para comparação de eficiência entre a desinfecção teórica e a prática conforme experimento (Emerick et. al., 2000), utilizando a Equação 9:

$$N = N_D \cdot e^{-k \cdot dose} + \frac{N_p}{k \cdot dose} (1 - e^{-k \cdot dose}) \quad \text{Equação 9}$$

Onde:

N = Concentração de microrganismos no efluente (organismos/100mL);

N_D=concentração de microrganismos dispersos no afluente (organismos/100mL);

N_p = concentração de microrganismos associados à matéria particulada (organismos/100mL)

dose = dada pela Equação 10:

$$dose = Ixt \text{ (mW/s}^2\text{)} \quad \text{Equação 10}$$

I = Intensidade luminosa da lâmpada de desinfecção.

t = tempo de exposição à radiação UV (s).

k = constante de inativação (s⁻¹), realizada conforme lei de Chick (Chick 1908) – Equação 11:

$$\frac{dN}{dt} = -kN \quad \text{Equação 11}$$

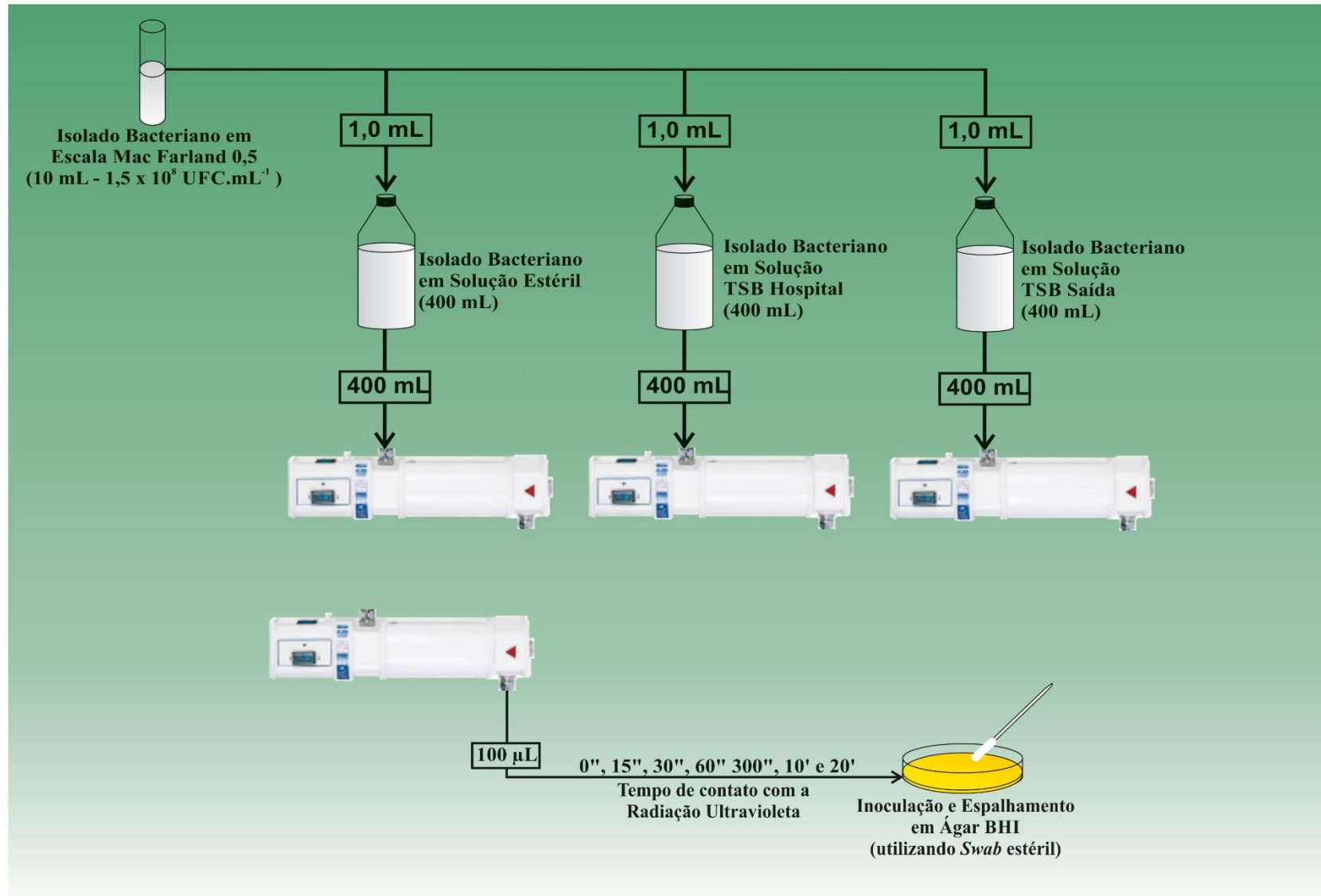


Figura 19 - Representação esquemática do procedimento para teste de sensibilidade com Radiação Ultravioleta.
Fonte: Autoria própria.

4.5 Tratamento Estatístico dos Dados

Para análise dos dados físico-químicos, foi utilizado como tratamento estatístico o esquema *boxplot*, esquema este contendo 5 números (Figura 20) traduzidos em um esquema gráfico. Originalmente chamado de *box and whisker*, onde *box* representa a caixa e *whisper* representa as linhas lateais (LEVENE, BERENSON & STEPHAN, 2000, BUSSAB; MORETTIN, 2001 e MUCELIN, 2006).

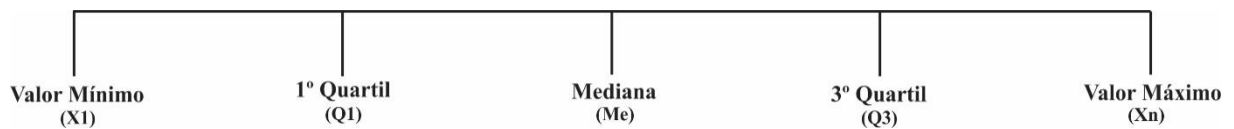


Figura 20 - Esquema dos Cinco Números

Fonte: MUCELIN (2006).

Os mesmos autores descrevem os cinco pontos como uma organização de números que combina três medidas de tendência central: a mediana, o primeiro e o terceiro quartil, com duas medidas de variação – amplitude interquartil e a amplitude máxima, além dos valores extremos dos dados do estudo.

Levando-se em consideração o intervalo interquartil, a Figura 21 permite, numa primeira análise, a verificação da existência ou não de pontos discrepantes – *outliers*, do conjunto de dados em estudo.

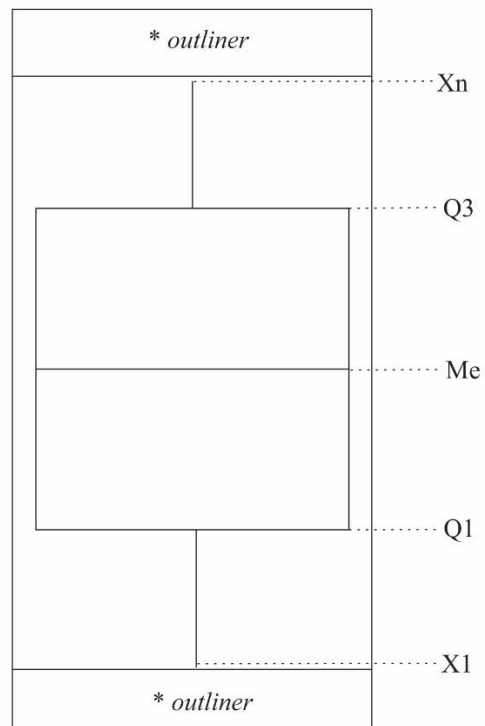


Figura 21 - Esquema do Gráfico em Forma de Caixa - *Boxplot*
Fonte: MUCELIN (2006).

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os resultados desta pesquisa serão apresentados da seguinte forma: primeiro, os resultados das análises físico-químicas dos esgotos nos pontos de coleta (Hospital, Entrada e Saída); na sequência os resultados da quantificação, isolamento e identificação das bactérias em estudo; e por fim, a caracterização do perfil de sensibilidade a antibióticos, desinfetantes e radiação ultravioleta.

5.1 Análises Físico-químicas.

O tratamento de águas residuárias tem como objetivo remover os poluentes que possam prejudicar o ambiente aquático (FRANCA *et. al.*, 2014 e MEES, 2006). Sendo necessário por conseguinte o monitoramento das características físico-químicas dos esgotos desde sua chegada a ETE até seu lançamento no corpo hídrico, para verificar se o tratamento está sendo eficiente ou não.

5.1.1 DQO

Os valores de DQO medidos nos três pontos de coleta podem ser visualizados na Tabela 8. O valor médio de DQO do esgoto coletado na entrada da ETE estava dentro da faixa de valor para o esgoto típico (DQO: 450-800 mg.L⁻¹) (ARCEIVALA, 1981, QASIM, 1985, TCHOBANOGLIOUS *et. al.* 2003, GUEDES, 2004, JORDÃO e PESSÔA, 2011 e VON SPERLING, 2011). Quando avaliados o valor médio de DQO para o ponto de saída da ETE, obteve-se o valor médio de 171 ± 19 mg.L⁻¹, sendo próximo ao encontrado por outros autores (180 mg.L⁻¹) (ARCEIVALA, 1981, QASIM, 1985, TCHOBANOGLIOUS *et. al.* 2003, GUEDES, 2004, JORDÃO E PESSÔA, 2011, VON SPERLING, 2011).

Pode-se também verificar que em alguns dos meses analisados (Junho, Julho e Setembro) os valores de DQO foram de 186 mg.L⁻¹, 183 mg.L⁻¹ e 196 mg.L⁻¹, respectivamente, pouco acima do valor máximo relato (Tabela 8).

Vivian *et. al* (2012), afirmam que lagoas anaeróbias e facultativas são sistemas de tratamento eficientes para redução de DQO. Bitton, (2005) cita que as fases anaeróbias do processo são responsáveis pela maior remoção de DQO, sendo recomendadas para o início do

tratamento, como ocorre no sistema em estudo, podendo chegar a 81% de remoção com manutenção bem feita. A média para o sistema avaliado, no período de coleta ficou abaixo do citado pelos autores, com médias de $69\% \pm 10$.

Tabela 8 –Dados de monitoramento de DQO do esgoto hospitalar, na entrada e saída da ETE.

Mês Analisado	DQO (mg.L ⁻¹)			
	Hospital	Entrada	Saída	Eficiência ETE (%)
Maio	151	615	163	73%
Junho	109	581	186	68%
Julho	99	828	183	78%
Agosto	192	649	139	79%
Setembro	161	368	196	47%
Outubro	137	604	171	72%
Novembro	181	469	152	68%
Dezembro	132	485	179	63%
Média e Desvio Padrão	145 ± 33	575 ± 138	171 ± 19	69% ± 10

Fonte: Autoria própria

Na Figura 22 pode-se observar a dispersão do conjunto de dados ao longo do período de monitoramento para os pontos estudados.

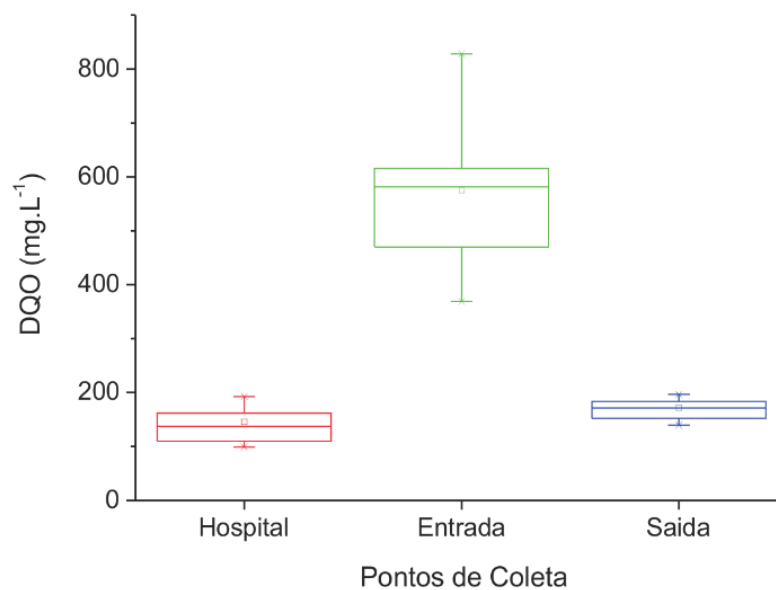


Figura 22 – Digrama boxplot dos dados de DQO nos três pontos de amostragem ao longo do período de monitoramento.

Fonte: Autoria Própria.

Observando-se os dados representados na Figura 22, nota-se que a saída da ETE apresentou menor dispersão dos dados, e a entrada na ETE a maior.

Percebe-se também ao visualizar-se a Figura 22 que não foram obtidos valores atípicos (*outliers*) e que os valores para o esgoto hospitalar e de saída da ETE, encontram-se mais próximos a mediana enquanto os valores para a entrada da ETE, encontram-se em sua maioria no 1º Quartil de forma assimétrica positiva.

5.1.2 Série de Sólidos

Os dados referentes a série de sólidos são apresentados na Tabela 9. As concentrações de ST avaliadas para as amostras coletadas nos esgotos em estudo, obtiveram médias para o esgoto hospitalar de $506 \pm 255 \text{ mg.L}^{-1}$, esgoto doméstico de entrada de $850 \pm 82 \text{ mg.L}^{-1}$ e esgoto tratado de $430 \pm 24 \text{ mg.L}^{-1}$. Os valores de entrada se enquadraram na média para esgoto típico, que é de 350 a 1200 mg.L^{-1} (PESCOD, 1992, GUEDES, 2004 e VON SPERLING, 2011). Levando-se em consideração a legislação atual (CONAMA 357/05) que apresenta os valores máximos de lançamento como sendo de 500 mg.L^{-1} , pode-se verificar enquadramento do sistema de tratamento.

A eficiência média de remoção de ST durante o tratamento foi de $49\% \pm 7$, mesmo com desempenho considerado baixo para remoção desse tipo de sólido, o mesmo é esperado em função do tratamento do esgoto ocorrer em lagoas (VON SPERLING, 2011).

Quando se analisa o diagrama *boxplot* (Figura 23a) para este parâmetro fica evidente que o esgoto hospitalar foi o que apresentou maior dispersão no conjunto de dados e o esgoto tratado a menor.

Com relação ao comportamento da concentração de ST, verifica-se que os esgotos de entrada e saída apresentaram valores variando de 763 a 967 mg.L^{-1} e 404 a 477 mg.L^{-1} , respectivamente. Já o esgoto hospitalar apresentou valores variando de 154 a 840 mg.L^{-1} . Outra característica que também pode ser observada é que com exceção do mês de agosto, onde o valor máximo de concentração de sólidos totais para o esgoto hospitalar foi de 840 mg.L^{-1} (Tabela 9), os outros valores encontraram-se abaixo dos valores obtidos na entrada da ETE.

Tabela 9 - Dados de monitoramento da série de sólidos do esgoto hospitalar, na entrada e saída da ETE.

Mês Analisado	Sólidos Totais (mg.L ⁻¹)				Sólidos Totais Fixos (mg.L ⁻¹)			
	Hospital	Entrada	Saída	Eficiência ETE (%)	Hospital	Entrada	Saída	Eficiência ETE (%)
Maio	575	829	431	48%	23	435	185	57%
Junho	752	768	445	42%	21	393	194	51%
Julho	220	951	404	58%	27	517	168	68%
Agosto	840	763	413	46%	18	414	255	38%
Setembro	665	773	477	38%	24	373	132	65%
Outubro	545	848	416	51%	23	455	203	55%
Novembro	295	904	442	51%	28	466	124	73%
Dezembro	154	967	409	58%	28	522	151	71%
Média e Desvio Padrão	506 ± 255	850 ± 82	430 ± 24	49% ± 7	24 ± 4	447 ± 54	177 ± 43	60% ± 12
Mês Analisado	Sólidos Totais Voláteis (mg.L ⁻¹)				Sólidos Suspensos Totais (mg.L ⁻¹)			
	Hospital	Entrada	Saída	Eficiência ETE (%)	Hospital	Entrada	Saída	Eficiência ETE (%)
Maio	552	394	246	38%	9	109	34	69%
Junho	731	374	251	33%	5	68	28	59%
Julho	193	434	236	46%	18	192	45	77%
Agosto	822	349	158	55%	3	38	28	26%
Setembro	641	400	345	14%	7	98	28	71%
Outubro	522	392	213	46%	10	113	36	68%
Novembro	267	439	318	28%	16	183	20	89%
Dezembro	126	445	258	42%	40	210	46	78%
Média e Desvio Padrão	482 ± 258	403 ± 34	253 ± 58	38% ± 13	14 ± 12	126 ± 62	33 ± 9	67% ± 19
Mês Analisado	Sólidos Suspensos Fixos (mg.L ⁻¹)				Sólidos Suspensos Voláteis (mg.L ⁻¹)			
	Hospital	Entrada	Saída	Eficiência ETE (%)	Hospital	Entrada	Saída	Eficiência ETE (%)
Maio	6	81	23	72%	3	29	10	66%
Junho	3	43	20	53%	2	25	9	64%
Julho	13	156	31	80%	5	36	14	61%
Agosto	2	17	21	-24%	1	21	7	67%
Setembro	4	69	18	74%	3	29	10	66%
Outubro	7	85	25	71%	3	29	10	66%
Novembro	11	146	27	82%	5	36	14	61%
Dezembro	14	172	32	81%	6	38	15	61%
Média e Desvio Padrão	8 ± 5	96 ± 56	25 ± 5	61% ± 36	4 ± 2	30 ± 6	11 ± 3	64% ± 3

Fonte: Autoria própria

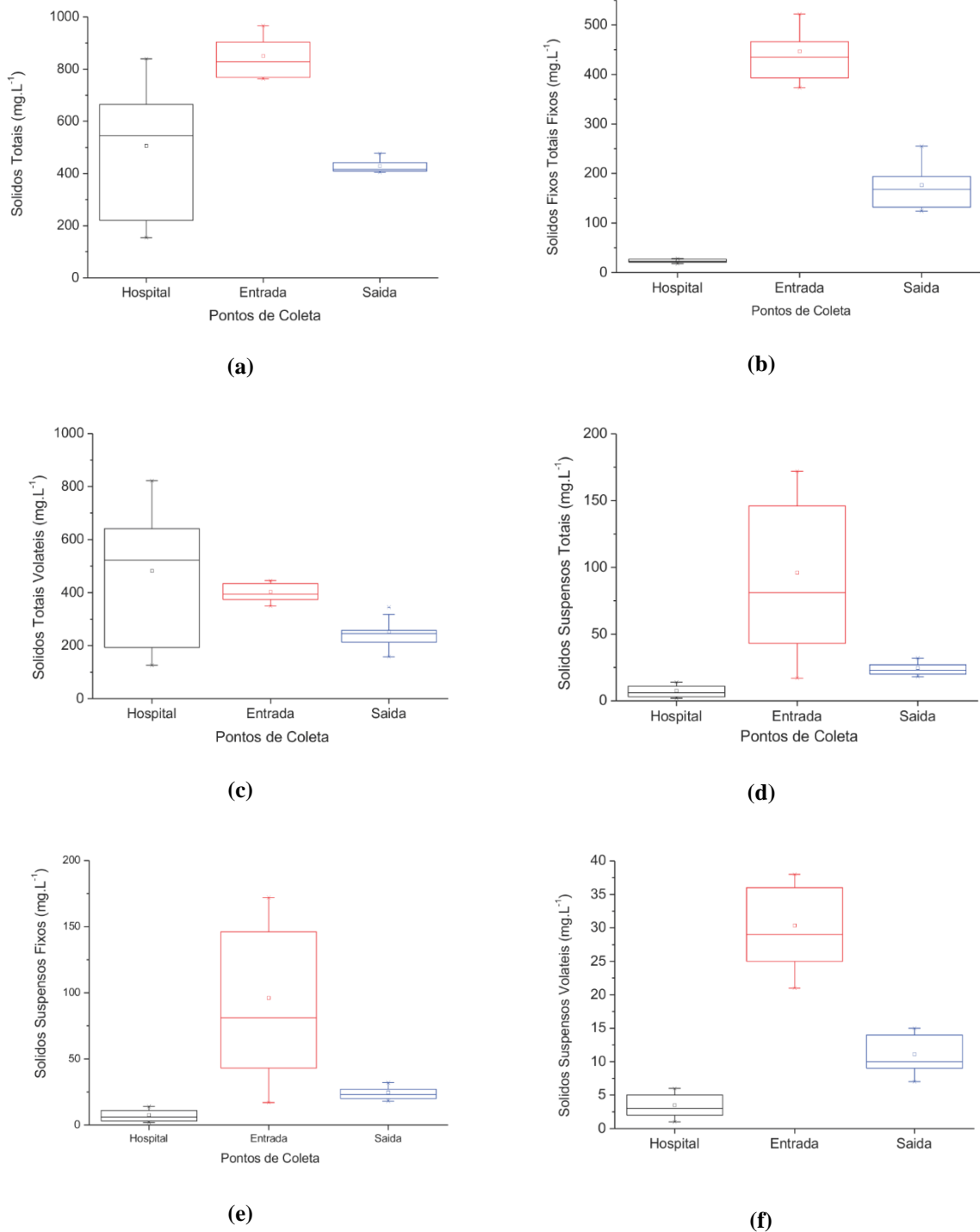


Figura 23 – Diagrama *boxplot* do monitoramento da série de sólidos do esgoto hospitalar, na entrada e saída da ETE. (a) sólidos totais; (b) sólidos totais fixos; (c) sólidos totais voláteis; (d) sólidos suspensos totais; (e) sólidos suspensos fixos; e (f) sólidos suspensos voláteis.
Fonte: Autoria Própria.

Com relação aos STF foram obtidos em média $24 \pm 4 \text{ mg.L}^{-1}$ para o hospital, $447 \pm 54 \text{ mg.L}^{-1}$ para a entrada e $177 \pm 43 \text{ mg.L}^{-1}$ para a saída, com eficiência média de remoção de $60\% \pm 12$. Analisando a Tabela 9, observa-se que os valores de STF da entrada obtiveram valor máximo de 522 mg.L^{-1} e mínimo de 373 mg.L^{-1} . Outra característica visualizada é que

em todos os meses de coleta os valores para o esgoto tratado são mais elevados que os valores do esgoto hospitalar com valores máximos e mínimos de 255 mg.L⁻¹ e 124mg.L⁻¹, respectivamente para o tratado e valor máximo de 28mg.L⁻¹ e mínimo de 18 mg.L⁻¹, respectivamente para o hospitalar.

Observando a Figura 23b, percebe-se pouca dispersão dos valores mínimo e máximo do conjunto de pontos para o hospital e maior dispersão na entrada e de saída da ETE.

As concentrações de STV avaliadas para as amostras coletadas, obtiveram médias para o esgoto hospitalar de 482 ± 258 mg.L⁻¹, esgoto doméstico de entrada de 403 ± 34 mg.L⁻¹ e esgoto tratado de 253 ± 58 mg.L⁻¹ e eficiência média de remoção $38\% \pm 13$ (Tabela 9). Nota-se que o esgoto hospitalar comparando com os outros esgotos, teve valores mais elevados nos meses de junho, agosto, setembro e outubro, e menores nos meses de julho, novembro e dezembro.

Outra característica observada é a grande diferença entre o valor mínimo de 126mg.L⁻¹ e máximo de 822 mg.L⁻¹ para o esgoto hospitalar, o que não acontece com a entrada da ETE com concentração mínima de 349 mg.L⁻¹ e máxima de 445 mg.L⁻¹. Enquanto o esgoto tratado chega a concentrações mínima de 158 mg.L⁻¹ e máxima de 345 mg.L⁻¹. Este comportamento pode ser melhor visualizado na Figura 23c.

Com relação aos resultados dos SST obteve-se médias para o esgoto hospitalar de 14 ± 12 mg.L⁻¹, esgoto de entrada de 126 ± 62 mg.L⁻¹ e esgoto tratado de 33 ± 9 mg.L⁻¹ e eficiência média de remoção $67\% \pm 19$ (Tabela 9). O valor médio de entrada ficou abaixo dos esgotos doméstico padrão, que fica entre 236 e 298 mg.L⁻¹ (GUEDES, 2004, EMMANUEL *et. al.*, 2005, PRADO, 2007 e SILVEIRA 2011).

Mesmo com um média de eficiência do tratamento em torno de 67% observa-se que no mês de agosto houve baixa entrada de SST o que influenciou na eficiência de remoção (26%), apesar dos valores no esgoto tratado não variar muito, o que indica ser esta a menor faixa de sólidos que pode ser removida do sistema.

Quando observado o comportamento dos SST dos esgotos hospitalar e tratado (Figura 23d), percebe-se que mantiveram pouca dispersão ao longo do período de amostragem.

Para os dados de SSF os valores médios foram de 8 ± 5 mg.L⁻¹ para o hospital, 96 ± 56 mg.L⁻¹ para a entrada e 25 ± 5 mg.L⁻¹ para a saída, com eficiência média de remoção de $61\% \pm 36$ (Tabela 9).

Analisando a Figura 23e verifica-se que o comportamento dos SSF foi semelhante ao descrito para os SST (Figura 23d) tanto no quesito concentração quanto na dispersão dos dados.

Com relação aos SSV os valores médios obtidos foram de $4 \pm 2 \text{ mg.L}^{-1}$ para o hospital, $30 \pm 6 \text{ mg.L}^{-1}$ para a entrada e $11 \pm 3 \text{ mg.L}^{-1}$ para a saída, com eficiência média de remoção de $64\% \pm 3$.

A Figura 23f apresenta os dados de SSV ao longo do período de monitoramento. Observa-se no diagrama *boxplot* que o esgoto de entrada teve a maior dispersão de valores mensurados e o hospitalar a menor.

Os dados de concentração de SST foram importantes para a realização dos experimentos de perfil de sensibilidade aos desinfetantes e radiação ultravioleta pois correspondem a matéria orgânica suspensa, sendo este fator um possível responsável pela menor efetividade de ação dos desinfetantes e/ou na exposição desses esgotos à radiação ultravioleta. Este parâmetro foi levado em consideração nos testes que foram realizados individualmente para cada bactéria estudada.

5.1.3 Turbidez

Quando avaliado o parâmetro turbidez foi possível verificar que as médias para os esgotos hospitalar, bruto e tratado foram de $28,7 \pm 6,2 \text{ UNT}$, $187,7 \pm 43,3 \text{ UNT}$ e $29,2 \pm 6,2 \text{ UNT}$, respectivamente. A média de eficiência de remoção foi de $83\% \pm 7$ (Tabela 10).

Tabela 10 - Dados de monitoramento de turbidez do esgoto hospitalar, na entrada e saída da ETE.

Mês Analisado	Turbidez (NTU)			
	Hospital	Entrada	Saída	Eficiência ETE (%)
Maio	28,9	202,7	30,3	85%
Junho	33,6	184,3	25,3	86%
Julho	40,2	262,0	18,8	93%
Agosto	24,3	221,0	25,2	89%
Setembro	22,3	125,0	36,8	71%
Outubro	30,5	196,6	28,6	85%
Novembro	21,9	161,1	37,4	77%
Dezembro	28,0	148,7	31,0	79%
Média e Desvio Padrão	$28,7 \pm 6,2$	$187,7 \pm 43,3$	$29,2 \pm 6,2$	$83\% \pm 7$

Fonte: Autoria Própria.

Considerando-se a Resolução CONAMA 357/05, os valores de saída estavam abaixo de 100 UNT considerada para lançamento de efluente em corpos d'água classe 2.

Na Figura 24 são apresentados os dados de turbidez medidos durante o período de amostragem. Observa-se que os valores de turbidez para os esgotos hospitalar e tratado foram os que tiveram menor dispersão.

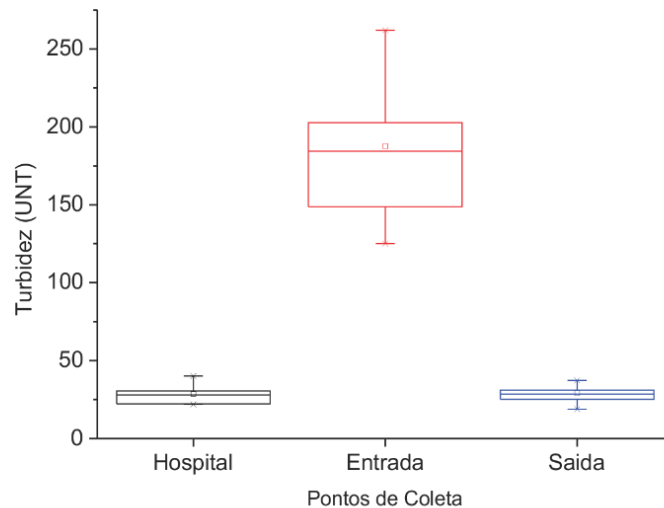


Figura 24 – Diagrama *Boxplot* de turbidez nos três pontos de amostragem ao longo do período de monitoramento.

Fonte: Autoria própria

5.1.4 pH

A média dos valores de pH no período de amostragem foram de $8,7 \pm 0,4$ para os esgoto hospitalar, $6,8 \pm 0,1$ para a entrada da ETE e $7,5 \pm 0,3$ na saída da ETE, como pode ser visualizado na Tabela 11.

O esgoto tratado em todos os meses apresentou resultados dentro do limite estabelecido pelo Resolução CONAMA 357/05 (na faixa de 6,0 a 9,0).

O pH mensurado para o esgoto hospitalar teve valor maior em relação aos outros esgotos em estudo. Estes resultados são coerentes com o relatado por Kummerer (2003), Guedes (2004) e Oliveira e Silva (2014), quando afirmam que, o esgoto proveniente de EAS contém uma carga relativa de fármacos e outras substâncias que podem influenciar na acidez ou basicidade deste tipo de esgoto.

Tabela 11 - Dados de monitoramento do pH no esgoto hospitalar, na entrada e saída da ETE.

Mês Analisado	pH		
	Hospital	Entrada	Saída
Maio	8,7	6,9	7,5
Junho	9,3	6,9	8
Julho	9,2	7	7,9
Agosto	8	6,8	7
Setembro	8,7	6,8	7,5
Outubro	8,9	6,9	7,7
Novembro	8,4	6,8	7,3
Dezembro	9,1	6,9	7,8
Média e Devio Padrão	$8.8 \pm 0,4$	$6.9 \pm 0,1$	$7.6 \pm 0,3$

Fonte: Autoria própria

Pode-se notar também que o esgoto na entrada apresenta baixa dispersão (6,8 a 7,0), e que após o tratamento ocorre aumento, variando de 7,0 a 8,0 (Figura 25). Este comportamento é justificado em função do sistema de tratamento (lagoas), onde as algas presentes nas lagoas de tratamento pelo processo de fotossíntese consomem CO_2 fazendo com que os íons bicarbonato (HCO_3^-) presentes no esgoto tendam a se converter a OH^- promovendo a elevação do pH (VON SPERLING, 2011).

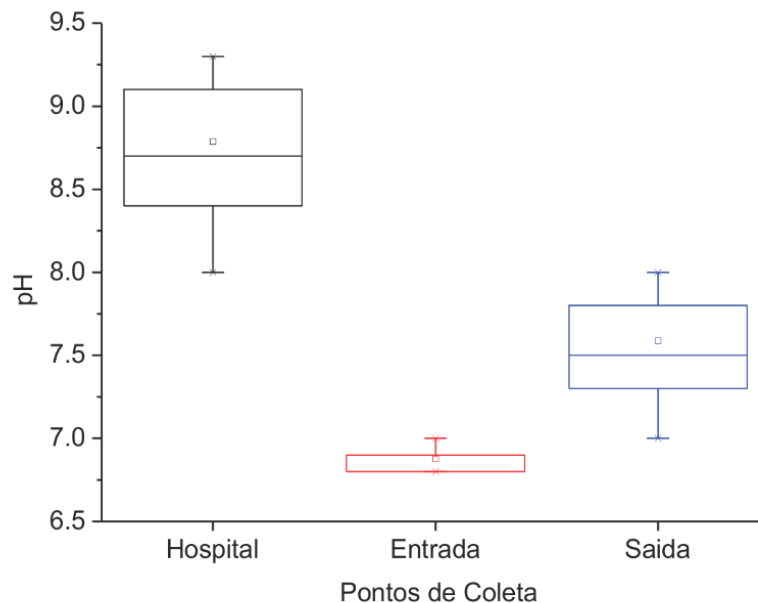


Figura 25 – Diagrama *boxplot* dos dados de pH nos três pontos de amostragem ao longo do período de monitoramento.

Fonte: Autoria própria

5.1.5 Nitrogênio Amoniacal

As médias de nitrogênio amoniacal para o período de oito meses de coleta foram de 10 ± 4 mg.L⁻¹ esgoto hospitalar, 26 ± 9 mg.L⁻¹ entrada da ETE e 33 ± 8 mg.L⁻¹ saída da ETE. A Tabela 12 apresenta o comportamento do nitrogênio amoniacal para os pontos de coleta ao longo do tempo de monitoramento.

Tabela 12 - Dados de monitoramento do Nitrogênio Amoniacal no esgoto hospitalar, na entrada e saída da ETE.

Mês Analisado	Nitrogênio Amoniacal (mg.L ⁻¹)		
	Hospital	Entrada	Saída
Maio	10	24	30
Junho	6	37	43
Julho	2	38	38
Agosto	15	12	18
Setembro	13	24	35
Outubro	9	28	34
Novembro	15	17	26
Dezembro	9	31	40
Média e Desvio Padrão	10 ± 4	26 ± 9	33 ± 8

Fonte: Autoria Própria

Quando avaliados de forma global, pode-se concluir que o sistema de tratamento adotado em termos de remoção de nitrogênio amoniacal não atende a legislação (Resolução CONAMA 357/2005), pois o esperado para lançamento em corpo hídrico seria no máximo de 13,3 mg.L⁻¹ de nitrogênio amoniacal.

A concentração de nitrogênio amoniacal presente no esgoto hospitalar foi inferior ao de entrada, com exceção no mês de agosto. Nota-se ao analisar Tabela 12 que os valores de nitrogênio amoniacal de saída, estiveram sempre acima dos valores de entrada. Este comportamento, justifica-se devido existir no esgoto doméstico maior concentração de nitrogênio orgânico, que ao entrar no sistema de tratamento será convertido em nitrogênio amoniacal pela microbiota presente no sistema de tratamento.

Com relação a dispersão dos valores obtidos, constata-se que o esgoto hospitalar foi o que teve a menor, comparado com a entrada e saída da ETE (Figura 26). Não foram constados valores atípicos para o parâmetro analisado no período de monitoramento.

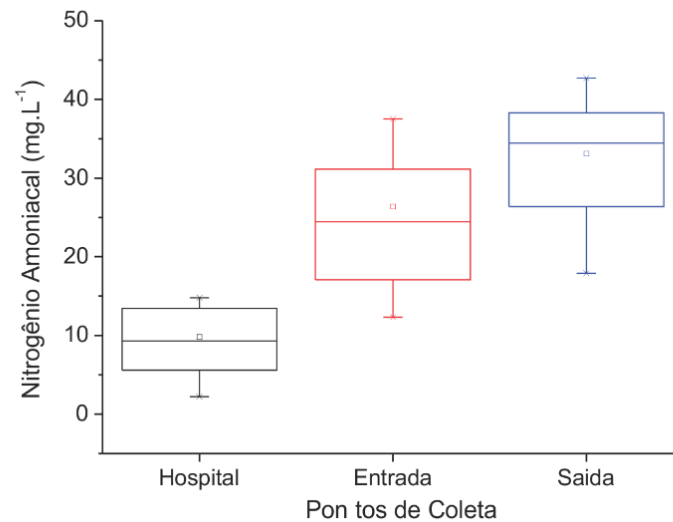


Figura 26 – Diagrama boxplot dos dados de nitrogênio amoniaco nos três pontos de amostragem ao longo do período de monitoramento.

Fonte: Autoria própria

5.2 Análises Microbiológicas.

5.2.1 Quantificação, Isolamento e Identificação Microbiológica

Em todas as amostras coletadas nos meses de estudo (Maio a Dezembro de 2013), o rol de bactérias foco deste trabalho foram identificadas (Figura 27), indicando que em todos os pontos de coleta analisado existe um ambiente propício para o desenvolvimento dos gêneros/espécies de interesse. Percebeu-se também, que na entrada da ETE há um maior número de bactérias quando comparado aos outros pontos. Este resultado vem ao encontro da legislação vigente (RDC n°. 050/02) quando autoriza os estabelecimentos assistenciais de saúde a lançar diretamente seus esgotos na rede pública de coleta e tratamento de esgoto, uma vez que não estarão aumentando a concentração de microrganismos no esgoto doméstico que deverá ser tratado na ETE.

Porém, esta análise não leva em consideração a emergência da resistência bacteriana, pois o esgoto hospitalar, segundo Gautam (2007) e Vecchia (2009) possui grande concentração de medicamentos e desinfetantes que são provenientes de tratamentos, limpeza ou mesmo patógenos excretados por pacientes via urinária e/ou fecal e que podem contribuir para o aumento de populações de bactérias patogênicas resistentes (US – EPA, 2006).

Também é importante destacar que as linhagens multirresistentes de microrganismos patogênicos originam-se a partir da aquisição de genes por processos de transdução, transformação ou conjugação bacteriana. Por isso, um grande aporte de bactérias, como constatado, podem favorecer todos esses processos citados (WANJUGI & HARWOOD, 2013) levando a um aumento de organismos resistentes, que serão mais difíceis de remover durante os processos convencionais de tratamento de efluentes.

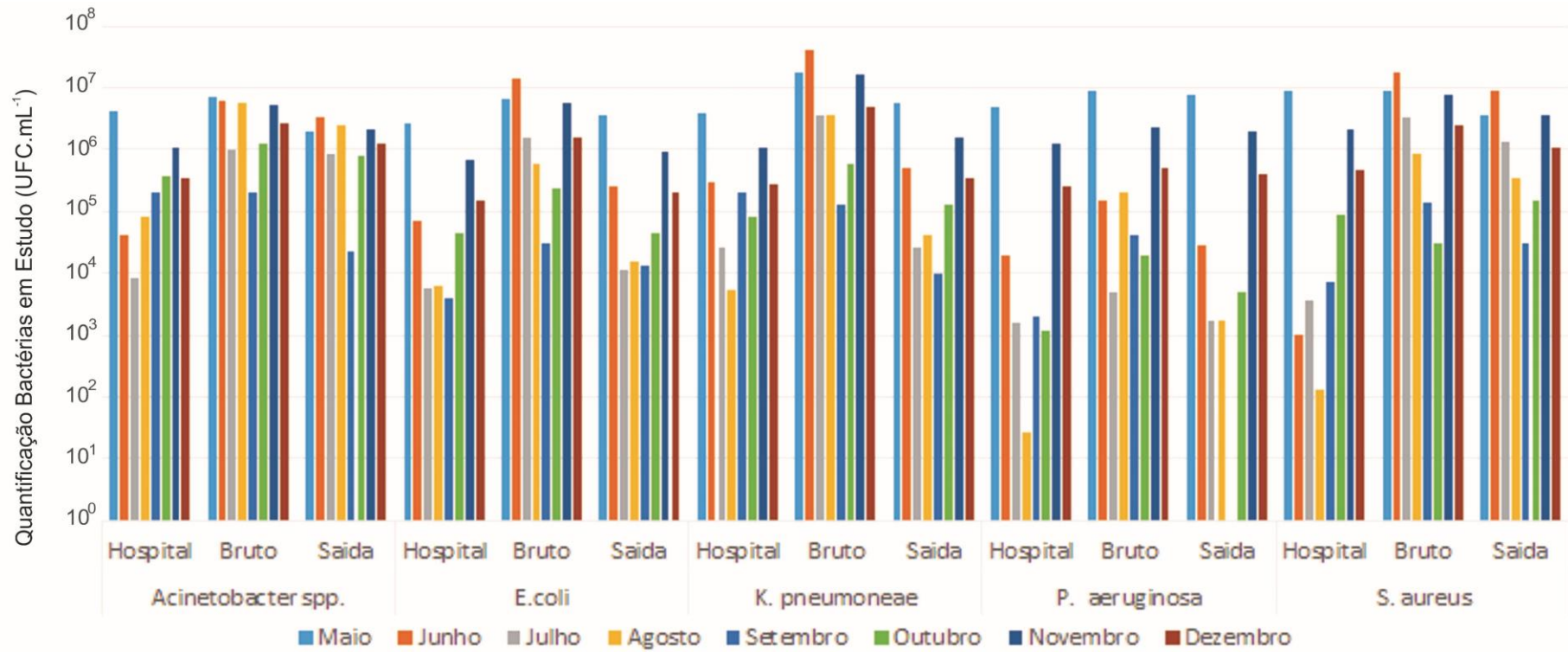


Figura 27 - Quantificação Bactérias em Estudo (UFC.mL⁻¹) por mês e pontos de coleta.
Fonte: autoria própria

5.2.1.1 *Acinetobacter spp*

Em todas as coletas efetuadas foram verificadas a existência de bactérias do gênero *Acinetobacter spp.*, com valores acima de $8,1 \times 10^3$ UFC.mL⁻¹ (Figura 28).

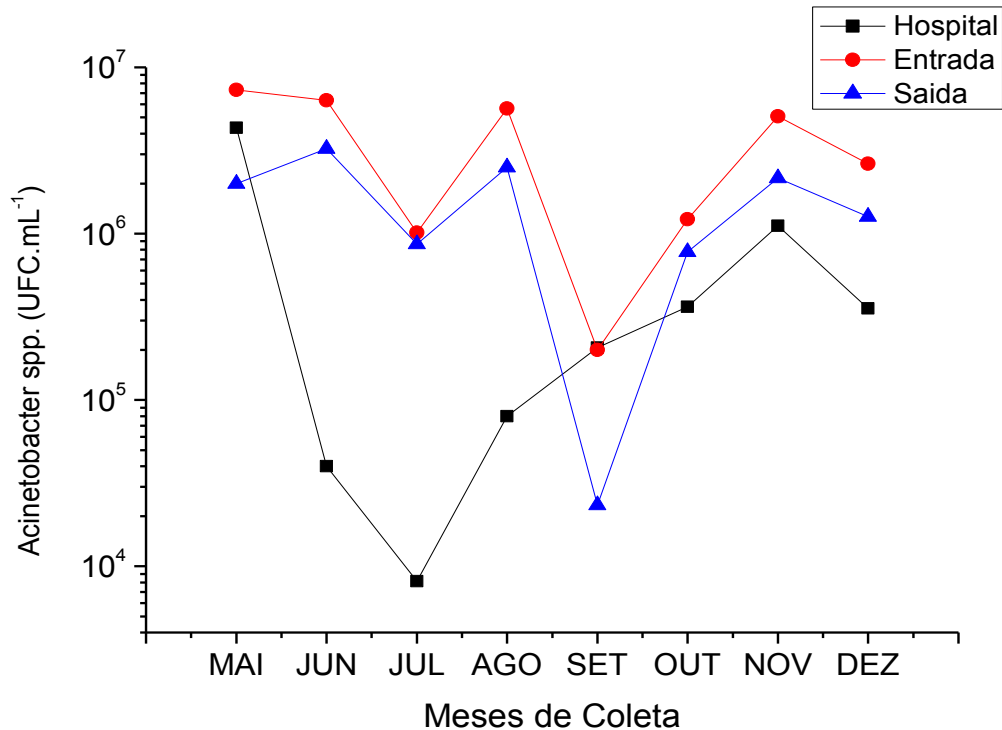


Figura 28 - Quantificação em UFC.mL⁻¹ de *Acinetobacter spp.* por pontos e meses de coleta. Fonte: Autoria Própria

Mesmo sendo classificado pelo OMS (2014) como uma bactéria oportunista, os isolados do gênero *Acinetobacter spp.* foram identificados e quantificados em média no esgoto hospitalar, com $8,13 \times 10^5 \pm 1,47 \times 10^6$ UFC.mL⁻¹ demonstrando grande heterogeneidade nas quantificações e possível dispersão, confirmando a existência desse gênero bacteriano no esgoto hospitalar, assim como evidenciado por Henes et. al. (2013), Silva (2013) e Assis et. al. (2011), em quantidade relativamente menor, em média de $2,0 \times 10^4$ UFC.mL⁻¹ para os três trabalhos.

Para os dois pontos de coleta referentes ao sistema de tratamento (Entrada e Saída) teve-se em média, respectivamente, $3,68 \times 10^6 \pm 2,74 \times 10^6$ UFC.mL⁻¹ e $1,61 \times 10^6 \pm 1,06 \times 10^6$ UFC.mL⁻¹. Nota-se também ao fazer-se comparação entre os pontos de entrada e saída da ETE, baixa eficiência de remoção durante o tratamento (43%).

Acinetobacter spp. é encontrada em outras formas de esgoto, como por exemplo, esgotos contendo compostos provenientes de tratamento para branqueamento ou mesmo de esgotos provenientes de suinocultura (HALL et. al., 1992) e MANZ et. al., 2009).

5.2.1.2 *Escherichia coli*

Escherichia coli é o principal representante do grupo de Coliformes Termotolerantes, sendo abundante nas fezes humanas e de animais homotérmicos. Esta espécie de bactéria é considerada como indicador de contaminação recente por fezes humanas, atividades agropecuárias e animais de sangue quente (OMS 2014, VON SPERLING, 2011E THOMMANN E MUELLER, 1987).

A Figura 29 apresenta a quantificação de UFC.mL⁻¹ das bactérias em estudo nos pontos de coleta.

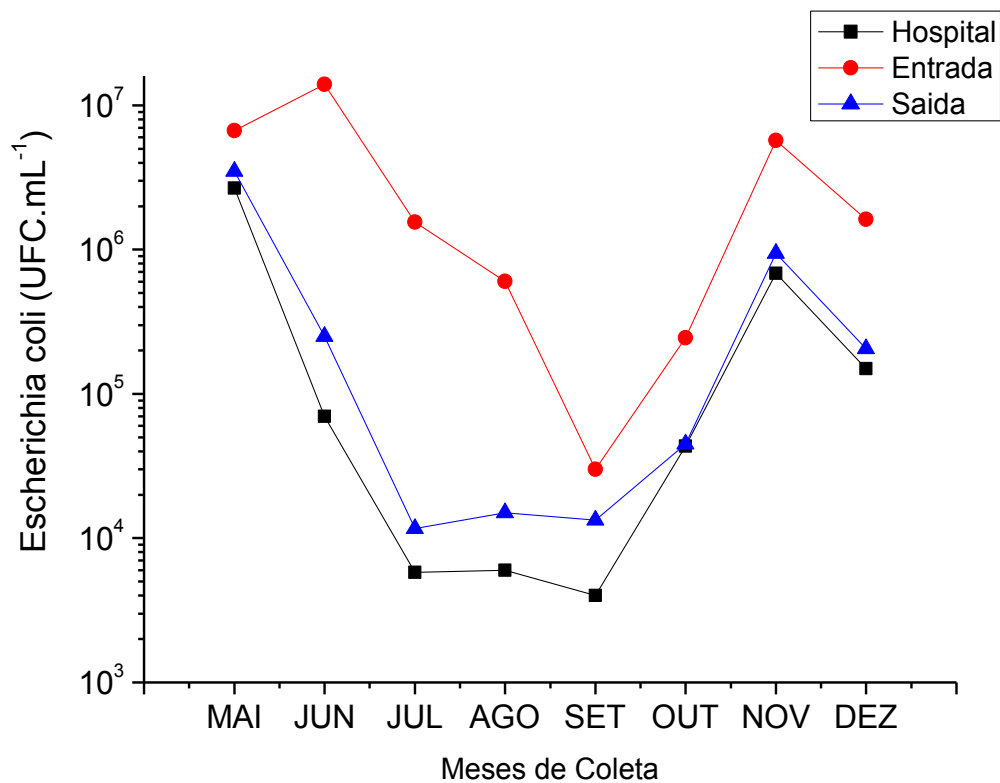


Figura 29 - Quantificação em UFC.mL⁻¹ de *Escherichia coli* por pontos e meses de coleta.
Fonte: Autoria Própria

A quantidade de UFC.mL⁻¹ em média, para os pontos de coleta referentes ao esgoto hospitalar e da entrada da estação de tratamento, encontram-se em conformidade com o

verificado por outros autores ($9,25 \times 10^5 \pm 9,23 \times 10^5$ UFC.mL⁻¹ e $4,82 \times 10^6 \pm 4,82 \times 10^6$ UFC.mL⁻¹, respectivamente), sendo menor a concentração no esgoto hospitalar em comparação ao esgoto na entrada da ETE. Este resultado pode estar relacionado a maior diluição do esgoto hospitalar pois a quantidade de água utilizada por leito/paciente é maior quando comparada a utilização doméstica (EMANNUEL et. al., 2009; ANA, 2012; RODRIGUEZ-MOZAZ, 2014).

Quando analisado os dados referentes ao ponto de coleta da saída da ETE, pode-se verificar que em média a quantidade de UFC.mL⁻¹, que está sendo lançada pós tratamento no corpo hídrico é de $7,46 \times 10^5$ UFC.mL⁻¹, sendo a eficiência de tratamento para essa espécie de bactéria de 16%. Verifica-se que a concentração que está sendo lançada no corpo receptor é superior ao determinado pela legislação atual que estipula a quantidade de 1000 coliformes termotolerantes por 100 mililitros (CONAMA 357/2005) para os corpos hídricos de classe 2.

5.2.1.3 *Klebsiella pneumoniae*

Também integrante do grupo dos coliformes termotolerantes a espécie *Klebsiella pneumoniae*, não tem a mesma abordagem na legislação vigente (CONAMA 357/2005) devido a mesma ser nativa do ambiente. O comportamento de crescimento da espécie em questão pode ser visualizado na Figura 30.

Conforme relatado, mesmo pertencendo ao mesmo grupo das bactérias termotolerantes, e descrevendo comportamento parecido em relação a existência nos pontos de entrada e saída da ETE em comparação a *Escherichia coli*, essa espécie apresenta comportamento diferenciado para os esgotos hospitalares, por ser uma das espécies com maior incidência em infecções contraídas em hospitais. A contagem em média para o ponto de coleta do hospital foi de $7,43 \times 10^5 \pm 1,36 \times 10^6$ UFC.mL⁻¹.

Koh et. al. (2015), Souhila et. al. (2014), Chernicharo et. al. (2010) e Reche (2005) afirmam que a variabilidade dos isolados de *Klebsiella pneumoniae*, podem estar relacionados a quantidade de pacientes contaminados no hospital ou mesmo a incidência da mesma no meio hospitalar ou ambiente externo.

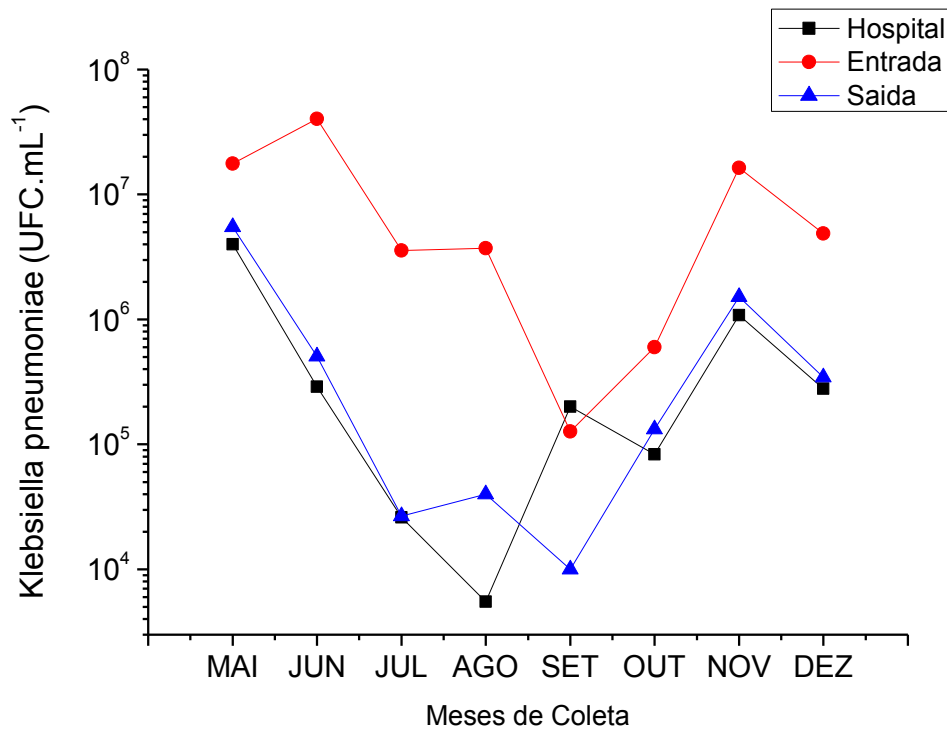


Figura 30 - Quantificação em UFC.mL⁻¹ de *Klebsiella pneumoniae* por pontos e meses de coleta.
Fonte: Autoria Própria

Pela quantificação notou-se valores mais próximos entre os esgotos hospitalar e da saída da ETE em todos os meses de monitoramento, sendo ainda evidenciada proximidade na quantificação da espécie no mês de Julho ($2,6 \times 10^4$ UFC.mL⁻¹ – esgoto hospitalar e $2,7 \times 10^4$ UFC.mL⁻¹ – esgoto da saída da ETE).

Quando verificados os pontos de coleta da entrada e saída da ETE obteve-se a quantificação média para o período de $1,09 \times 10^7 \pm 1,37 \times 10^7$ UFC.mL⁻¹ e $1,01 \times 10^6 \pm 1,88 \times 10^6$ UFC.mL⁻¹, com eficiência de remoção média de 10%.

5.2.1.4 *Pseudomonas aeruginosa*

Classificada como bactéria ambiental oportunista pela OMS (2014), juntamente como *Acinetobacter spp.* e com maior facilidade para adaptação à ambientes e condições anômalas. A Figura 31 apresenta os dados quantitativos para esta espécie.

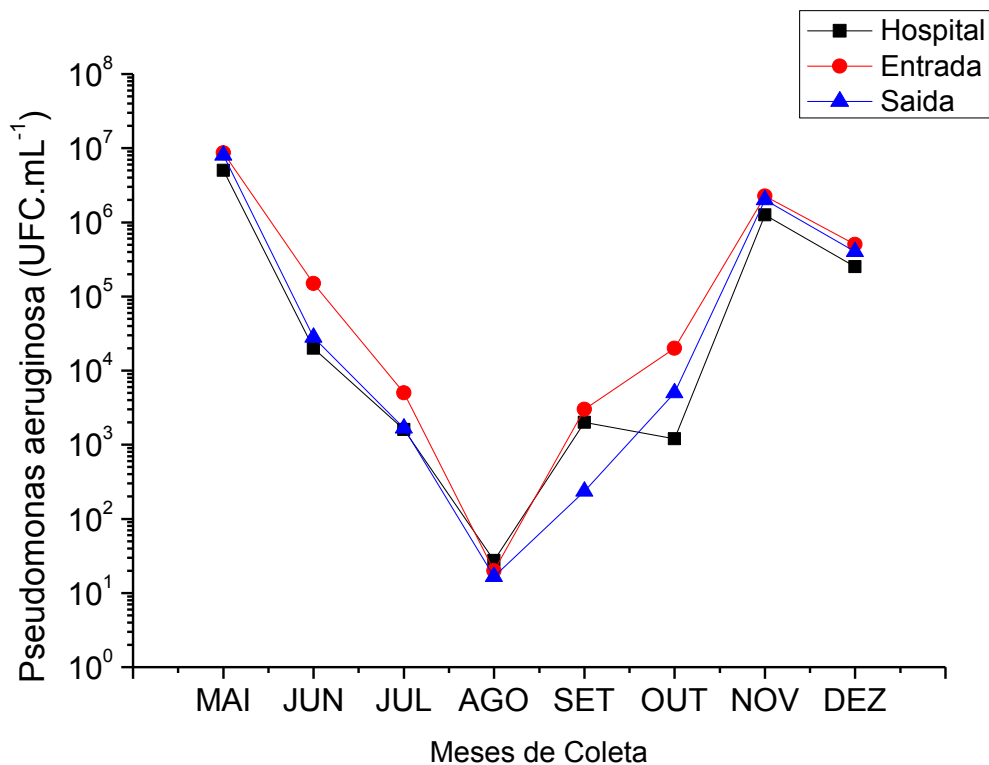


Figura 31 - Quantificação em UFC.mL⁻¹ de *Pseudomonas aeruginosa* por pontos e meses de coleta.
Fonte: Autoria Própria

Diferentemente de todas as outras espécies analisadas, a quantidade de organismos desta espécie apresentou comportamento semelhante nos três pontos de coleta no transcorrer do período estudado.

Quando calculadas as médias de quantificação de *Pseudomonas aeruginosa*, obteve-se para o hospital, entrada e saída da ETE $8,17 \times 10^5 \pm 1,74 \times 10^6$ UFC.mL⁻¹, $1,48 \times 10^6 \pm 3,0 \times 10^6$ UFC.mL⁻¹ e $1,31 \times 10^6 \pm 2,76 \times 10^6$ UFC.mL⁻¹ respectivamente.

Após o tratamento a eficiência de remoção foi em média de 88%, o que caracteriza bom índice para essa espécie de bactéria. Deve salientar, mais uma vez, que a mesma é nativa do ambiente, o que pode influenciar na quantidade restante pós tratamento.

5.2.1.5 *Staphylococcus aureus*

Os isolados de *Staphylococcus aureus* tiveram crescimento característico quanto aos outros isolados bacterianos deste estudo, conforme apresentado na Figura 32.

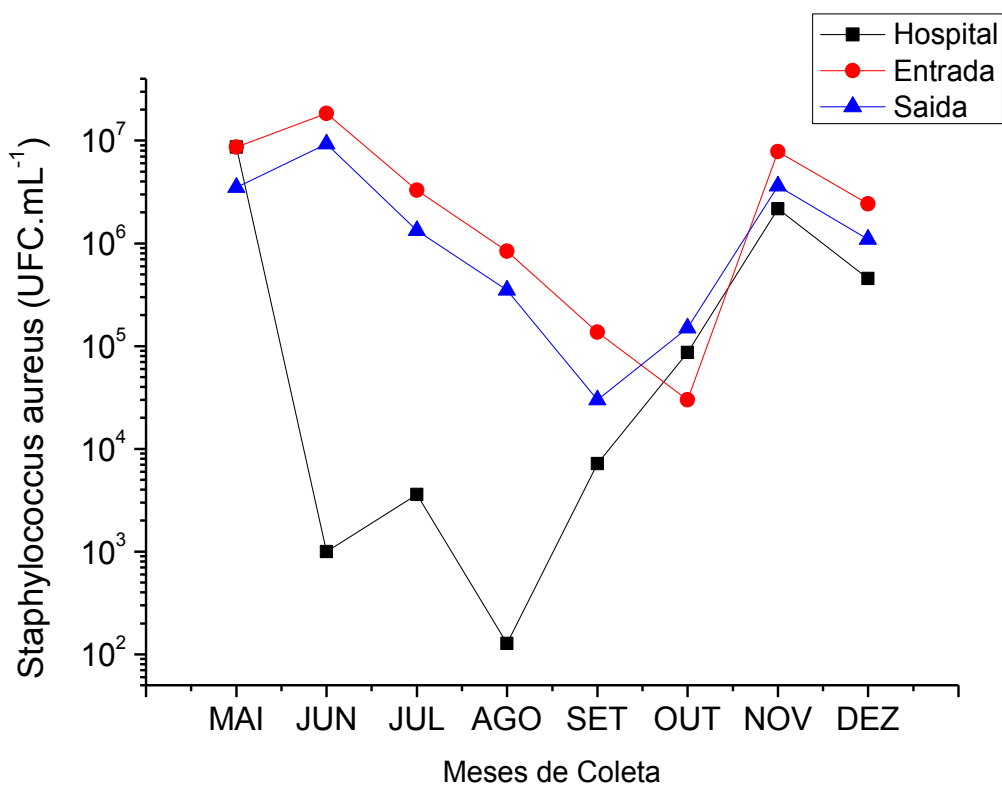


Figura 32 - Quantificação em UFC.mL⁻¹ de *Staphylococcus aureus* por pontos e meses de coleta
Fonte: Autoria Própria

Os valores encontrados para *Staphylococcus aureus* do hospital foram de $1,42 \times 10^6 \pm 3,02 \times 10^6$ UFC.mL⁻¹. Segundo Akiba et. al. (2015), Naquin et. al. (2015) e Naquim et. al. (2014), a variação na quantidade destes microrganismos é devido a sazonalidade das doenças ocasionadas por esta espécie.

Com relação a entrada e saída da ETE obteve-se respectivamente, $5,19 \times 10^6$ UFC.mL⁻¹ e $2,42 \times 10^6$ FC.mL⁻¹, com eficiência de remoção de 46%.

5.2.2 Perfil de Sensibilidade a Antibióticos, Desinfetantes e Radiação Ultravioleta.

Para realizar a caracterização do perfil de sensibilidade de forma padronizada para Antibióticos, Desinfetantes e Radiação Ultravioleta, foram escolhidos aleatoriamente 10 isolados para cada gênero/espécie estudados, conforme Tabela 13:

Tabela 13 - Isolados Bacterianos Escolhidos para Caracterização de Perfil de Sensibilidade a Antibióticos, Desinfetantes e Radiação Ultravioleta.

Genero/Espécie	Mês	Ponto de Coleta	Genero/Espécie	Mês	Ponto de Coleta
<i>Acinetobacter spp.</i> - A1	Junho	Entrada	<i>P. aeruginosa</i> - P6	Setembro	Saída
<i>Acinetobacter spp.</i> - A2	Julho	Saída	<i>P. aeruginosa</i> - P7	Outubro	Saída
<i>Acinetobacter spp.</i> - A3	Julho	Entrada	<i>P. aeruginosa</i> - P8	Outubro	Entrada
<i>Acinetobacter spp.</i> - A4	Setembro	Hospital	<i>P. aeruginosa</i> - P9	Novembro	Hospital
<i>Acinetobacter spp.</i> - A5	Setembro	Saída	<i>P. aeruginosa</i> - P10	Dezembro	Saída
<i>Acinetobacter spp.</i> - A6	Outubro	Hospital	<i>K. Pneumoniae</i> - K1	Junho	Saída
<i>Acinetobacter spp.</i> - A7	Outubro	Saída	<i>K. Pneumoniae</i> - K2	Julho	Hospital
<i>Acinetobacter spp.</i> - A8	Novembro	Saída	<i>K. Pneumoniae</i> - K3	Setembro	Hospital
<i>Acinetobacter spp.</i> - A9	Novembro	Hospital	<i>K. Pneumoniae</i> - K4	Setembro	Entrada
<i>Acinetobacter spp.</i> - A10	Dezembro	Entrada	<i>K. Pneumoniae</i> - K5	Setembro	Saída
<i>Escherichia coli</i> - E1	Junho	Hospital	<i>K. Pneumoniae</i> - K6	Outubro	Hospital
<i>Escherichia coli</i> - E2	Junho	Saída	<i>K. Pneumoniae</i> - K7	Novembro	Entrada
<i>Escherichia coli</i> - E3	Julho	Entrada	<i>K. Pneumoniae</i> - K8	Novembro	Saída
<i>Escherichia coli</i> - E4	Setembro	Hospital	<i>K. Pneumoniae</i> - K9	Dezembro	Hospital
<i>Escherichia coli</i> - E5	Outubro	Saída	<i>K. Pneumoniae</i> - K10	Dezembro	Entrada
<i>Escherichia coli</i> - E6	Setembro	Hospital	<i>S. aureus</i> - S1	Junho	Entrada
<i>Escherichia coli</i> - E7	Outubro	Saída	<i>S. aureus</i> - S2	Setembro	Saída
<i>Escherichia coli</i> - E8	Novembro	Saída	<i>S. aureus</i> - S3	Setembro	Entrada
<i>Escherichia coli</i> - E9	Dezembro	Hospital	<i>S. aureus</i> - S4	Setembro	Hospital
<i>Escherichia coli</i> - E10	Dezembro	Entrada	<i>S. aureus</i> - S5	Setembro	Hospital
<i>P. aeruginosa</i> - P1	Junho	Hospital	<i>S. aureus</i> - S6	Outubro	Saída
<i>P. aeruginosa</i> - P2	Julho	Entrada	<i>S. aureus</i> - S7	Novembro	Entrada
<i>P. aeruginosa</i> - P3	Julho	Hospital	<i>S. aureus</i> - S8	Novembro	Saída
<i>P. aeruginosa</i> - P4	Setembro	Saída	<i>S. aureus</i> - S9	Dezembro	Hospital
<i>P. aeruginosa</i> - P5	Setembro	Entrada	<i>S. aureus</i> - S10	Dezembro	Entrada

Fonte: Autoria Própria.

Todos os isolados foram testados nos três testes de sensibilidade, que serão abordados de forma individualizada nos tópicos a seguir.

5.2.2.1 Teste de Sensibilidade a Antibióticos - Antibiograma

5.2.2.1.1 Teste de Sensibilidade a Antibióticos para *Acinetobacter spp.*

A Figura 33 apresenta os resultados de sensibilidade a antibióticos para os isolados de *Acinetobacter spp.*

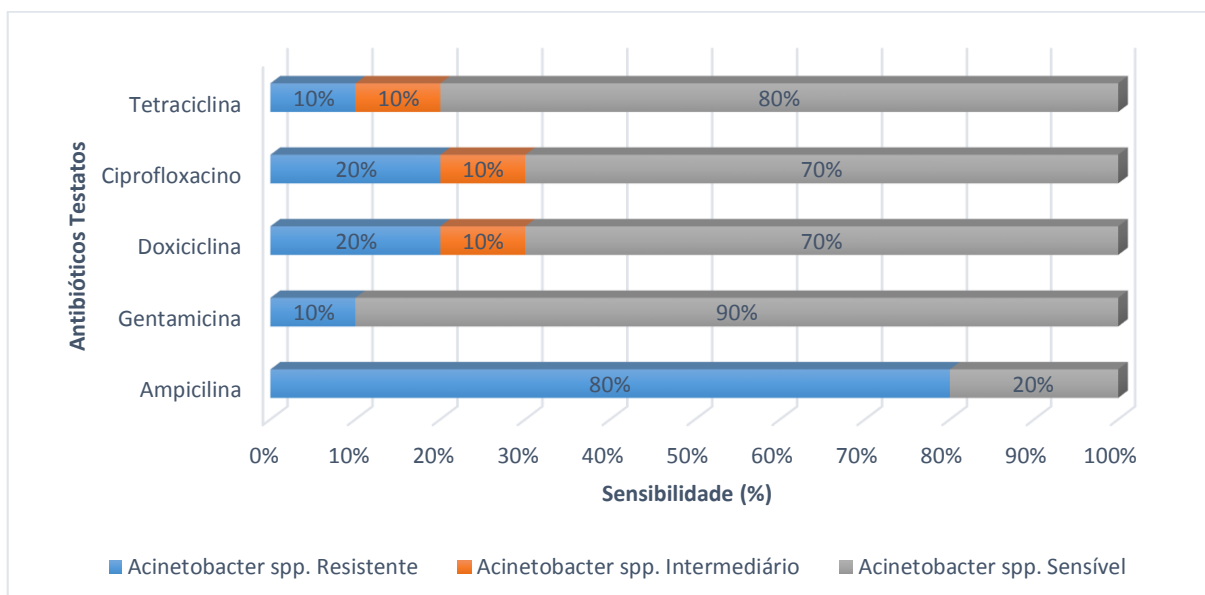


Figura 33 - Perfil de sensibilidade a antibióticos dos isolados de *Acinetobacter* spp.
Fonte: Autoria Própria

O primeiro antibiótico testado para o gênero em estudo foi a Tetraciclina, após análise dos resultados pode-se constatar que 20% desses isolados foram considerados com resistência ou resistência intermediária ao medicamento (sendo o Isolado A9 resistente e o Isolado A4 considerado como intermediário), enquanto 80% restantes demonstraram-se sensíveis a este antibiótico (A1, A2, A3, A5, A6, A7, A8 e A10).

Quanto resistência à Ciprofloxacino, pode-se constatar que 20% são resistentes (A4 e A9), 10% intermediários (A6), enquanto 70% dos isolados demonstraram-se sensíveis a este antibiótico (A1, A2, A3, A5, A7, A8 e A10).

O mesmo comportamento é evidenciado para os mesmos isolados em contato com Doxiciclina sendo 20% deles resistentes a droga (A3 e A4), 10% intermediários (A7) e 70% sensíveis (A1, A2, A5, A6, A8, A9 e A10).

Quando colocadas em contato com Gentamicina, não foram detectados intermediários em resistência, somente resistentes (10% - A7) e sensíveis (90% - A1, A2, A3, A4, A5, A6, A8, A9 e A10).

O mesmo acontece quando os isolados são colocados em contato com Ampicilina, não ocorrendo resistência intermediária, apresentando resistência em 80% deles (A2, A3, A4, A6, A7, A8, A9 e A10) e 20% sensíveis (A1 e A5). Sendo assim o a Gentamicina considerada como a droga antimicrobiana mais eficiente para esse gênero específico.

Pode-se notar que existem isolados bacterianos abordados nesta análise que são considerados multirresistentes conforme CLSI (2013) e OMS (2014) por serem resistentes a

mais de um antibiótico como o caso dos isolados A3 - resistente a Ampicilina e Doxiciclina, A4 – considerado intermediário para Tetraciclina, Ciprofloxacino, Doxiciclina e Ampicilina. Outros isolados com as mesmas características foram os A6 - resistente a Tetraciclina e Ciprofloxacino, A7 – Intermediário para Doxiciclina e resistente para Gentamicina e Tetraciclina, A9 – Resistente a Tetraciclina, Ciprofloxacino e Ampicilina.

Porém existem isolados que foram sensíveis a todos os Antibióticos como o caso dos isolados A1 e A5, caracterizando que dos isolados bacterianos testados para o gênero *Acinetobacter spp.*, 20% deles é totalmente sensível, enquanto 80% são sensíveis a pelo menos uma droga antibacteriana e a maioria deles (50% do total de bactérias testadas) são resistentes a mais de um antibiótico testado.

5.2.2.1.2 Teste de Sensibilidade a Antibióticos para *Escherichia coli*.

Na Figura 34 pode-se visualizar os resultados de sensibilidade das bactérias da espécie *Escherichia coli*.

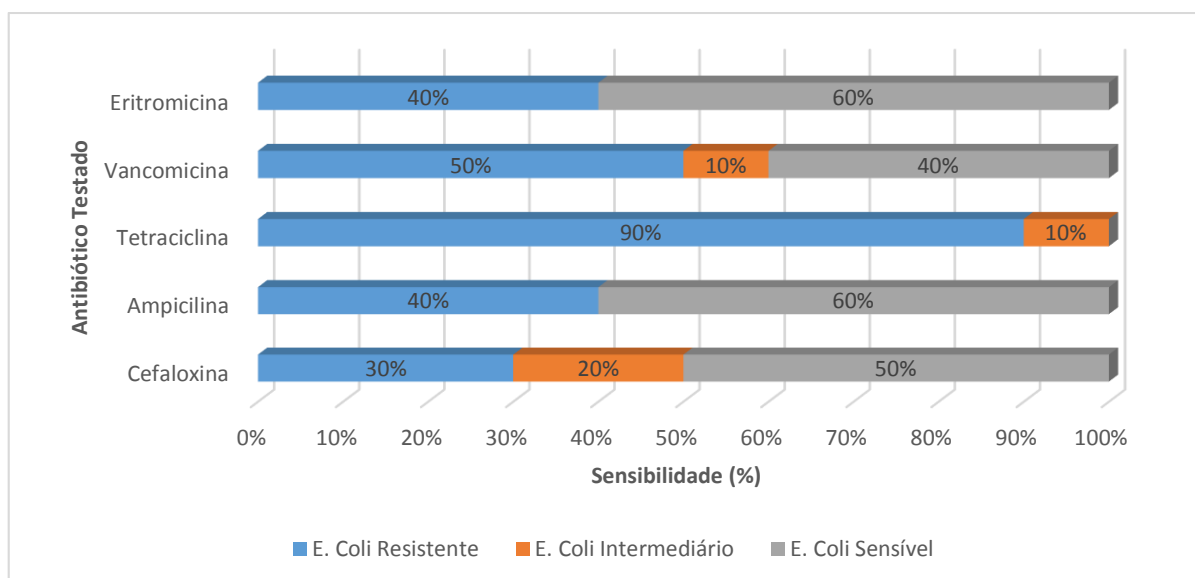


Figura 34 – Perfil de sensibilidade a antibióticos dos isolados de *Escherichia coli*.

Fonte: Autoria Própria.

A Eritromicina testada para a espécie de *Escherichia coli*, para esta droga específica 40% dos isolados se mostraram resistentes (E3, E5, E8 e E9) enquanto, os restantes demonstraram-se sensíveis a esta droga antimicrobiana (E1, E2, E4, E6, E7, E10). Outro antibiótico testado foi Vancomicina, para esta droga o comportamento bacteriano foi de 50%

resistente (E1, E4, E8, E9 e E10), intermediário para 10% dos isolados (E2) e 40% sensíveis (E3, E5, E6 e E7).

Para os isolados de *Escherichia coli* também foi testada a Tetraciclina, esta droga teve o efeito menos eficiente entre todas as outras testadas para esta espécie, sendo 90% resistente (E2, E3, E4, E5, E6, E7, E8, E9 e E10) e somente 10% dos isolados considerados como intermediário (E1), mostrando que este tipo de antibiótico não seria adequado em caso de tratamento para estes isolados testados.

Como nos isolados de *Acinetobacter spp.* a Ampicilina também foi testada, tendo como resultado 4 isolados como resistentes (representando 40% - E3, E7, E8 e E10) e 60% dos isolados como sensíveis (E1, E2, E4, E5, E6, E9). No caso dos testes em que foi utilizada a Cefaloxina como antimicrobiano foi obtido o resultado de 3 isolados como resistentes (30% - E1, E4 e E9), 2 isolados como intermediários (20% - E2 e E7) e 5 isolados como sensíveis (50% - E3, E5, E6, E8 e E10).

O caso mais aparente de não efetividade dos antibióticos utilizados pôde ser constatado para essa espécie de bactéria, quando os isolados foram testados para os antibióticos mais utilizados nos EAS, pois 100% (E1, E2, E3, E4, E5, E6, E7, E8, E9 e E10) demonstraram resistência a pelo menos duas drogas antimicrobianas, o que pode demonstrar multirresistência para essas drogas testadas.

Wanjugi e Harwood (2013) destacam o papel das bactérias indicadoras de contaminação fecal (grupo coliformes – sendo a *Escherichia* sua principal representante), pois estão diretamente relacionadas a qualidade da água e alertam acerca do risco da presença de bactérias patogênicas, além de demonstrar possíveis resistências ou aumento das mesmas em espécies nativas ou mesmo correlatas por meios de troca de genes de patogenicidade. (U.S. EPA, 2006)

5.2.2.1.3 Teste de Sensibilidade a Antibióticos para *Klebsiella pneumoniae*.

Para a espécie *Klebsiella pneumoniae* os resultados dos testes de sensibilidade são apresentado na Figura 35.

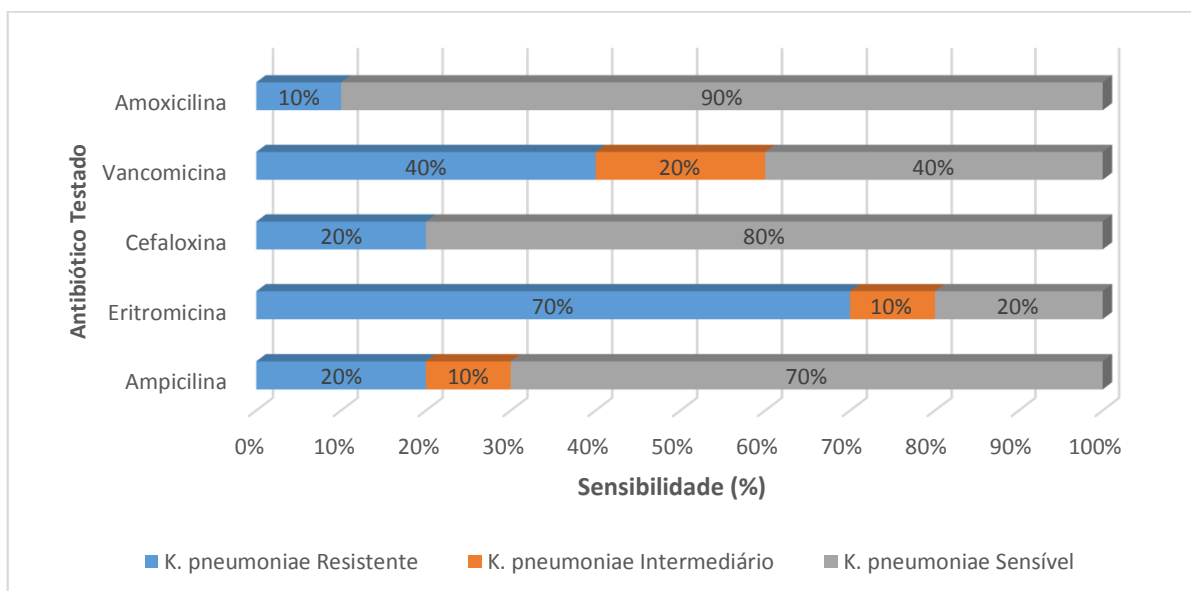


Figura 35 – Perfil de sensibilidade a antibióticos dos isolados de *Klebsiella pneumoniae*.
Fonte: Autoria Própria.

Para os isolados testados com Amoxicilina, obteve-se como comportamento a sensibilidade em 9 isolados (K1, K3, K4, K5, K6, K7, K8, K9 e K10) e comportamento de resistência para 10% dos isolados (K2). Resultado próximo foi obtido quando se testou o antibiótico Cefaloxina, com 20% deles resistentes a esse antibiótico (K2 e K5) e 80% (K1, K3, K4, K6, K7, K8, K9 e K10) sensível.

Quando colocados em contato com Vancomicina o comportamento mostrou-se diferente, tendo 40% dos isolados (K2, K5, K7 e K9) resistentes, 20% intermediários (K1 e K6) e 40% dos isolados sensíveis a este antibiótico (K3, K4, K8 e K10).

Os isolados de *Klebsiella pneumoniae*, apresentaram resistência para 70% dos isolados que tiveram contato com Eritromicina (K1, K4, K5, K7, K8, K9 e K10), 10% dos isolados foram classificados como intermediários (K2) e 2 isolados apresentaram sensibilidade, representando 20% (K3 e K6). Para essa espécie específica os antibióticos que podem ser considerados mais eficientes são a Amoxicilina e a Cefaloxina, devido a alta sensibilidade dos isolados testados a essa drogas.

5.2.2.1.4 Teste de Sensibilidade a Antibióticos para *Pseudomonas aeruginosa*.

A espécie *Pseudomonas aeruginosa*, é considerada pela Organização Mundial de Saúde (2014), como uma bactéria ambiental, com potencial de patogenicidade, porém após

análise dos registros específicos da ANVISA (2014 – Datasus) pode-se verificar que essa espécie é uma das mais responsáveis pelas infecções intra e extra hospitalar no país.

Com grande incidência no ambiente em geral e nativa no solo, esta bactéria tem grande potencial de crescimento e permanência em ambientes abertos e fechados. Ao testar-se os antibióticos mais utilizados para seu tratamento clínico (Figura 36), podemos verificar que em contato com Vancomicina, essa espécie desenvolve-se em 60% dos testes realizados (P3, P4, P7, P8, P9 e P10) sendo resistente a esta droga, resistência intermediária para 10% dos testes (P1) e sensibilidade para 30% dos isolados testados (P2, P5 e P6).

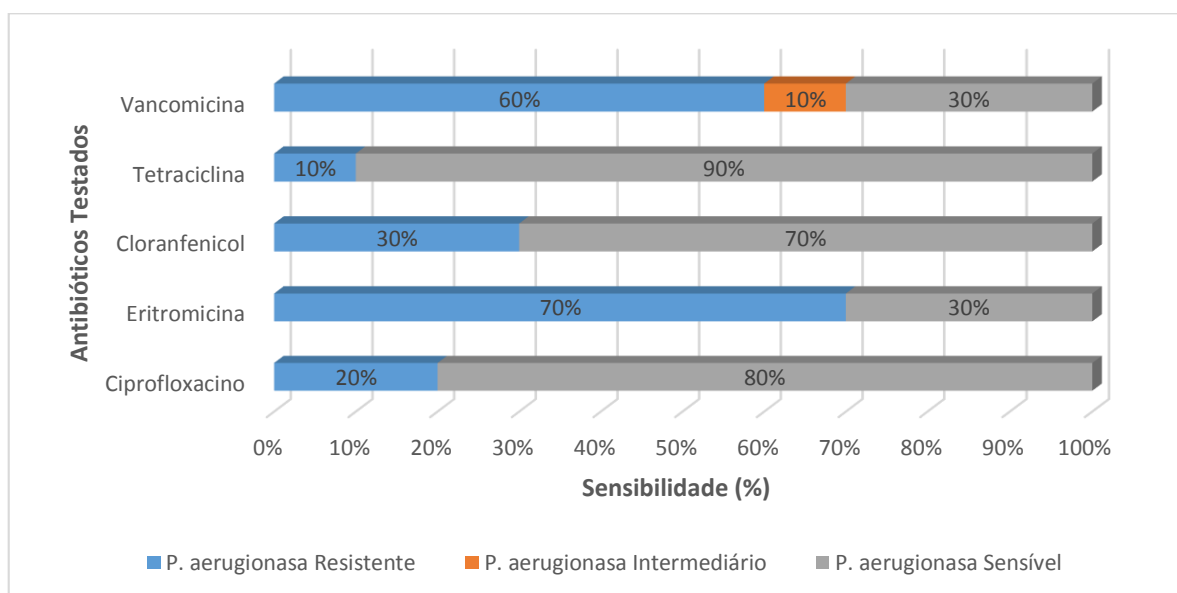


Figura 36 - Perfil de sensibilidade a antibióticos dos isolados de *Pseudomonas aeruginosa*.

Fonte: Autoria própria

A menor resposta de resistência dos isolados ocorreu em contato com Tetraciclina, apresentando somente 10% com resistência (P1) e sensibilidade para 90% dos isolados testados (P2, P3, P4, P5, P6, P7, P8, P9 e P10). Em contrapartida quando os isolados foram colocados em contato com Eritromicina, apresentaram resistência após o teste em 70% dos casos (P1, P3, P4, P7, P8, P9 e P10) e sensibilidade em somente 3 isolados (30% - P2, P5 e P6).

Em contato com Cloranfenicol os isolados demonstraram 30% de resistência nos testes (P6, P9 e P10) e sensibilidade em 70% dos casos (P1, P2, P3, P4, P5, P7 e P8). Uma situação parecida aconteceu quando os isolados foram colocados em contato com Ciprofloxacino, descrevendo resistência em 20% dos casos (P7 e P8) e não crescimento em 80% dos casos demonstrando a sensibilidade dos isolados (P1, P2, P3, P4, P5, P6, P9 e P10).

Pode-se também apontar que os isolados que apresentaram resistência a mais de um antibiótico são 80% dos estudados nestes testes especificamente (P1, P3, P4, P5, P7, P8, P9

e P10), nota-se também que o isolado P6, não mostrou resistência a nenhuma das drogas testadas.

Mesmo possuindo dois antibióticos (Tetraciclina e Ciprofloxacino) com ação efetivas em relação aos isolados testados, pode-se notar também que duas drogas Eritromicina e Vancomicina, demonstraram-se inefetivas para tratar essa espécie específica.

5.2.2.1.5 Teste de Sensibilidade a Antibióticos para *Staphylococcus aureus*.

A espécie *Staphylococcus aureus* classificada pela OMS (2014) como nativa da boca e pele. Os resultados de sensibilidade aos antibióticos testados para esta espécie pode ser visualizada na Figura 37.

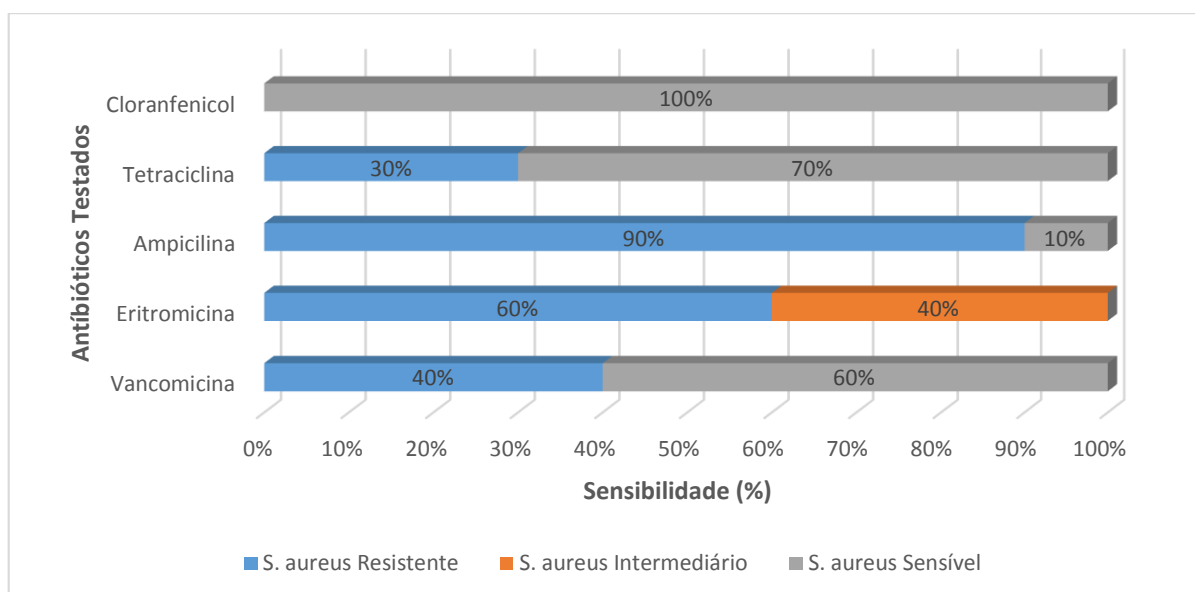


Figura 37 - Perfil de Sensibilidade a Antibióticos dos Isolados de *Staphylococcus aureus*.

Fonte: Autoria própria

Os isolados de *Staphylococcus aureus* testados em contato com Cloranfenicol demonstraram 100% de sensibilidade. Porém quando colocados em contato com Ampicilina, os mesmos isolados apresentaram 90% de resistência a este antibacteriano (S1, S3, S4, S5, S6, S7, S8, S9 e S10), enquanto 10% dos isolados foram sensíveis ao antibiótico (S2).

Em contato com Eritromicina, os isolados demonstraram 60% de resistência (S2, S4, S6, S7, S8 e S9), diferentemente dos isolados em contato com Cloranfenicol, estes restantes (40% - S1, S3, S5 e S10) em contato com a Eritromicina demonstraram-se com resistência intermediária.

Quando testados seu contato com Tetraciclina, os isolados demonstraram resistência em 30% dos casos (S1, S7 e S9) e sensibilidade em 70% dos casos restantes (S2, S3, S4, S5, S6, S8 e S10). Com resposta próxima, os isolados em contato com Vancomicina, demonstraram sensibilidade em 60% dos testes (S1, S6, S7, S8, S9 e S10) e resistência em 40% dos isolados em contato com o antibiótico (S2, S3, S4 e S5).

Duas situações são evidentes quando se analisa os resultados encontrados para os isolados de *Staphylococcus aureus*, a primeira situação é encontrar um antibiótico – Cloranfenicol - com eficiência máxima no tratamento dos isolados, o que não ocorreu em nenhum outro teste realizado neste trabalho. E a segunda é a ineficiência quase completa para dois antibióticos testados – Ampicilina e Eritromicina – nos direcionando a uma possível necessidade de modificação dos antibióticos para o tratamento desta espécie de bactéria.

5.2.2.1.5 Análise do Conjunto de Resultados sobre Sensibilidade a Antibióticos.

Antibióticos de amplo espectro como a Ampicilina, indicados para tratamento de infecções sem exame minucioso de sua efetividade e real indicação para a bactéria específica, tem aumentado o contato dos microrganismos a este tipo de droga (HAUSER, 2010). O que pode aumentar em caso desse amplo contato a resistência a mesma, como evidenciado nos resultados para as bactérias específicas testadas dos gênero e/ou espécies *Acinetobacter spp.* e *Staphylococcus aureus*, que descreveram alta resistência a esse antibiótico.

Resultados que comprovam essa resistência relatadas acima, quanto ao gênero *Acinetobacter spp.*, também foram constatados por outros autores, Corbella et. al. (1998), Levin et. al. (2002), Smoliakov et. al. (2003), Betrosian et. al. (2008), Lin et. al (2015) e Penwell (2015). Assim como os resultados obtidos para a espécie *Staphylococcus aureus*, Gentilini et. al.(2000); Zhao et. al.(2001); LEMAIRE et. al. (2005); Hiramatsu, et. al. (1997); Joung et. Al. (2015); Li et. al. (2015).

O quadro de resistência é diferente quando foram testados os isolados em contato com tetraciclina, sendo considerados como sensíveis os isolados de *Acinetobacter spp.*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*, enquanto os isolados de *Escherichia coli*, foram considerados como resistentes a essa droga em 90% dos casos. Confirmado os resultados dos trabalhos de Novak et. al. (2001), Vieira et. al. (2008), Schneider et. al. (2009), Pereira-Maia (2010), Oliveira (2010) e Nespolo (2014).

A sensibilidade dos isolados testados em contato com Vancomicina, (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*) tiveram equilíbrio entre sensibilidade e resistência, obtendo equivalência entre os resultados demonstrando possível modificação de sensibilidade para resistência à essa droga. Outros autores também em seus estudos descreveram esse comportamento, entre eles Noble et. al. (1992); Hiramatsu (1998), Chambers et. al. (2003); Sapnu (2012); Vidailac (2012); Vardakas (2013) e Sutterlin (2014).

As outras drogas foram testadas conforme especificação ANVISA (2012), e obtiveram resultados de sensibilidade para seus isolados específicos, porém demonstrando em alguns dos casos sensibilidade total somente a essa medicação e não a outras testadas conforme resultados já descritos.

A Tabela 14, apresenta um resumo com os antibióticos testados e suas porcentagens de sensibilidade conforme (CLSI, 2013).

Tabela 14 - Tabela com a porcentagem de isolados testados sensíveis, intermediários e resistentes aos antibióticos testados, para cada espécie.

	Acinetobacter spp.			Escherichia coli		
	Resistente	Intermediário	Sensível	Resistente	Intermediário	Sensível
Amoxicilina	80%	0%	20%			
Ampicilina				40%	0%	60%
Cefaloxina				30%	20%	50%
Ciprofloxacino	20%	10%	70%			
Cloranfenicol						
Doxiciclina	20%	10%	70%			
Eritromicina				40%	0%	60%
Gentamicina	10%	0%	90%			
Tetraciclina	10%	10%	80%	90%	10%	0%
Vancomicina				50%	10%	40%
	Klebsiella pneumoniae			Pseudomonas aeruginosa		
	Resistente	Intermediário	Sensível	Resistente	Intermediário	Sensível
Amoxicilina	10%	0%	90%			
Ampicilina	20%	10%	70%			
Cefaloxina	20%	0%	80%			
Ciprofloxacino				20%	0%	80%
Cloranfenicol				30%	0%	70%
Doxiciclina						
Eritromicina	70%	10%	20%	70%	0%	30%
Gentamicina						
Tetraciclina				10%	0%	90%
Vancomicina	40%	20%	40%	60%	10%	30%
	Staphylococcus aureus					
	Resistente	Intermediário	Sensível			
Amoxicilina						
Ampicilina	90%	0%	10%			
Cefaloxina						
Ciprofloxacino						
Cloranfenicol	100%	0%	0%			
Doxiciclina						
Eritromicina	60%	40%	0%			
Gentamicina						
Tetraciclina	30%	0%	70%			
Vancomicina	40%	0%	60%			

Fonte: Autoria Própria

5.2.2.2 Teste de Sensibilidade a Desinfetantes

5.2.2.2.1 Teste de Sensibilidade a Hipoclorito de Sódio.

Os isolados quando testados utilizando como meio de diluição a água estéril e o desinfetante hipoclorito de sódio, exibiram padrões de resposta diferente (Figura 38).

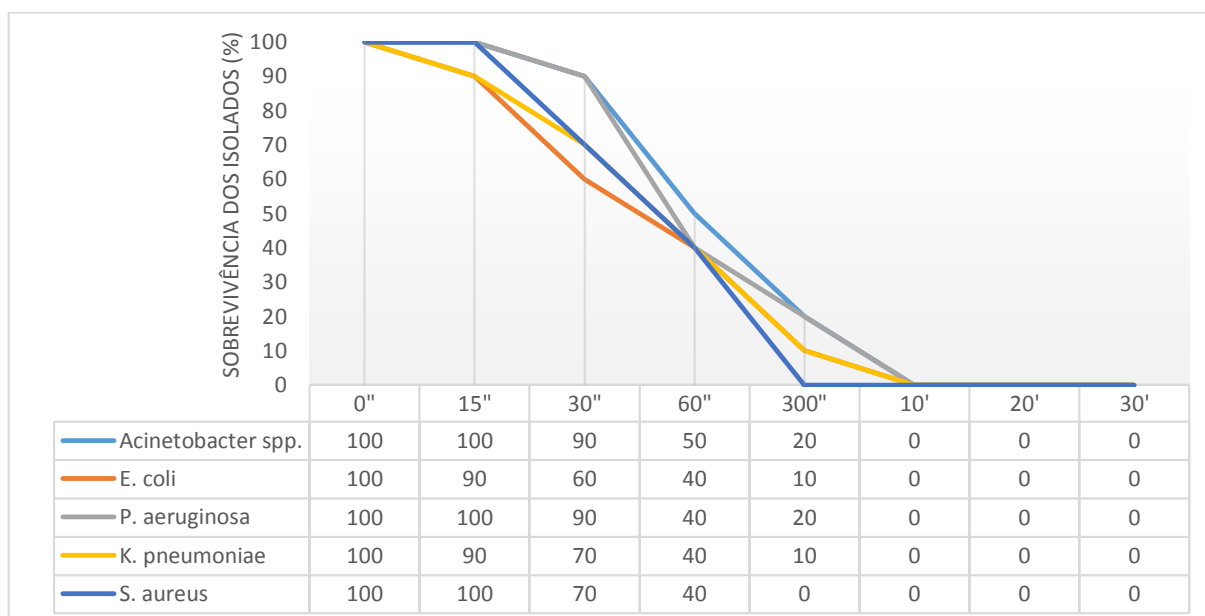


Figura 38 – Isolados bacterianos testados em contato com hipoclorito de sódio diluídos em água estéril.
Fonte: Autoria própria

Os isolados de *Acinetobacter spp.* em contato com o desinfetante em estudo continuaram crescendo até 15", descrevendo início de decaimento de sobrevivência após o período de 30" em contato com o desinfetante, chegando a inativação completa após ter transcorrido o período de 300" de contato. Os isolados descritos como A1, A3 e A9, foram os últimos a serem inativados. A mesma resposta inicial foi constatada com a espécie *Pseudomonas aeruginosa*, que permaneceu sem inativação no transcorrer de 15", a inativação inicia-se após o período de contato de 30", sendo considerada completa a inativação dos isolados após 10' de contato, onde P3 e P10, foram os últimos isolados a serem inativados.

Repetindo-se o teste os isolados da espécie *Staphylococcus aureus*, descreveram o mesmo comportamento inicial para os isolados dos gêneros e/ou espécies, anteriormente citados, mantendo crescimento sem alteração após o período de 15" e descrevendo decaimento após o período de 30" sendo inativados completamente, também no período de 10', porém cinco isolados permaneceram ativo até esse período S2, S5, S6, S7 e S8.

As bactérias do grupo coliformes estudadas (*Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae*) apresentaram comportamento diferente aos outros isolados estudados, pois ocorreram inativações no período inicial de 15” em 20% para os dois isolados. Porém a inativação completa das duas espécies foram notadas no decorrer de 10’.

Pôde-se notar que para o Hipoclorito de Sódio diluído em água estéril, o período máximo para inativação completa de todos os isolados em contato foi de 10’, mantendo-se sem crescimento até o final do período de teste.

Ao serem testados quanto a sua sensibilidade a hipoclorito de sódio diluídos em Solução TSB Hospital os isolados bacterianos demonstraram resultados conforme descritos na Figura 39.

Assim como no teste e sensibilidade a desinfetantes com diluição em água estéril, após o período de 15”, os isolados de *Klebsiella pneumoniae*, demonstraram inativação, porém, para essa espécie em específico foi verificado dois pontos de estagnação na inativação, o primeiro ocorreu entre os tempos de 30” a 60” e o segundo no período de contato entre, 300” e 10’. Descrevendo queda somente no transcorrer do período de 10’ a 20’. Outro fator que foi constatado após o termino do teste, foi que mesmo em contato com o hipoclorito de sódio nessa diluição 20% dos isolados testados demonstraram resistência após o período de 30’ (K1 e K7) mantendo-se ativos.

Os isolados de *Escherichia coli*, ao contrário de sua resposta no teste realizado com diluição em água estéril, demonstrou inativação somente após o período de 15”, assim como os isolados de *Klebsiella pneumoniae*, foi possível verificar estagnação na inativação, no período de 60” a 300”, também pode-se verificar a mesma porcentagem de permanência ativa os isolados dessa espécie 20% após o termino do experimento (E3 e E8).

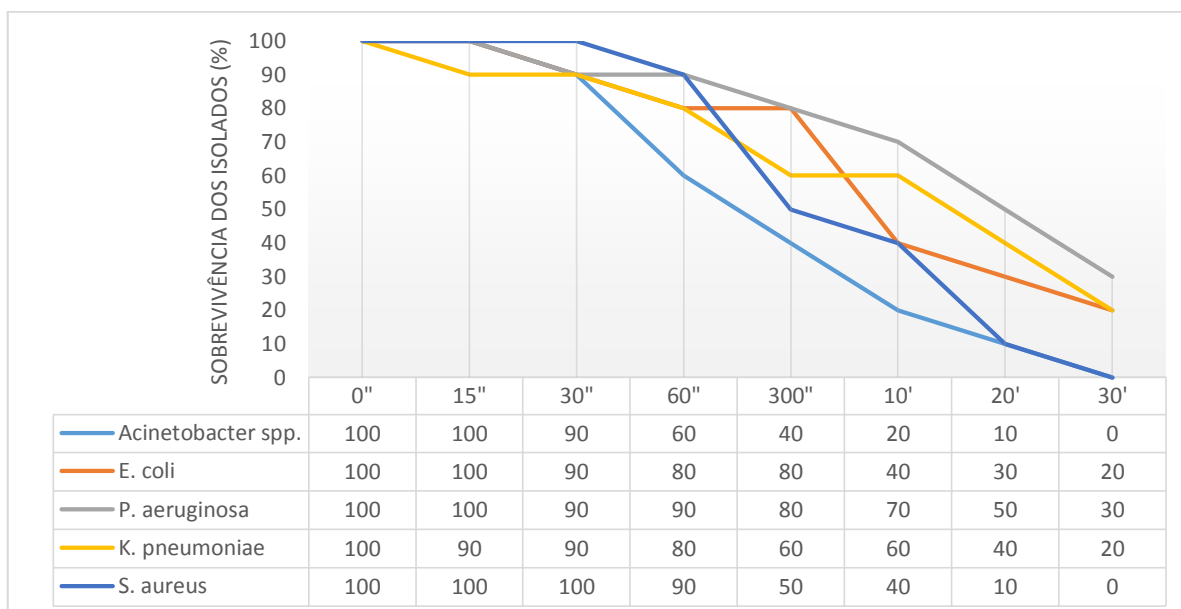


Figura 39 - Isolados bacterianos testados em contato com hipoclorito de sódio diluído em solução TSB Hospital.

Fonte: Autoria própria

Os isolados de *Pseudomonas aeruginosa*, também não descreveram decaimento nessas mesmas condições até o período de 15", entre o período de tempo do teste de 30" a 60" também pode ser visualizado um período de estagnação no processo de inativação dos isolados dessa espécie, ao término do teste de sensibilidade 40% dos isolados foram considerados como ainda ativos sem inativação de seu crescimento (P2, P7, P8 e P10).

Os isolados de *Acinetobacter spp.*, assim como os isolados de *Pseudomonas* demonstraram início da inativação para esse teste específico após 15" de contato, ocorrendo decaimento em todos os períodos do experimento, porém com inativação completa após o período de 30'. O mesmo pôde ser observado com os isolados de *Staphylococcus aureus*, que após o período de contato de 30', com o desinfetante nessa diluição específica, foram considerados inativos totalmente. Porém essa mesma espécie demonstrou o maior período de resistência ao início do teste de sensibilidade, havendo decaimento nos períodos iniciais de contato, somente após 30".

Quando testados os isolados bacterianos em contato com hipoclorito de sódio dissolvido em solução TSB Saída da ETE, podemos verificar modificações mais significativas na inativação (Figura 40).

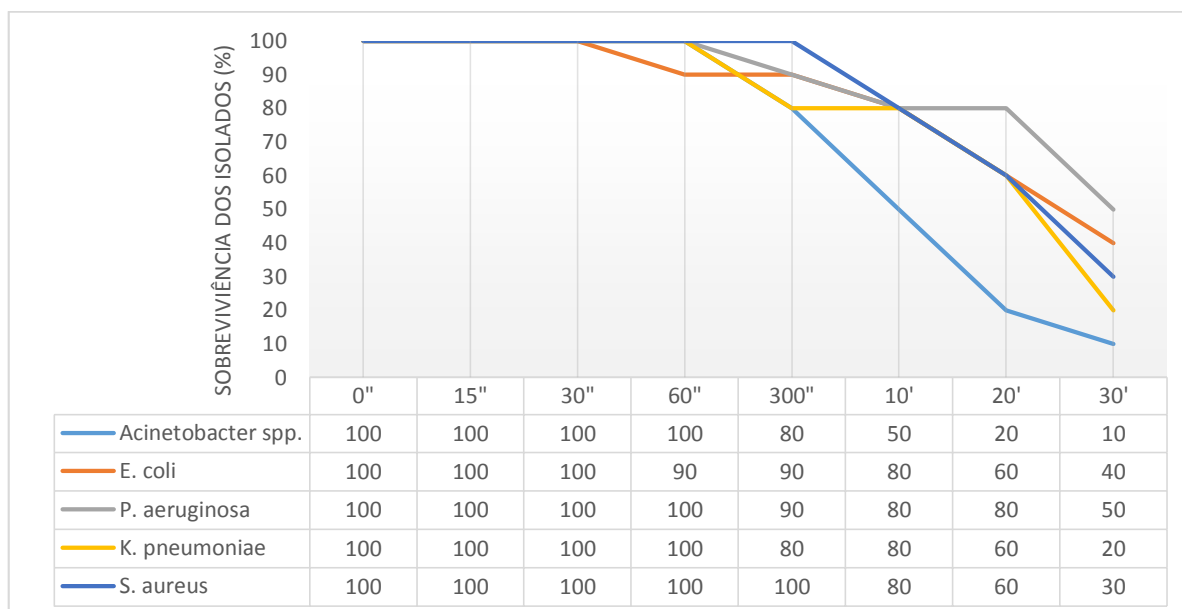


Figura 40 - Isolados bacterianos testados em contato com hipoclorito de sódio diluídos TSB Saída.
Fonte: Autoria própria

Os primeiros isolados a serem inativados em contato com o hipoclorito de sódio nessa diluição foram os da espécie *Escherichia coli*, inativação essa que iniciou-se passados 30" de contato, além desse início relativamente tardio em comparação às outras diluições, pode-se notar que no período de 60" a 300" a inativação foi considerada estagnada descrevendo queda ao término desse período. Ao término do experimento notou-se que 50% dos isolados ainda mantiveram-se ativos (E1, E3, E7, E8 e E10).

O comportamento dos isolados da espécie *Klebsiella pneumoniae*, demonstraram inativação em tempo posterior aos isolados da espécie *Escherichia coli*, sendo notado inativação somente após o período de contato de 60", notou-se também um período de estagnação na inativação dos isolados entre os tempos de 300" e 10'. Ao final do experimento porém apenas 20% dos isolados foram considerados ainda ativos (K1 e K7).

Mesmo a inativação dos isolados da espécie *Pseudomonas aeruginosa*, acontecer após o período de 60" de contato, a estagnação de inativação ocorreu entre os tempos de 10' e 20', continuando o decaimento de isolados ativos após este período, porém ao final do período de contato (30') 50% dos isolados ainda foram considerados como ativos (P3, P4, P6, P7 e P9), a menor eficiência do desinfetante para o experimento proposto.

Os isolados do gênero *Acinetobacter spp.* tiveram seu início de inativação também no período de 60", porém esse gênero não descreveu qualquer estagnação, no processo de inativação mantendo-se linear até o período de 20' onde a eficiência do desinfetante

demonstrou-se menos efetiva, chegando ao término do experimento com somente 10% dos isolados do gênero considerados como ativos (A7).

5.2.2.2.2 Teste de Sensibilidade a Cloreto Benzalcônico

Quando os mesmos isolados bacterianos foram colocados em contato com cloreto benzalcônico diluído em água estéril, conforme metodologia, foi possível visualizar os seguintes padrões de resposta (Figura 41).

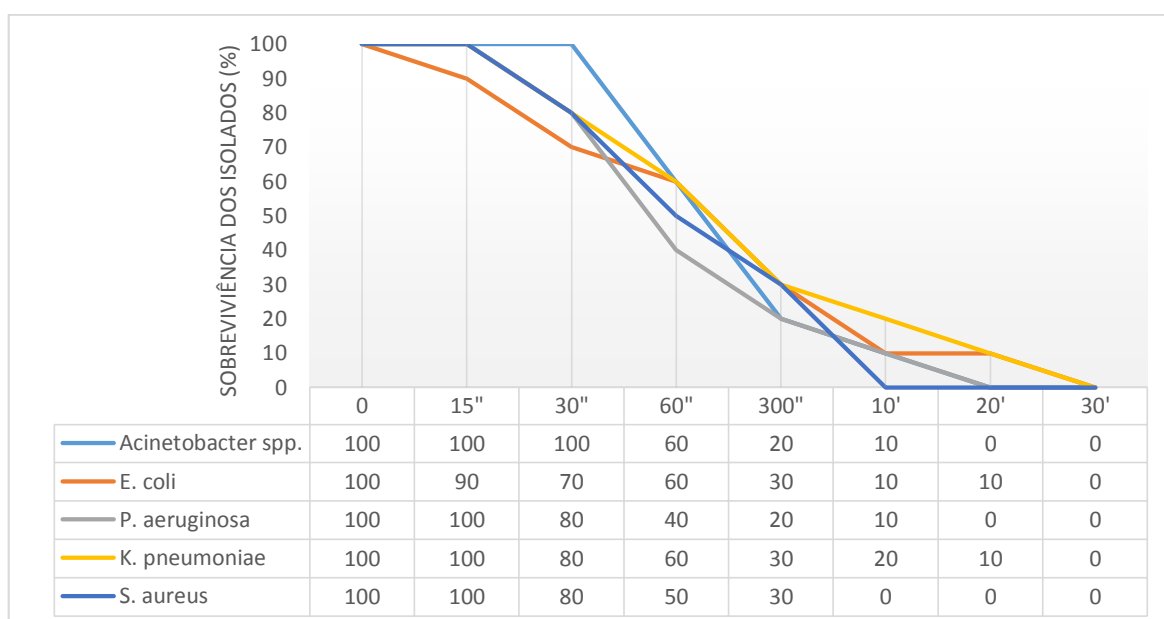


Figura 41 - Isolados bacterianos testados em contato com cloreto benzalcônico diluídos em água estéril.
Fonte: Autoria própria

Os isolados de *Acinetobacter spp.* em contato com o cloreto benzalcônico diluído em água estéril, continuaram crescendo sem qualquer alteração, após o período de 30" de contato iniciou-se as inativações e após o período de 20' todos os isolados foram considerados inativos.

Ao serem testados os isolados de *Escherichia coli*, a inativação dos isolados já foi notada após o período de contato de 15" porém a inativação total de crescimento foi constatada apenas após o período de 30' de contato. Esse comportamento também pode ser constatado para os isolados de *Klebsiella pneumoniae* descrevendo inativação inicial após o período de 15" e inativação total após o período de 30'.

Quando colocados em contato com o cloreto benzalcônico em diluição de água estéril, os isolados de *Pseudomonas aeruginosa*, iniciaram sua inativação após o período de contato de 30'' permanecendo em decréscimo de isolados ativos até o tempo de 20', quando todos os isolados não demonstraram mais crescimento e foram considerados como totalmente inativos.

A fase inicial de inativação dos isolados da espécie *Staphylococcus aureus*, iniciou-se a partir do período de contato de 15'' mantendo-se linear e contínuo sem alterações até o período de 10' de contato quando todos os isolados testados foram considerados como inativos.

Quanto os mesmos isolados foram testados quanto a sua sensibilidade a Cloreto Benzalcônico diluídos em caldo TSB – Hospital, os mesmos exibiram o comportamento conforme Figura 42.

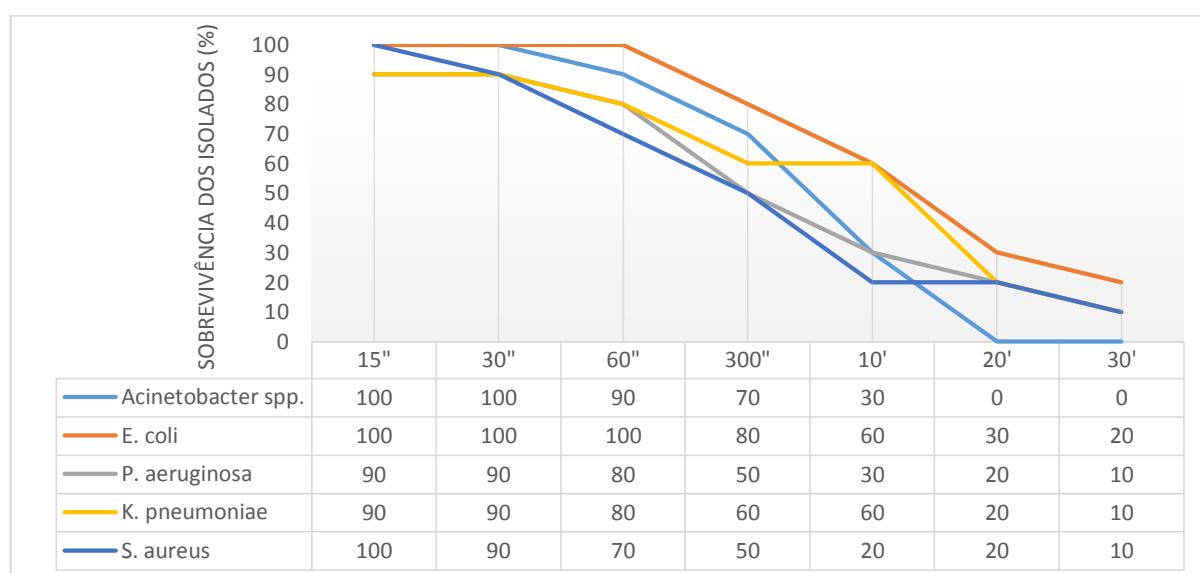


Figura 42 - Isolados bacterianos testados em contato com cloreto benzalcônico diluído em caldo TSB - Hospital

Fonte: Autoria própria

Analisando o comportamento obtido para os isolados de *Acinetobacter spp.*, foi constatado que até o período de 30'' não ocorreu inativação desses isolados, observando-se decaimento somente após o período de contato de 60'', com inativação completa dos isolados no período de contato de 20.

Os isolados de *Escherichia coli* testados nas mesmas condições demonstraram-se resistentes a este desinfetantes na diluição especificada até o período de 60'' de contato, porém após o período final do teste de contato com o desinfetante (30') 20% dos isolados ainda

mantiveram-se ativos (E4 e E10) demonstrando possível ineficiência para estes isolados nesta diluição específica.

Os resultados para os isolados de *Klebsiella pneumoniae*, são específicos quanto a este tipo de diluição, pois em contato após 15" esses demonstram inativação inicial, mantendo-se sem acréscimo de inativação até o período de contato de 30", voltando a serem inativados até o período final o teste, porém após 30', 10% dos isolados ainda foram considerados ativos (K4).

Assim como os isolados de *Klebsiella pneumoniae*, os isolados de *Pseudomonas aeruginosa* descreveram decréscimo de crescimento após 15" de contato, e manteve-se sem alteração no tempo de 30", ao final do teste de sensibilidade, 10% dos isolados foram considerados ativos e com possível resistência a este tipo de desinfetante com essa diluição específica (P3).

Quando submetidos aos mesmos testes, os isolados de *Staphylococcus aureus*, permaneceram sem constatação de inativos até o período de 15", após o período de 30", 10% dos isolados foram considerados inativos, ao término do teste, 10% dos isolados foram considerados resistentes (S8).

Ao serem testados os mesmos isolados bacterianos em contato com cloreto benzalcônico dissolvido em caldo TSB – Saída da ETE, pôde-se verificar o comportamento de inativação dos mesmos conforme Figura 43.

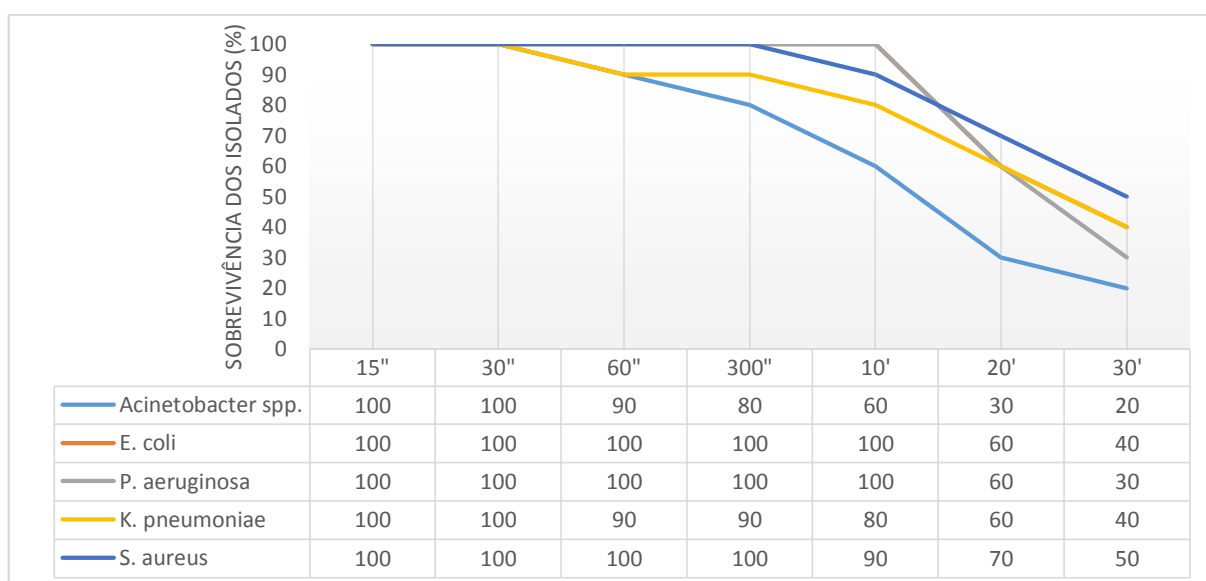


Figura 43 - Isolados bacterianos testados em contato com cloreto benzalcônico diluídos caldo TSB - Saída da ETE.

Fonte: Autoria própria

Verifica-se após analisar-se a Figura 43, que a resposta de crescimento e permanência de isolados ativos é maior. Quando analisados os isolados de *Acinetobacter spp.* pôde ser verificado que no período de contato com o desinfetante diluído em caldo TSB-Saída da ETE, a inativação dos isolados iniciou-se somente após 60”, e que ao finalizar o período de contato estabelecido para o teste (30’), foi possível verificar a permanência de 20% dos isolados do gênero em estudo ativos (A1 e A4).

Os isolados de *Escherichia coli*, descreveram resistência ao desinfetante nessa diluição específica, até o período de 10’, notou-se também que após o período de 30’, 50% dos isolados dessa espécie não foram inativados e que os isolados E1, E3, E4, E9 e E10, continuaram ativos.

Quando testados os isolados da espécie *Klebsiella pneumoniae*, foi constatado que até período de tempo de contato de 30” não ocorreram inativação, sendo possível constatar seu início somente após o período de contato de 60”, transcorridos 30’ máximos para o contato com o desinfetante, os isolados considerados como ativos totalizaram 40% dos isolados testados para essa espécie K4, K6, K7 e K9.

Assim como os isolados de *Escherichia coli* testados, os isolados da espécie *Pseudomonas aeruginosa*, tiveram resistência a cloreto benzalcônico na diluição proposta até o período de 10’ de contato, sendo verificado após o período de 30’ que os isolados considerados como resistentes totalizaram 40% do total testado (P1, P2, P5 e P8).

Os isolados de *Staphylococcus aureus*, testados demonstraram resistência até o período de contato de 300”, após o período de 10’ iniciou-se a inativação por contato dos mesmos, ao término do período do experimento, 60% dos isolados testados (S1, S4, S6, S7, S8 e S10) foram considerados como resistentes, permanecendo ativos.

5.2.2.2.3 Teste de Sensibilidade a Peróxido de Hidrogênio

Quando colocados em contato com o desinfetante Peróxido de Hidrogênio diluído em água estéril, os mesmos isolados indicaram os seguintes resultados (Figura 44).

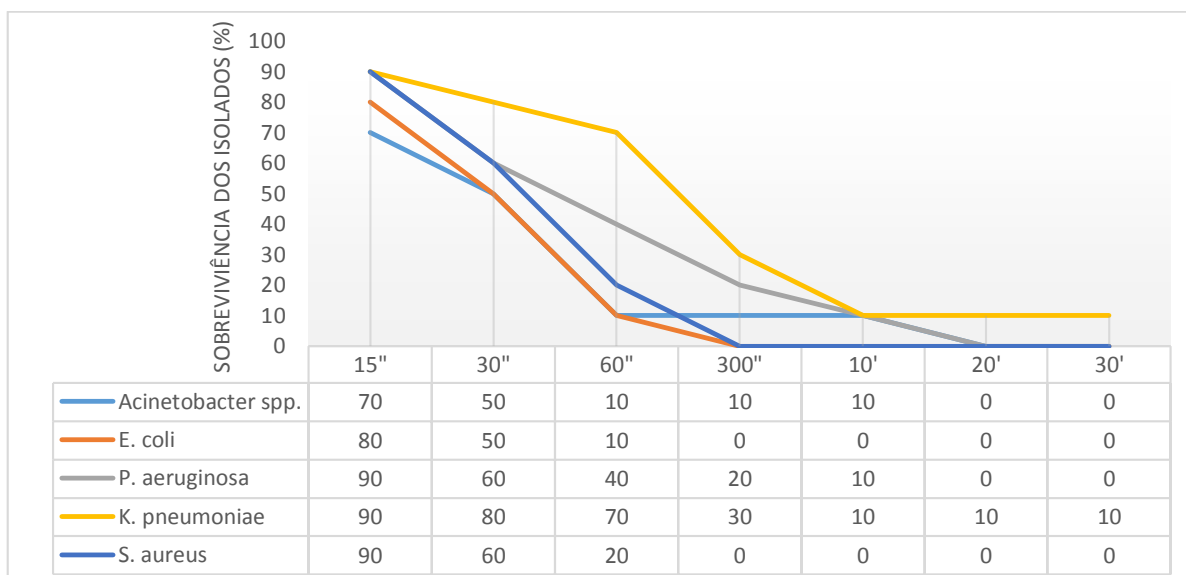


Figura 44 - - Isolados bacterianos testados em contato com peróxido de hidrogênio diluído em Água Estéril.
Fonte: Autoria própria

Em contato com o peróxido de hidrogênio no período de 15'', iniciou-se a inativação dos isolados do gênero *Acinetobacter spp.*, notou-se também um período de estagnação na inativação dos isolados que iniciou-se no tempo de contato de 60'' e com término no período de 10' porém após o período de 20' de contato 100% dos isolados foram considerados inativos.

A eficiência do desinfetante diluído em água estéril também é considerada alta para os isolados da espécie *Escherichia coli*, que no período de contato 15'' indicou inativação inicial de 20%, a inativação mantém-se alta até o período de 300'' onde todos os isolados da espécie foram considerados como inativos.

Os isolados de *Klebsiella pneumoniae*, em contato com o desinfetante em diluição especificada, apresentou após 15'' inativação em 10%, mantendo boa inativação durante todo o período do teste de sensibilidade, porém deve-se salientar que 10% (K7) dos isolados foram considerados resistentes ao desinfetante na diluição em água estéril, pois mantiveram-se ativos após o período máximo de análise para o teste de 30'.

Ao manter em contato os isolados de *Pseudomonas aeruginosa*, nas mesmas condições e diluição anterior, obteve-se start de inativação após o período de contato de 15'', mantendo-se linear a inativação até o tempo de 20', período este em que todos os isolados foram considerados inativos.

Assim como nos isolados de *Escherichia coli*, quando mantidos em contato com o desinfetante na diluição específica os isolados de *Staphylococcus aureus*, após o tempo de

contato de 15'' foram iniciaram seu processo de inativação e após o período de 300'' todos os isolados foram considerados inativos.

Conforme metodologia, os mesmos isolados dos gêneros/espécies foco deste foram colocados em contato com o desinfetante peróxido de hidrogênio diluído em solução TSB - Hospital, tendo resposta a este contato indicada na Figura 45.

Onde descreve a resposta dos isolados do gênero *Acinetobacter spp.*, em contato com o desinfetante na diluição especificada, que após o período de contato de 15'', já tem 20% considerados como inativos e que após 20' totaliza a inativação dos isolados testados.

Após o contato dos isolados de *Escherichia coli* com o desinfetante em diluição descrita, o início de inativação para o mesmo é de 30'' de contato mantendo a inativação em crescimento até o período de 20', quando todos os isolados dessa espécie foram considerados como inativos.

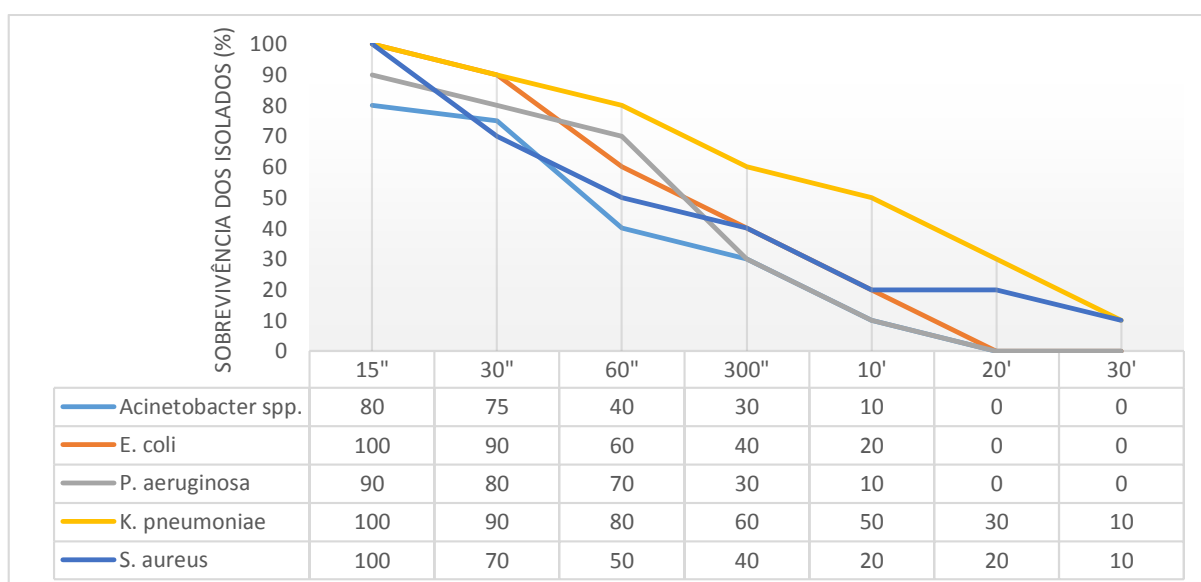


Figura 45 - Isolados bacterianos testados em contato com peróxido de hidrogênio diluído em caldo TSB-Hospital

Fonte: Autoria própria

A espécie *Klebsiella pneumoniae*, demonstra maior resistência ao desinfetante na diluição definida, com inativação dos isolados apenas após 30'' de contato e após o período máximo para o teste de sensibilidade 10% dos isolados dessa espécie foi considerado como ativo (K6) e resistente nas condições especificadas.

Os isolados de *Pseudomonas aeruginosa*, após o contato de 15", com o desinfetante específico demonstrou início de inativação e após o período de contato de 20' todos os isolados foram considerados como inativos.

Somente após o transcorrer de 30" é que iniciou-se a inativação dos isolados de *Stapylococcus aureus*, após o período de tempo de 10' pôde-se notar estagnação no processo de inativação desses isolados porém, após o período final de contato com o desinfetante 10% dos isolados foram considerados como ativos (S8).

A descrição dos resultados para contato entre os isolados e solução de peróxido de hidrogênio, em diluição com solução TSB-Saída da ETE, pode ser visualizada na Figura 46.

Pôde ser constatado após os testes de contato com o desinfetante, que transcorrido o período de 15" a inativação dos isolados do gênero *Acinetobacter spp* teve seu início totalizando 20% (A2 e A8), essa quantidade de isolados inativos foi considerada como estável não havendo aumento de inativação após o período de 30". Após esse período de estagnação e chegando-se ao final do teste de sensibilidade a este desinfetante 10% dos isolados ainda mantiveram-se ativos (A4).

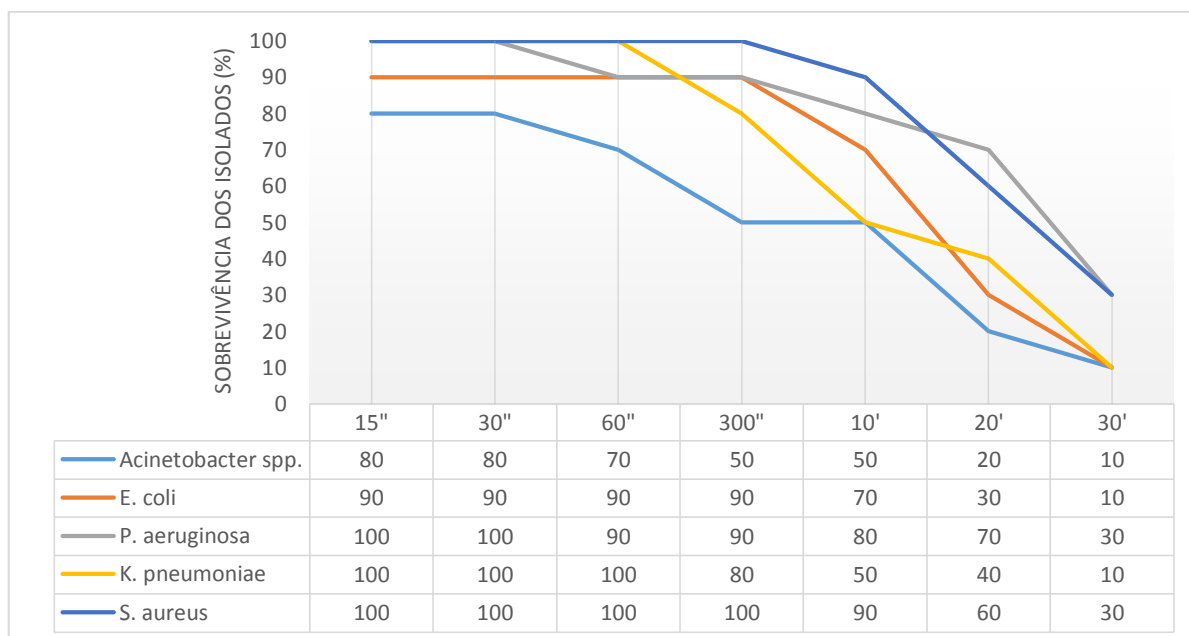


Figura 46 - Isolados bacterianos testados em contato com peróxido de hidrogênio diluído em caldo TSB - Saída da ETE.

Fonte: Autoria própria

Testando-se os isolados de *Escherichia coli*, nas mesmas condições, pode-se verificar que 10% deles foram considerados inativos após 15" de contato, mantendo essa mesma porcentagem de inativação até o tempo de contato de 10', descrevendo um período de inatividade de inativação por contato, porém ao chegar-se ao término do teste de sensibilidade, 10% dos isolados foram considerados como resistente (E8).

Os isolados da espécie *Klebsiella pneumoniae* testados não tiveram resultado de inativação até o período de 60", apontando isolados inativos apenas após 300" de contato e após o período de 30', 10% dos isolados foram considerados como resistentes ao desinfetante na diluição relatada (K4).

Em contato com o desinfetante os isolados de *Pseudomonas aeruginosa*, foram considerados como 100% resistente até o período de contato de 60" após este período 10% dos mesmos foram considerados como inativos (P3), sendo mantido essa porcentagem de inativação até o período de contato de 300", após essa estagnação na inativação dos mesmos, os isolados foram sendo inativados até o período de tempo de 30', quando foram considerados como resistentes ao desinfetante na diluição específica 20% dos isolados dessa espécie em estudo (P2 e P9).

Os isolados de *Staphylococcus aureus*, também demonstraram resistência de 100% ao contato com peróxido de hidrogênio nessa diluição, até o período de 300", demonstrando após o período de contato de 10', 10% de inativação de seu total (S4), após o tempo máximo utilizado para esse teste específico, 30% dos isolados dessa espécie foram considerados como resistentes ao desinfetante (S2, S9 e S6).

5.2.2.2.4 Análise do Conjunto de Resultados quanto a Sensibilidade a Desinfetantes.

Mesmo sendo destacada pela literatura científica e organizações de proteção ambiental como a última etapa e de real importância para o tratamento de esgoto, uma vez que a inativação de microrganismos pode promover a diminuição da seleção e transcrição de bactérias multirresistente, essa barreira ainda é um problema sistêmico nas plantas de tratamento de esgoto atualmente no Brasil (CAMPOS,1993; BITTON, 2010; USEPA, 2006; DANIEL, 2001, GONÇALVES, 2003 e DIAS, 2011).

Segundo Campos (1993), Von Sperling (2011) e Dias (2011), a desinfecção de esgotos sanitários deve ser estudada para cada caso em particular, uma vez que os mecanismos de desinfecção por desinfetantes são complexos e dependem das propriedades físico-químicas do desinfetante, da natureza do microrganismo e das características do esgoto a ser desinfetado.

Nota-se ao utilizar-se do hipoclorito de sódio, como desinfetante, em larga escala como em todo mundo, que mesmo sendo eficiente para os organismos de referência para legislação (CONAMA 430/2011), em água estéril, em contato com os outros microrganismos

estudados neste trabalho, pode-se visualizar queda de rendimento em sua inativação em caso de existência de sólidos suspensos.

As bactérias classificadas como ambientais pela OMS (2014) tem maior resistência a esse desinfetante, principalmente os isolados de *Pseudomonas aeruginosa* testados. Além desse agravante, existem dois outros que devem ser levados em consideração, como por exemplo a formação de subprodutos que podem influenciar no equilíbrio da biota presente no corpo receptor e o tempo de exposição a este desinfetante, que para alguns microrganismos pode ser maior que 20' tornando inviável o tratamento, devido a altos custos (Baldry et. al. 1991, Souza et. al., 2005 e Dias et. al. 2011).

Diante dessa problemática, a utilização de desinfetantes alternativos quanto ao tratamento de esgoto, pode ser uma alternativa, porém quando testados em contato com o cloreto benzalcônico e peróxido de hidrogênio, pode-se visualizar o mesmo comportamento, de bom tratamento em água estéril, porém diminuição dessa eficiência em solução contendo sólidos suspensos.

Notadamente a eficiência de desinfecção dos isolados em contato com o cloreto benzalcônico é menor que a ocorrida em contato com o cloro. Em diluições com sólidos, a eficiência é considerada como a menor dos desinfetantes testados, não inativando por completo nenhum dos gêneros/espécies testados, quando colocados em contato com diluições de concentração de sólidos suspensos simulando o esgoto da saída da ETE.

O Peróxido de hidrogênio é o desinfetante com maior velocidade de inativação para todos os isolados testados, mas também como os outros desinfetantes, quando lançado em contato com concentrações de sólidos tem sua eficiência reduzida, porém com mais eficiência que os outros desinfetantes testados.

5.2.2.3 Teste de Sensibilidade a Radiação Ultravioleta

5.2.2.3.1 Teste de Sensibilidade a Radiação Ultravioleta de Isolados em Solução Estéril

Após aplicação dos dados levantados e quantificação especificada na metodologia desenvolveu-se a curva de referência para a eficiência do aparato utilizando-se como meio de diluição solução estéril (Figura 47a).

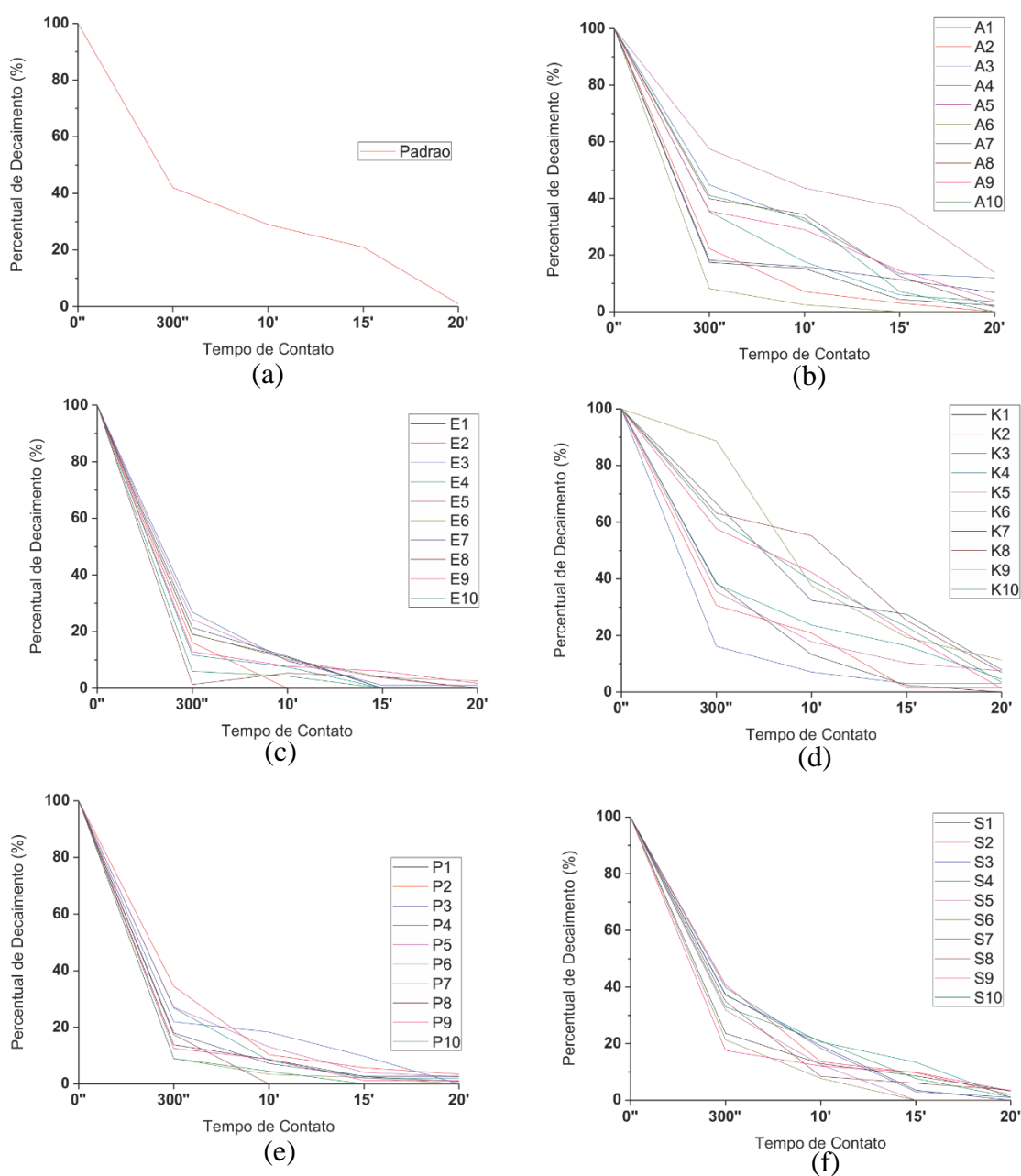


Figura 47 – Curva padrão e de percentual de decaimento para os isolados diluídos em solução estéril em contato com radiação ultravioleta pelo tempo. (a) Curva Padrão (Referência); (b) Isolados de *Acinetobacter spp.* (c) Isolados de *Escherichia coli*. (d) Isolados de *Klebsiella pneumoniae*. (e) Isolados de *Pseudomonas aeruginosa* (f) Isolados de *Staphylococcus aureus*.

Fonte: Autoria própria

Conforme descrito ao desenvolver-se curva de referência para padronização, nota-se que a quantificação de UFC.mL^{-1} no tempo $0''$, padrão para o teste nesta diluição é de $3,7 \times 10^5 \text{ UFC.mL}^{-1}$, após o período de $300''$ de contato com a radiação a curva de referência indica possível eficiência do aparato em 72% indicando queda de $2,66 \times 10^6 \text{ UFC.mL}^{-1}$, e valor residual ainda no equipamento de $1,04 \times 10^5 \text{ UFC.mL}^{-1}$. Após o transcorrer de $10'$ de contato

com a radiação UV, e eficiência prevista para o aparato nessa diluição é de 85%, prevendo um residual em quantificação de 6.5×10^4 UFC.mL⁻¹, a eficiência prevista para o período de 15' de contato é considerada pequena em comparação ao período de contato anterior, descrita como 89% em seu total, chegando-se ao residual em UFC.mL⁻¹ de $4,07 \times 10^4$, após 20' de contato nota-se eficiência de 97% de remoção indicando residual de $1,11 \times 10^4$ UFC.mL⁻¹.

Quando testados quanto a inativação por contato com a radiação UV, os isolados já submetidos a outros testes de sensibilidade relatados do gênero *Acinetobacte spp.*, descreveram comportamento anômalo ao descrito como padrão quando diluídos em água estéril (Figura 47b).

Após o período de contato com a radiação UV por 300", 40% isolados demonstraram inativação acima do indicado pela curva de referência estabelecida A1, A2, A6 e A7, com porcentagem de inativação de 82,6%, 77,8%, 91,9% e 81,8% respectivamente, enquanto o restante A3, A4, A5, A8, A9 e A10, demonstraram decaimento menor do que o indicado na curva de referência, 55,2%, 64,7%, 42,5%, 60,2%, 64,5% e 58,9%.

Após o período de 10' de contato, 30% dos isolados testados mantem-se com inativação superior a curva de eficiência padrão, A1, A2 e A6 com 84,8%, 92,9% e 97,6% respectivamente, enquanto o isolado A7, demonstra decaimento menor que o indicado como padrão em 84,1%. Enquanto os outros isolados tiveram aumento de eficiência no tratamento, de 12,7% para o isolado A3, totalizando assim 67,9% de eficiência durante este tempo de contato, em relação ao isolado A4, notou-se acréscimo de eficiência de 17,7%, o maior aumento percentual para os isolados que estão abaixo do padrão de tratamento, totalizando 82,4% de eficiência.

Outro isolado que apresentou relativo crescimento foi o isolado A5, com aumento percentual de eficiência de 13,8%, descrevendo em seu total, eficiência até 10' de 56,3%, porém com menor eficiência total de todos os isolados estudados para esse gênero. Os isolados A8, A9 e A10, descreveram aumento de 5,4%, 6,6% e 8,1% em seus testes de sensibilidade, totalizando 65,6%, 71,1% e 67,0% para o período da análise.

No decorrer do tempo de 15' de contato com a radiação, pôde ser verificado que 70% dos testes desenvolvidos com os isolados estudados, estavam em regularidade com a curva de referência estabelecida matematicamente (A1 – 95,7%, A2-97,0%, A3-89,9%, A4-94,1%, A6-100%, A7-89,7% e A10-92,9%) enquanto 30% dos isolados testados demonstraram-se resistentes ao tratamento especificado, mantendo-se abaixo do especificado na curva de referência A5-63,2%, A8-87,5% e A9-85,5%).

Após o período máximo para o teste de sensibilidade a radiação UV, apenas 30% dos isolado podem ser considerados como não enquadrados no percentual esperado para tratamento de 97% de eficiência A3-88,1%, A5-86,2% e A7-93,2%, os demais estão em conformidade com a curva de referência, notando-se inativação total nos isolados A2, A6 e A10, para a diluição específica.

Quando testadas nas mesmas condições os isolados da espécie *Escherichia coli* demonstraram-se menos resistentes à radiação ultravioleta, descrevendo resultados próximos ou mesmo superiores aos descritos na curva de referência (Figura 47c).

No transcorrer de 300” de contato com a radiação ultravioleta, todos os isolados tiveram inativação superior a 73%, acima do estimado para o período de contato, após 10’ de contato com a radiação notou-se aumento de efetividade no tratamento, também acima do descrito na curva de referência, com mínimo de 88,8% e apresentando um dos isolados com 100% de tratamento neste período de tempo (E2), após o período de 15’ os isolados continuam em situação de aumento quanto a inativação com mínimo de 94% sendo considerados como completamente inativos os isolados (E1, E2, E4, E7 e E10), nota-se também que após o período máximo de contato com a radiação apenas 3 isolados demonstraram crescimento (E3, E6 e E9), com eficiência do tratamento acima de 97% (E3-98,9%, E6-97,4% e E9-98,3%).

Assim como os isolados de *Escherichia coli*, os isolados da espécie *Pseudomonas aeruginosa*, também descreveram resultados acima do padrão estabelecido para o teste nesta diluição – Figura 47d.

A radiação demonstra-se como efetiva para contato com os isolados após o período de 300”, onde todos os resultados descritos estão acima da curva de referência, descrevendo eficiência de tratamento acima de 72%, o mesmo acontece após o contato de 10’, sendo mantida eficiência de tratamento acima da determinada pela curva de referência, com mínimo de 86,9% com exceção da eficiência testada no isolado P3, menor neste período de contato com a radiação ultravioleta totalizando 81,7% onde o esperado seria acima de 85%, nota-se também que o isolado P8 é considerado como inativo após este período de tempo transcorrido. Porém, após tempo de contato de 15’ o tratamento é considerado como eficiente para os isolados estudados, mantendo-se acima do previsto na curva de referência, mantendo-se acima de 94,3% nota-se também a inativação do isolado P10 neste período de contato além do isolado P8 já inativado no período anterior. Após o transcorrer de 20’ de contato o tratamento mantém-se acima do esperado com porcentagem acima de 97%, chegando a inativação total dos isolados P3, P6, P8 e P10.

Diferentemente dos dois isolados descritos anteriormente, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*, os isolados da espécie *Klebsiella pneumoniae* descreveram comportamento diferente ao manter-se em contato com a radiação UV em diluição de água estéril – Figura 47e.

Apenas para o isolado K3 o tratamento foi considerado como eficiente neste período de contato, acima de 83,8% de eficiência enquanto que para os outros isolados o tratamento foi considerado com eficiência baixa em relação à curva de referência estabelecida para o experimento. Nota-se eficiência abaixo de 50% para os isolados K6-11.4%, K7-33.3%, K8-36.8%, K9-42.3% e K10-38.5%, deve ser salientado que o isolado K6 possui a menor efetividade para este tratamento em diluição de todos os isolados testados nessas condições. As eficiências neste período de tempo acima de 50% estão descritas nos isolados K1-61,4%, K2-69,4%, K4- 61,8% e K5-64,5%.

Ao ser transcorrido o período de 10' de contato com radiação UV, o tratamento é considerado dentro dos especificado como padrão somente para o isolado K3, onde descreve eficiência de 92,9%. Nota-se aumento relativo na eficiência referente aos outros isolados porém o tratamento é considerado como abaixo do padrão para o período de contato em todos os testes realizados, nota-se aumento de 19,3% para o isolado K1 com total para o período de 84,7%, o aumento para o isolado K2 de 9,8%, com total menor para o período 79,2%.

Os menores aumentos de eficiência são descritos para os isolados K3 e K8, 9,1% e 8,0% respectivamente, totalizando para o isolado K8 eficiência de 44.8% menor eficiência para o período de tempo deste isolado. O tratamento demonstrou para o isolado K4, assim como os isolados K5 e K9 relativos aumentos em eficiência 14,6%, 17,7% e 15,4% respectivamente (totalizando K4-76,4%, K5-82,2% e K9-57,7%). Outros isolados que demonstraram ser mais susceptíveis à radiação neste período de tempo foram os isolados K6, K7 e K10, com aumento de eficiência maior neste período de tempo, 57,1%, 34,3% e 22,2% respectivamente, deve-se salientar o grande aumento de eficiência para o isolado K6 no período de tempo específico, porém os outros isolados (K7 e K10) não foram inativados com tanta eficiência conforme pode ser verificado em seus respectivamente totais 62,5%, 67,6% e 30,7%.

A eficiência de tratamento para o período de tempo de 15' continua em aumento relativo, sendo considerados como enquadrados no padrão os isolados K1, K2, K3 e K5 com eficiência acima de 89% (97,6%, 98,6%, 97,0% e 89,7%) respectivamente. Embora ainda abaixo do especificado na curva de referência para o tratamento, os demais tratamentos tiveram seu desempenho relativo acima de 72% para os outros isolados estudados (K4-83,6%, K6-80,7%, K7-72,5%, K8-74,7%, K9-79,5% e K10-76.9%).

Duas situações específicas quanto ao tratamento dos isolados de *Klebsiella pneumoniae*, devem ser relatados após o período de 20' de contato com a radiação UV, sendo a primeira a total inativação dos isolados K1, após este período transcorrido de tempo e a estagnação na eficiência de tratamento para o isolado K3, que manteve-se em 97%. Outros isolados também considerados como dentro dos padrões de tratamento propostos são K2, K5, K9 e K10 totalizando, para os isolados 98,6%, 97,2%, 98,6% e 96,6% respectivamente. Enquanto os isolados K4, K5, K6, K7 e K8, mantiveram-se abaixo do padrão estabelecido para a eficiência de tratamento, totalizando respectivamente, 95,5%, 92,5%, 88,6%, 92,2% e 93,1% no final do teste de sensibilidade.

Apresentou-se a sensibilidade quanto a radiação UV dos isolados de *Staphylococcus aureus*, demonstrou-se diferente dos outros testes realizados anteriormente, Figura 47f. Isto deve-se à eficiência abaixo do padrão especificado nos primeiros 300" de contato dos isolados a radiação UV, onde 70% dos testes realizados estão com eficiência abaixo do especificado (S2, S3, S4, S5, S7, S8, S10) e com uma margem de diferença entre a eficiência dos testes específicos entre 59,2% e 68,2% (S2-59,2%, S3-60,2%, S4-62,9%, S5-68,2%, S7-62,7%, S8-65,1% e S10-67,0%).

Porém, após transcorrer o período de 10', a eficiência do teste de sensibilidade, demonstrou maior efetividade, quando 6 testes demonstraram resultados acima do padrão estabelecido, S1-87,1%, S2-86,4%, S5-87,5%, S8-91,6% e S9-87,9%, enquanto os testes referentes aos isolados que ficaram abaixo do padrão especificado, ficaram próximos da Curva de Referência não distante de um resultado considerado como satisfatório, S3-81,6%, S4-79,4%, S7-80,7% e S10-79,1%.

Após o período de contato 15', o teste torna-se mais eficiente sendo considerado abaixo do padrão especificado apenas para um isolado bacteriano específico (S4-86,6%) e com efetividade máxima de inativação para 2 isolados S5 e S6. Outro fator importante a ser salientado é que os testes referentes aos outros isolados quando colocados em contato com a radiação no decorrer deste período específico apresentaram efetividade de inativação acima de 90% (S1-91,4%, S2-90,3%, S3-96,9%, S7-96,4%, S8-94%, S9-90,1% e S10-92,3%).

Aos 20' de contato, todos os testes de sensibilidade estão em conformidade com o padrão estimado, nota-se o aumento de 1 teste com efetividade de inativação completa dos isolados a mais que o período anterior (S5, S6 e S7), os testes referentes aos isolados S3 e S4 demonstraram eficiência de 99% de inativação, enquanto os outros testes demonstraram eficiência acima de 96% para os isolados restantes (S1-96,8%, S2-98,1%, S8-96,4%, S9-96,7% e S10-98,9%).

5.2.2.3.2 Teste de Sensibilidade a Radiação Ultravioleta de Isolados em Solução TSB - Hospital

Ao aplicar-se os dados referentes a quantidade específica de bactérias diluídas em solução de caldo TSB – Hospital, conforme metodologia desenvolveu-se a curva de referência para a eficiência nessas condições (Figura 48a).

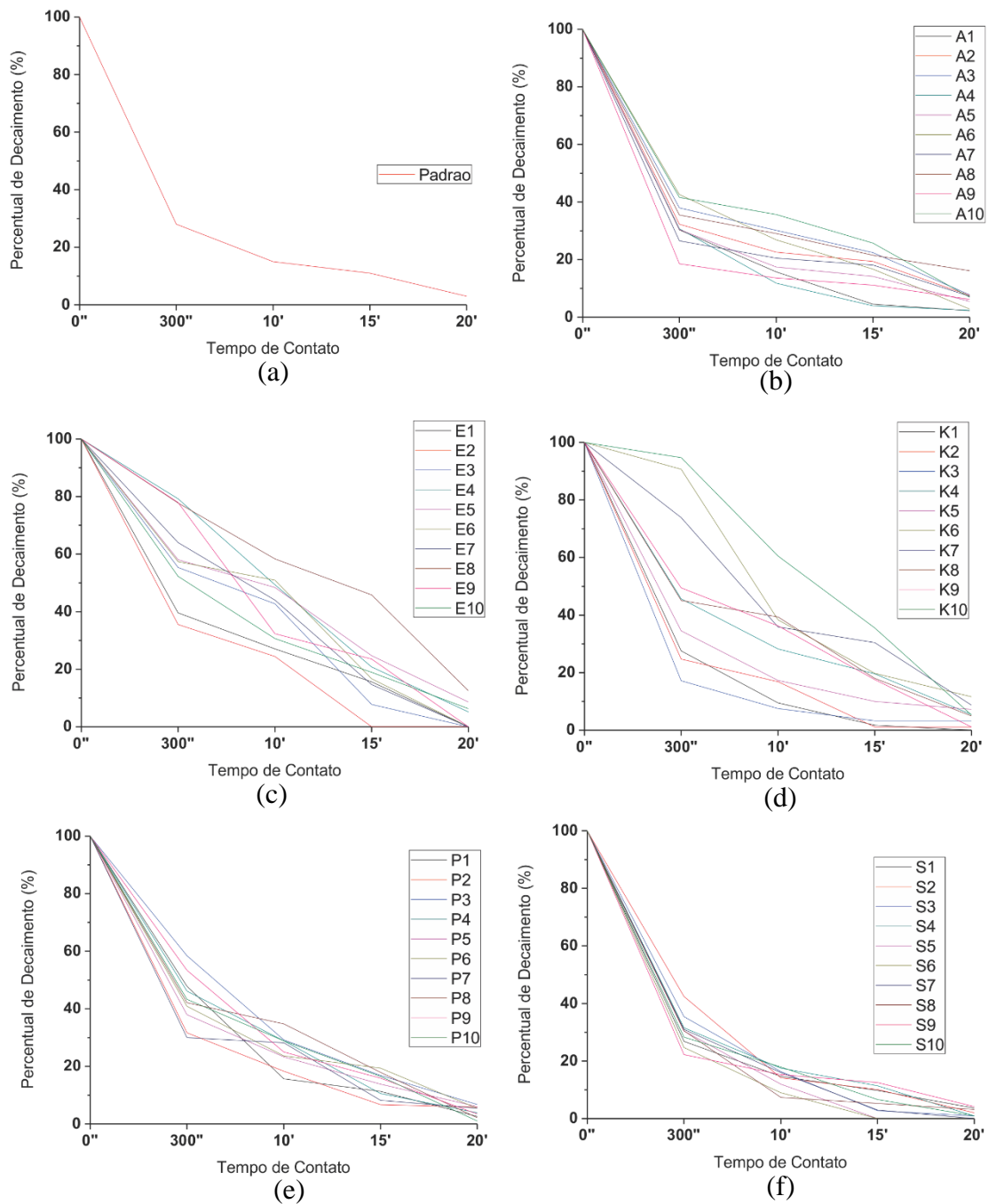


Figura 48 – Curva padrão e de percentual de decaimento para os isolados diluídos em solução TSB Hospital em contato com radiação ultravioleta pelo tempo. (a) Curva Padrão (Referência); (b) Isolados de *Acinetobacter* spp. (c) Isolados de *Escherichia coli*. (d) Isolados de *Klebsiella pneumoniae*. (e) Isolados de *Pseudomonas aeruginosa* (f) Isolados de *Staphylococcus aureus*.

Fonte: Autoria própria

A quantificação de UFC.mL⁻¹ no tempo 0", padrão para o teste nesta diluição é de 3,7x10⁵ UFC.mL⁻¹, nota-se que após o período de 300" de contato com a radiação a curva de referência indica possível eficiência do aparato em 68% indicando queda de 2,5x10⁵ UFC.mL⁻¹, e um valor residual ainda no equipamento de 1.18x10⁵ UFC.mL⁻¹. Após o transcorrer de 10' de contato com a radiação UV, e eficiência prevista para o aparato nessa diluição é de 76%, prevendo um residual em quantificação de 8,8x10⁵ UFC.mL⁻¹, a eficiência prevista para o período de 15' de contato é considerada pequena em comparação ao período de contato anterior, descrita como 82% em seu total, descrevendo residual de UFC.mL⁻¹ de 6,6x10⁵, após 20' de contato nota-se eficiência de 96% de remoção indicando residual de 1,4x10⁴ UFC.mL⁻¹.

Após a realização do teste com os isolados referentes ao gênero *Acinetobacter spp.*, pôde-se verificar conforme Figura 48b, após contato com a radiação UV, pelo período de 300", que 40% dos testes realizados não estão de acordo com o previsto na curva de referência (A3-62,1%, A6-57,4%, A8-64,5% e A10-58,4%), enquanto 60% dos testes enquadraram-se no proposto pela curva de referência calculada (A1-69,7%, A2-68,1%, A4-69,3%, A5-69,6%, A7-73,5% e A9-81,5%) para essa diluição específica.

Após o período de 10' de contato dos isolados com a radiação UV em diluição especificada, pôde-se verificar que os testes realizados com os isolados demonstraram a mesma resposta de inativação mantendo-se os isolados A3, A6, A8 e A10 com menor eficiência para o tratamento realizado (69,8%, 73,1%, 71,0% e 64,4% respectivamente) e com 60% dos isolados considerados como dentro dos padrões especificados pela curva de referência para o período desenvolvido (A1-84,3%, A2-77,4%, A4-88,2%, A5-82,6%, A7-79,5% e A9-86,4%).

Foi possível verificar modificações no comportamento de eficiência de alguns dos testes realizados com os isolados estudados, após o período de contato com a radiação UV de 15', pois os testes realizados com o isolado A2, demonstraram queda abaixo do esperado na curva de referência, totalizando 80,6%, porém a eficiência quando testado o isolado A6, demonstrou crescimento padrão diferentemente do ocorrido nos períodos anteriores, totalizando 83,3%. Para o mesmo período de tempo para o teste, também pôde-se verificar eficiência abaixo do previsto para os isolados A3-77,6%, A8-78,5% e A10-74,3%. O resultado foi positivo para inativação dos isolados A1, A4, A5, A7 e A9 que mantiveram resultado de inativação em conformidade com a curva de referência (95,5%, 96,1%, 85,9%, 82,0% e 89,9% respectivamente).

Mas, foi após o período de contato de 20' que ocorre a eficiência do tratamento por contato com UV na diluição específica, decai em relação a padronização calculada anteriormente, pois apenas 30% dos testes com esses isolados do gênero *Acinetobacter spp.*, se enquadram nessa padronização A1-97,8%, A4-97,6% e A6-97,2% de eficiência, enquanto os outros testes com os isolados A2, A3, A5, A7, A8, A9 e A10, estão abaixo do estabelecido (92,5%, 92,2%, 94,6%, 92,8%, 83,9%, 93,8%, 93,1% respectivamente).

Quando o teste foi realizado com isolados da espécie *Escherichia coli*, diferentemente do teste realizado com diluição em água estéril, durante os períodos de contato de 300" e 10', nenhum dos resultados de tratamento foi considerado como acima ou em equidade com o padronizado na curva já demonstrada anteriormente (Figura 48c).

Conforme descrito anteriormente, pôde-se concluir ao final do período de 300" que nenhum dos testes com os isolados demonstraram eficiência acima de 68% (E1-60,4%, E2-64,4%, E3-44,7%, E4-20,8%, E5-41,9%, E6-42,6%, E7-36,0%, E8-22,2%, E9-22,1% e E10-47,7%). Mesmo havendo crescimento percentual na eficiência de tratamento, após o período de 10' de contato com a radiação UV, todos os testes com os isolados da espécie em estudo, foram considerados abaixo do padrão estabelecido de 76% (E1-72,9%, E2-75,9%, E3-57,3%, E4-50,6%, E5-51,6%, E6-49,1%, E7-56,0%, E8-41,7%, E9-67,6% e E10-69,4%).

Houveram aumentos na eficiência em relação à inativação dos isolados de *Escherichia coli* após o período de 10' porém menores que os estabelecidos na curva de referência para todos os testes realizados (E1-72,9%, E2-75,6%, E3-57,3%, E4-50,6%, E5-51,6%, E6-49,1%, E7-56,0%, E8-41,7%, E9-67,6% e E10-69,4%).

Os resultados modificam-se após o período de 15' de contato, 50% dos testes realizados para esses isolados foram considerados acima do padrão estabelecido, sendo o isolado E2, considerado como inativo após esse período de contato, E1-84,4%, E3-92,2%, E6-83,3% e E7-85,3%, enquanto o restante dos testes foi considerado abaixo da eficiência padrão (E4-79,2%, E5-75,3%, E8-54,2%, E9-76,5% e E10-81,1%).

Após o período e 20' de contato os isolados E1, E2, E3, E6, E7 e E9, foram considerados totalmente inativos, enquanto os 40% restantes dos testes foram considerados abaixo do esperado para o período de contato descrito (E4-94,8%, E5-91,4%, E8-87,5% e E10-93,7%).

Quando testados quanto a inativação em contato com radiação UV, os isolados de *Pseudomonas aeruginosa*s, demonstraram eficiência acima do estabelecido como padrão em apenas 20% dos testes realizados após o período de contato de 300", P2-68,3% e P7-70,0%, enquanto o restante dos testes demonstraram-se abaixo do padrão estabelecido para o período

de tempo de contato (P1-52,2%, P3-41,6%, P4-53,8%, P5-62,1%, P6-59,1%, P8 57,9%, P9-46,6% e P10-56,7%).

No decorrer do período de contato chegando a 10' de contato pôde-se visualizar aumento na eficiência de inativação dos isolados de *Pseudomonas aeruginosas* (Figura 48e), sendo considerados acima do padrão 50% dos testes para o tempo de contato específico (P1-84,3%, P2-81,7%, P5-76,7%, P6-76,3% e P9-75,0%), enquanto o restante dos testes foram considerados abaixo desse padrão (P3-70,8%, P4-71,2%, P7-71,8%, P8-65,3% e P10-71,1%).

Após o tempo de contato de 15', todos os testes para os isolados em análise foram considerados acima do padrão estabelecido de 82% (P1-88,7%, P2-93,3%, P3-83,1%, P4-89,4%, P5-86,2%, P6-82,1%, P7-91,8%, P8-82,2%, P9-84,1% e P10-83,5%). O mesmo acontece quando decorrido o período de 20', mantendo-se acima dos percentuais estabelecidos como padrão de eficiência de 96%.

Quando testados para *Klebsiella pneumoniae*, os mesmos testes demonstraram resultados dispares aos obtidos em todos os demais testes nesta diluição, conforme apresentado na Figura 48d.

Após o período de contato com o desinfetante de 300", foi possível verificar que apenas 30% dos testes com os isolados de *Klebsiella pneumoniae* encontraram-se enquadrados no padrão descrito (K1, K2 e K3), nota-se que os testes desenvolvidos com os isolados K4, K5, K8 e K9, demonstraram inativação próxima ao padrão esperado, porém os testes específicos para os isolados, K6, K7 e K10, foram verificados resultados com baixa eficiência de inativação, 9,3%, 26,1% e 5,3% em relação ao padrão.

Decorrido o período de 10' de contato, pôde-se verificar uma modificação no quadro de enquadramento ao padrão de inativação dos isolados estudados, sendo acrescido aos já verificados com eficiência acima do padrão os testes realizados com o isolado K5, com 82,7% de eficiência, juntamente com os outros isolados considerados como dentro do padrão calculado para a diluição e quantidade de sólidos específica (K1-90,5%, K2-83,1% e K3-92,5%). Enquanto, os 60% restantes dos testes realizados para os isolados dessa bactéria específica, após esse tempo decorrido encontraram-se abaixo da eficiência esperada (K4-71,7%, K6-61,6%, K7, 64,1%, K8-60,7%, K9-63,7% e K10-39,5%).

Transcorrido o período de 15' de contato, os testes para esse isolado em contato com a radiação UV, descreveram enquadramento no padrão de 60%, invertendo a situação de enquadramento no padrão verificado no período anterior de análise, onde os testes para os isolados K1-98,3%, K2-98,9%, K3-96,8%, K5-90,0%, K8-82,0% e K9-82,4%, demonstraram-se dentro do padrão esperado para inativação dos isolados em estudo. O que demonstra melhora

na eficiência com o transcorrer do período de contato, contudo 40% dos testes para essa espécie de bactéria ainda estão abaixo do esperado K4, K6, K7 e K10 totalizando respectivamente 80,4%, 80,2%, 69,6% e 64,5% de eficiência de inativação dos isolados.

Ao chegar-se em 20' de contato, pode-se verificar que os testes para o isolado K1, chegaram a inativação total dos isolados, enquanto os isolados K2 e K3, mesmo mantendo-se acima do esperado com eficiência demonstraram estagnação de inativação para o período. Enquanto os testes desenvolvidos nos isolados K8, K9 e K10, demonstraram-se com eficiência crescente para o período (95,1%, 98,9% e 94,7%, respectivamente).

Enquanto o isolado K5 que encontrava-se acima da padronização diminuiu seu ritmo de crescimento voltando a tornar-se não eficiente quanto esperado totalizando 92,7% de efetividade. Os testes para o restante dos isolados mantiveram-se, com eficiência, abaixo do esperado para o período K4-94,6%, K6-88,4% e K7-91,3%.

Os testes de sensibilidade realizados com os isolados de *Staphylococcus aureus*, obtiveram em termos de eficiência, o melhor desempenho para essa bateria de testes com diluição específica, pois após o período de 300", 20% dos testes foram considerados como abaixo da curva de referência para o contato com a radiação UV (S2-57,6% e S3-64,5%) enquanto o restante dos testes foram considerados para o período de contato acima do padrão estabelecido (S1-73,2%, S4-68,4%, S5-69,6%, S6-75,3%, S7-69,2%, S8-69,5%, S9-77,8% e S10-71,7%), conforme pode ser visualizado na Figura 48f.

Após o período de 10' todos os testes foram considerados como dentro do padrão específico para o teste de sensibilidade a radiação UV, com valor padrão de 76% de eficiência estando todos os resultados entre os valores de 82,1% a 92,6%. O mesmo acontecer para os testes realizados para o tempo de contato de 15' com padrão de eficiência de 82%, portanto com os valores já acima dessa eficiência no período anterior de tempo de contato (valores deste tempo de contato entre 87,5% a 100%), nota-se também que os isolados S5 e S6 foram considerados como inativos.

Em 20' de contato com a radiação UV, 30% dos testes (10% a mais dos testes anteriores) foram considerados como inativos S5, S6 e S7, e com 30% de testes com eficiência acima de 99% de inativação S3, S4 e S10, o restante também tiveram desempenhos superiores aos valores padrão, S1-96,3%, S2-98,0%, S8- 96,8% e S9-95,8%.

5.2.2.3.3 Teste de Sensibilidade a Radiação Ultravioleta de Isolados em Solução TSB – Saída da ETE

Ao aplicar-se os dados referentes a quantidade específica de bactérias diluídas em solução TSB - Saída da ETE, especificada na metodologia, desenvolveu-se a curva de referência de eficiência do aparato para essa solução Figura 49a.

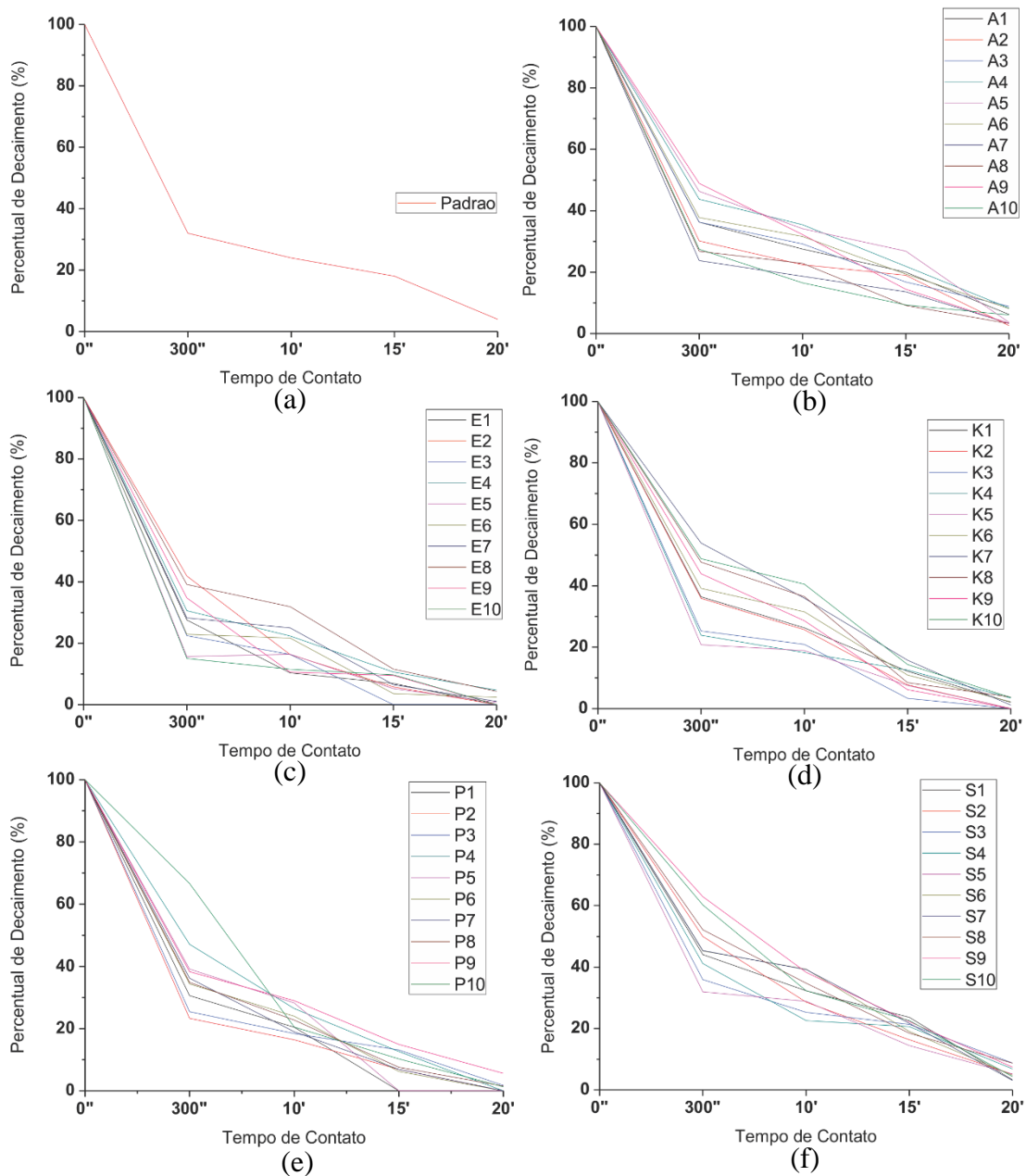


Figura 49 - Curva padrão e de percentual de decaimento para os isolados diluídos em solução TSB Hospital em contato com radiação ultravioleta pelo tempo. (a) Curva Padrão (Referência); (b) Isolados de *Acinetobacter spp.* (c) Isolados de *Escherichia coli.* (d) Isolados de *Klebsiella pneumoniae.* (e) Isolados de *Pseudomonas aeruginosa* (f) Isolados de *Staphylococcus aureus.*

Fonte: Autoria própria

A quantificação de UFC/mL no tempo 0”, padrão para o teste nesta diluição é de $3,7 \times 10^5$ UFC, nota-se que após o período de 300” de contato com a radiação a curva de referência indica possível eficiência do aparato em 58% indicando queda de $2,1 \times 10^5$ UFC/mL, e um valor residual ainda no equipamento de $1,6 \times 10^5$ UFC/mL. Após o transcorrer de 10’ de contato com a radiação UV, e eficiência prevista para o aparato nessa diluição é de 71%, prevendo um residual em quantificação de $1,07 \times 10^5$ UFC/mL, a eficiência prevista para o período de 15’ de contato é considerada pequena em comparação ao período de contato anterior, descrita como 79% em seu total, descrevendo residual de UFC/mL de $7,7 \times 10^4$, após 30’ de contato nota-se eficiência de 89% de remoção indicando residual de $4,07 \times 10^4$.

Os testes realizados com objetivo de verificar a eficiência de tratamento dos isolados do gênero *Acinetobacter spp.* em diluição específica conforme citado anteriormente e na metodologia, chegou a observar que 40% dos experimentos após o período de 300”, demonstraram-se abaixo da curva de referência (A4-56,3%, A5-53,7%, A6-57,4% e A9-51,1%), sendo os outros testes considerados dentro do padrão de eficiência de tratamento estando entre os valores de 63,7% a 76,3% de eficiência (Figura 49b).

Após o período de exposição à radiação UV de 10’, os mesmos testes com isolados anteriormente considerados como abaixo do padrão obtido mantiveram-se abaixo, com aumento de eficiência em relação ao período anterior (A4-64,6%, A5-65,9%, A6-68,4% e A9-67,8%), com o restante dos testes também considerados acima do valor padrão especificado entre 70,8% e 83,5%.

Após o período de 15’ de contato com a radiação UV, todos os testes de sensibilidade foram considerados com eficiência acima do indicado como padrão para o tempo específico (Tabela 15).

Tabela 15 – Porcentagem de eficiência de tratamento por isolados do gênero *Acinetobacter spp.*

Tempo de Contato	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9	A10
15'	80%	81%	83%	78%	73%	81%	86%	91%	86%	91%
20'	94%	97%	91%	92%	96%	92%	97%	97%	97%	94%

Fonte: Autoria própria

Os testes realizados utilizando-se os isolados da espécie *Escherichia coli*, visando relacionar a eficiência de inativação após o período de 300” apresentaram 10% dos resultados como abaixo dos padrões estabelecidos, conforme Figura 49c, onde os isolados E2 demonstraram eficiência de 57,7% após o período de contato, sendo os outros resultados

considerados como dentro do padrão especificado (E1-72,4%, E3-77,6%, E4-69,4%, E5-84,3%, E6-77,1%, E7-71,7%, E8-60,9%, E9-65,3% e E10-85%)

Após o período de 10', todos os resultados de eficiência de tratamento estiveram acima do padrão descrito anteriormente, devendo ser salientado que os resultados referentes ao isolado E3, são considerados como 100% inativos após o período de 15' de contato e os isolados E1, E2, E9 e E10, a partir do período de 20' de contato com a radiação ultravioleta, os demais valores referentes a eficiência de inativação para os outros isolados estão descritos na Tabela 16.

Tabela 16 - Porcentagem de Eficiência de Tratamento por Isolados da Espécie *Escherichia coli*.

Tempo de Contato	E1	E2	E3	E4	E5	E6	E7	E8	E9	E10
10'	89.7%	83.7%	83.7%	77.6%	83.6%	78.3%	75.0%	68.1%	89.5%	88.5%
15'	93.1%	94.2%	100.0%	89.4%	94.8%	96.4%	93.5%	88.4%	90.5%	90.3%
20'	100.0%	100.0%	100.0%	95.3%	99.3%	97.6%	98.9%	95.7%	100.0%	100.0%

Fonte: Autoria própria

Quando testados os isolados de *Pseudomonas aeruginosa* para as mesmas condições deste teste em análise, pôde-se constatar que após o período de 300", a eficiência de 20% dos isolados testados foram considerados abaixo do padrão especificado P4-52,9% e P10-33,3%, sendo o menor índice de tratamento para o tempo de contato especificado (Figura 49e).

Após o teste foi possível notar que os outros isolados foram considerados como acima do padrão especificado com resultados entre 60,9% e 76,7%. Após o período de 10' todos os resultados enquadraram-se no especificado na curva de referência estabelecida matematicamente conforme Tabela 17.

Tabela 17 - Porcentagem de Eficiência de Tratamento por Isolados da Espécie *Pseudomonas aeruginosa*.

Tempo de Contato	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10
10'	79.6%	83.6%	81.6%	73.6%	71.7%	76.0%	81.0%	77.3%	71.0%	79.5%
15'	100.0%	93.1%	86.8%	87.4%	100.0%	93.8%	93.1%	92.4%	85.0%	89.7%
20'	100.0%	100.0%	98.2%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	98.5%	94.4%	98.7%

Fonte: Autoria própria

Deve-se levar em consideração que a partir do período de contato de 15', 20% dos isolados são considerados totalmente inativos (P1 e P5) e que após o período de 20', 60% dos isolados são considerados inativos (P1, P2, P4, P5, P6 e P7) por completo.

O mesmo teste de sensibilidade a radiação UV, foi realizado com isolados de *Klebsiella pneumoniae*, pôde-se constatar após o período de 300” de contato com a radiação UV, que 40% dos testes com esses isolados foram considerados abaixo do percentual indicado em curva de referência (K7-46,1%, K8-52,3%, K9-56,1% e K10-51,2%), enquanto os outros testes referentes aos outros isolados da mesma espécie obtiveram porcentagem de inativação superior ao especificado em curva de referência, ficando entre 60,9% a 79,2% - Figura 49d.

Após o período de contato de 10’, 30% dos testes para os isolados de *Klebsiella pneumoniae*, foram considerados abaixo dos padrões para esse tempo de contato específico (K7-64,0%, K8-63,6% e K10-59,5%), enquanto como, apresentado no período de tempo anterior, o restante demonstra-se acima do valor padrão para inativação por contato com radiação UV, ficando sua eficiência entre 71,5% e 81,8%.

Após o período de 20’ todos os resultados foram considerados dentro do padrão aguardado de efetividade de inativação, porém, isolados considerados inativos por completo só foram constatados após o período de tempo de contato de 20’, totalizando 40% dos testes realizados (K2, K3, K5 e K9), os resultados para os períodos de 15’ e 20’ estão especificados em Tabela 18.

Tabela 18 - Porcentagem de Eficiência de Tratamento por Isolados da Espécie *Klebsiella pneumoniae*.

Tempo de Contato	K1	K2	K3	K4	K5	K6	K7	K8	K9	K10
15'	87.9%	92.3%	96.7%	87.5%	92.5%	89.1%	84.3%	91.6%	93.9%	85.7%
20'	98.0%	100.0%	100.0%	96.6%	100.0%	97.8%	98.9%	96.3%	100.0%	96.4%

Fonte: Autoria própria

Quando testada a eficiência de inativação nas mesmas condições de outros isolados, porém com isolados da espécie *Staphylococcus aureus*, pode-se verificar resultados diferentes em comparação às mesmas condições (Figura 49f).

Pode-se verificar após transcorrido o período de contato de 300” que 30% dos testes com isolados foram considerados com eficiência acima do padrão especificado para o experimento nas condições descritas (S3-64,1%, S4-58,8% e S5-68,0%), enquanto 70% dos outros testes relacionados a isolados da mesma espécie foram considerados com eficiência abaixo do padrão (S1-55,9%, S2-50,0%, S6-54,8%, S7-54,6%, S8-47,8%, S9-37,0% e S10-39,8%).

No transcorrer do período de contato com a radiação, após 10’ foram considerados abaixo do padrão de efetividade de inativação 60% dos testes desenvolvido (S1-67,7%, S6-60,7%, S7-60,8%, S8-65,2%, S9-61,7 e S10-67,7%) enquanto 40% foram

considerados com eficiência acima da padronizada (S2-71,4%, S3-74,8%, S4-77,5% e S5-71,1%). Após o período de contato de 15', 40% dos isolados foram considerados abaixo da eficiência padrão para as condições estabelecidas no transcorrer do tempo de contato (S1-76,3%, S7-78,4%, S9-77,8% e S10-77,4%) enquanto o restante dos testes realizados foram considerados acima do padrão e eficiência com percentagem entre 78,6% e 85,6%.

Pode-se concluir após o período máximo de contato com a radiação UV para o teste (tempo de 20') que todos os experimentos ficaram com desempenho de eficiência acima do especificado em modelo matemático de padronização, porém, não havendo inativação completa em nenhum dos experimentos realizados ficando a percentagem de eficiência na faixa de 91,3% a 96,8%.

5.2.2.3.4 Análise do Conjunto de Resultados sobre Sensibilidade a contato com Radiação Ultravioleta.

A exposição do esgoto ao contato com a radiação ultravioleta como alternativa de desinfecção em contrapartida a outras opções é sem dúvida a forma com menor impacto a composição química do esgoto tratado (PIVELI, 1996; BARRY et. al., 2009 e SOUZA et. al., 2012).

Nota-se após desenvolvimento do experimento, que para águas ou mesmo esgotos com baixa concentração de sólidos suspensos, a efetividade do sistema de tratamento é maior em relação as outras diluições com concentrações maiores de sólidos suspensos, confirmando as colocações de Barry et. al. (2009), onde os mesmos relatam que a possível oclusão das bactérias no material particulado pode diminuir a efetividade dos raios ultravioleta visando a inativação dos mesmos.

Ao simular a concentração de sólidos suspensos nos esgotos hospitalar e da saída da ETE, pôde-se verificar a menor efetividade do contato com a radiação ultravioleta na segunda simulação, devido as características específicas do sistema de tratamento, que devido a retenção e formação de matéria orgânica nas lagoas facultativas, aumentam a quantidade de matéria orgânica suspensa, o que conforme já relatado diminui a eficiência da inativação por radiação ultravioleta.

Existem espécies de bactérias, como por exemplo, os isolados testados de *Klebsiella pneumoniae* que tem maior resistência a inativação por radiação ultravioleta, sendo mais resistentes em curtos períodos de tempo, mesmo em menores concentrações de sólidos

suspensos no meio de diluição. Sendo essa resistência elevada em meios com concentrações maiores de sólidos suspensos dispersos em seu diluente.

Outra constatação relevante para o experimento realizado são as bactérias consideradas para *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*, que apresentaram características diferentes entre si, quanto a inativação por contato com a radiação ultravioleta. Sendo os isolados de *Staphylococcus aureus*, mais sensíveis ao tratamento, enquanto os isolados de *Pseudomonas aeruginosa* com maior resistência, isso possivelmente a sua facilidade de fixar-se em qualquer superfície, facilitando sua oclusão a radiação ultravioleta.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A crescente necessidade de melhor aproveitamento dos recursos hídricos e conseqüentemente a melhoria no tratamento do esgoto e busca de sua reutilização devido à escassez de água em todo mundo, demonstra uma necessidade latente em melhorar os parâmetros de avaliação dos microrganismos existentes. Atrelado a isso a necessidade de tratamento e inativação de microrganismos deve ser foco da comunidade científica mundial.

Dentre todos os microrganismos isolados e testados pôde-se notar que existem microrganismos resistentes a antibióticos, desinfetantes e de difícil inativação em contato com a radiação UV, podendo assim comprovar, uma possível seleção dos microrganismos mais resistentes nos moldes atuais de tratamento.

Descrito isso, uma abrangência maior da legislação quanto ao controle da inativação dos microrganismos poderia modificar o quadro atual de lançamento destes em corpos receptores evitando a disseminação dos fatores de resistência e dificuldades futuras no tratamento para potabilidade.

Comprovou-se nesta dissertação a possibilidade de ação pontual de antibióticos para cada microrganismo, ou seja, antes de sua prescrição, seria de grande valia o teste de sensibilidade ou em caso de não possibilidade do teste a prescrição dos antibióticos com maior efetividade para o microrganismo específico, evitando-se prescrever antibióticos de amplo espectro, diminuindo o contato de outros microrganismos a esses antimicrobianos via recursos hídricos.

Notou-se também que o período de contato entre desinfetantes e os microrganismos em qualquer um dos pontos de coleta, deve ser no mínimo 10 minutos e que quanto menor a concentração dos sólidos suspensos no meio em que estão inseridos os microrganismos, maior a eficiência do desinfetante.

Salienta-se que o tratamento com desinfetantes não deve ser descartado em relação a esgotos, porém no estudo desenvolvido, devido ao sistema de tratamento adotado, esse tipo de desinfecção (por desinfetantes) seria mais efetivo se desenvolvido no hospital, mas deve salientar-se que a eficiência pode ser reduzida devido a variação dos sólidos suspensos no esgoto hospitalar, antes do lançamento de seu esgoto na rede coletora. Outro ponto a ser observado é que esses desinfetantes podem reagir com os outros componentes químicos e biológicos do esgoto, podendo formar subprodutos de impacto ambiental o que pode ser um fator desfavoráveis a seu tratamento. Para desenvolvimento desse tipo de tratamento estudos sobre esses subprodutos devem ser realizados de forma prévia.

Quanto a tratamento dos esgotos estudados com utilização de radiação UV, pode-se concluir que, sua eficiência é maior para inativação dos microrganismos no esgoto hospitalar, devido à menor concentração de sólidos nesse esgoto específico. Porém deve-se verificar a viabilidade de um tratamento prévio com radiação UV no tratamento de águas para potabilidade, além do tratamento em esgoto hospitalar, devido a existência de microrganismos neste estudo de características nativas ao meio ambiente. Essa medida juntamente com o tratamento por radiação UV no hospital, diminuiria a incidência desses microrganismos na água tratada, encurtando assim seu ciclo de transferência de multirresistência.

Contudo, pode-se chegar ao consenso que o aumento do escopo de abrangência dos microrganismos na legislação deve ser discutido, devido ao crescente número de infecções e bacteremias provenientes de forma hídrica no mundo. A OMS em seu relatório de bactérias multirresistentes descreve os 5 gêneros e/ou espécies estudados neste como foco, sendo a medida anteriormente citada como vanguarda no tratamento de esgoto mundial e com isso um enquadramento da legislação na melhoria da qualidade da água lançada nos corpos receptores e tratada posteriormente para consumo.

A conjuntura atual no Brasil e no mundo em relação aos recursos hídricos, demonstra a necessidade de avanços na reutilização e tratamento dos esgotos, minimizando fatores insalubres ou possíveis quadros de seleção bacteriana. Por isso o aumento da abrangência do quadro de possíveis microrganismos potencialmente patogênicos e de multirresistência a serem inativados e/ou tratados deve ser prioridade da comunidade científica mundial.

7 RECOMENDAÇÕES

- Devido a abrangência do estudo específico, a caracterização sistemática por biologia molecular poderia confirmar se os isolados coletados no hospital estão sobrevivendo nos outros pontos de coleta.
- Um monitoramento mais detalhado e desenvolvido com coletas regulares durante um período maior de tempo, pode desencadear resultados mais precisos.
- Estudos realizados em ETE com sistemas de tratamento e portes diferentes, além de outros estabelecimentos assistenciais de saúde podem aumentar o escopo de resultados e sua comparação pode ser de grande valia para comprovação dos estudos já realizados e possíveis conclusões adicionais.

REFERÊNCIAS

ARAÚJO, Karine L.; QUEIROZ, Alexandre C. **Análise do perfil dos agentes causadores de infecção do trato urinário e dos pacientes portadores, atendidos no Hospital e Maternidade Metropolitano – SP.** Journal of Health Sci Institute. No. 30 (2012).

ASCENCIO, Maria A.; HUERTAS, Maria; CARRANZA, Rafael; FRANCO, Maria; CASTELLANOS, Jesús; BARBÉRA, José R.; CONDE, Maria del C.; TENIAS, José M. **Tendencias de sensibilidad de los patógenos bacterianos más frecuentemente aislados em Hospital General La Mancha Centro durante el período 2010-2012.** Revista Especialidad Quimioter. Vol 27: 2014.

ASSIS, Denise Brandão de; MADALOSSO, Geraldine; FERREIRA, Silvia Alice; YASSUDA, Yara Y.; POLACHINI, Zuleida Monteiro. **Sistema de Vigilância de Infecção Hospitalar do Estado de São Paulo: Ano 2011.** BEPA. Boletim Epidemiológico Paulista (Online). Vol 9. N 106. São Paulo. 2011.

AUGUSTINHO L., FERREIRA A.R. (2004) **Impactos ambientais dos efluentes líquidos hospitalares no rio Paraguai, Cáceres, MT.** V Simpósio sobre Recursos Naturais e Socioeconômicos do Pantanal, Corumbá 2004 Corumbá - MT.

AGENCIA NACIONAL DE ÁGUAS – ANA – **Consumo residencial por estado.** Disponível em: <<http://www2.ana.gov.br/Paginas/portais/estatisticas/consumoregioao.aspx>>. Acesso: 26 Out. 2014.

ANDRADE JUNIOR, A. M.; FILHO SOUZA, J. S.; LIMA, V. A.; FREITAS, J. C. R.; FREITAS FILHOS, J. R. **Avaliação da qualidade da água do rio Canhoto da cidade de Caetés - PE.** Educação Ambiental em Ação, n. 34, 2010. ANS (2011)

APHA - *Standard Methods for Examination of Water and Wastewater*. 21th Ed. American Public Health Association / American Water Works Association / Water Environment Federation. Washington D.C., 2012.

ARCEIVALA, S.J. *Wastewater treatment and disposal. Engineering and ecology in pollution control.* New York, Marcel Dekker. 892 p., 1981.

AZEVEDO, Camila Palma; SILVA, Jadson Oliveira. **Avaliação do perfil de resistência da *Escherichia coli* isolada de uroculturas e correlações com antibioticoterapias empíricas atualmente propostas.** Revista Multidisciplinar da Saúde. Ano IV. No.07: 2012.

BALDRY, M. G. C.; FRENCH, M. S.; SLATER, D. **The Activity of peracetic acid on sewage indicator bacteria and viruses.** Water Science Technology, 24(2):353-357. 1991.

BARRY, G. O.; COSGROVE, Ernest G. **The disinfection of sewage treatment plant effluents using ultraviolet light.** The Canadian Journal of Chemical Engineering. Vol.53. n.2: 170-174. 2009.

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

BARROS, Carmem Maria. **Qualidade das águas naturais e introdução ao tratamento de água para consumo humano.** BAYER (2014).

BAZZARELLA, Bianca Barcellos. **Caracterização e aproveitamento de água cinza para uso não-potável em edificações.** Programa de Pós-graduação em Engenharia Ambiental. Vitória. Dez. 2005.

BERTO, Josiani. **Tratamento de efluentes hospitalares pela reação de FENTON e FOTO-FENTON: Comparação da eficiência.** Curso de Pós-graduação em Ciências e Tecnologias da Terra e do Mar. Universidade Vale do Itajaí. 2006.

BERTO, J.; ROCHENBACH, G. C.; BARREIROS, M. A. B.; CORREA, A. X. R.; PELUSO-SILVA, S.; RADTSKI, C. M. **Physico-chemical, microbiological and ecotoxicological evaluation of a septic tank/Fenton reaction combination for the treatment of hospital wastewaters.** Ecotoxicology and Environmental Safety 72 (2009) 1076–1081

BERTOLDI, Andréa Dâmaso; RODRIGUES, Fernanda d`Athayde. **Perfil da Utilização de antimicrobianos em um hospital privado.** Ciência & Saúde Coletiva, 15(Supl. &): 1239-1247, 2010.

BETROSIAN, Alex P.; FRANTZESKAKI, Frantzeska; XANTHAKI, Anna; DOUZINAS, Emmanuel E. **Efficacy and safety of high-dose ampicillin/sulbactam vs. colistin as monotherapy for the treatment of multidrug resistant *Acinetobacter baumannii* ventilator-associated pneumonia.** Journal of Infection. Vol. 56: 2008.

BITTON, Alain; Kelvin, T. Thia, UMA, Mahadevan; WONG, Cindy; COCKERAM, Alan; BERNTEIN, Charles N. SANDBORN, Willian J. **Ciprofloxacin or metronidazole for the treatment of perianal fistulas in patients with Crohn's disease: A randomized, double-blind, placebo-controlled pilot study.** Inflammation Dowel Diseases. Oficial Journal of the Crohn's & Colitis Fundation of America Inc. Volume 15. Jan.2009.

BITTON, Gabriel; **Wastewater Microbiology.** 4ª edição. John Wiley & Sons. Jan. 2010.

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

BOCHESE, Daniel Celestino Fornari. **Eliminação de Matéria Orgânica de Conchas de Ostras por Processo Biológico**. Universidade Federal de Santa Catarina. JUN. 2008.

BOETTCHER, Ivan Sheneider; **Perfil microbiológico das culturas positivas da unidade de terapia intensiva do hospital universitário – UFSC**. Curso de Medicina Universidade Federal de Santa Catarina – TCC – Florianópolis: 2009.

BOROWSKY, L. M.; BESSA, M. C.; CARDOSO, M. I.; AVANCINI, C. A. M. **Sensitivity and resistance of samples of Salmonella Typhimurium isolated in slaughter swines in the state Rio Grande do Sul/Brazil, front to disinfectants quaternary ammonium and iodophor**. *Ciência Rural*, v. 36, p. 1474-1479, 2006. BRASIL. **Manual de saneamento**. Fundação Nacional de Saúde. 9. ed. rev. Brasília: Agencia Nacional de Saúde, 2012. 493 p.

BRAGA, B.; HESPANHOL, I.; CONEJO, J. G. L.; MIERZWA, J. C.; BARROS, M. T. L.; SPENCER, M.; PORTO, M.; NUCCI, N.; JULIANO, N.; EIGER, S. **Introdução a Engenharia Ambiental**. São Paulo: Pearson Prentice Hall, 2005.

BRAILE, P. M.; CAVALCANTI, J. E. W. **Manual de tratamento de águas residuárias industriais**. São Paulo: CETESB, 1979.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. Resolução da Diretoria Colegiada – **RDC n. 50**, de 21 de fevereiro de 2002. Dispõe sobre 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.

BRASIL - Associação Brasileira de Normas Técnicas – ABNT. Norma Técnica – **NBR 9898**, de Junho de 1987 – Preservação e técnicas de amostragem de efluentes líquidos e corpos receptores 1987.

BRASIL. Fundação Nacional da Saúde. **Manual de saneamento**. 4. ed. rev. – Brasília: Fundação Nacional de Saúde, 2006. 408p. ISBN: 857346-045-8.

BRASIL. 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.

BRASIL. 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.

BRASIL – Ministério da Cidades/Secretaria Nacional de Saneamento Ambiental. **PLANSAB – Plano Nacional de Saneamento Básico**. Brasília: MAI. 2013.

BRASIL – Ministério da Saúde/ Secretaria de Assistência a Saúde. Departamento de Normas Técnicas. **GM/MS 1884/94**. Normas para Projetos Físicos de Estabelecimentos Assistenciais de Saúde: Brasília, 1994.

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.

BRUNDTLAND P. Galleti, **Hospital effluents as a source of emerging pollutants: An overview of micropollutants and sustainable treatment options**. Journal of Hydrology (2000).

BUSSAB, W. O.; MORETTIN, P.A. **Estatística básica**. 4ª edição. São Paulo: Atual, 2001.

CALIXTO, Carolina M. F.; CAVALHEIRO, Éder T. G.; **Penicilina: Efeito do Acaso e Momento Histórico no Desenvolvimento Científico**. Química Nova na Escola, vol. 34. N.3 São Paulo: 2013

CAMPOS, J. R. **Uma abordagem sobre a desinfecção de esgotos no Brasil**. In: SEMINÁRIO INTERNACIONAL SOBRE DESINFECÇÃO DE ÁGUAS DE ABASTECIMENTO E RESIDUÁRIAS EM PAÍSES EM DESENVOLVIMENTO, 1993, Belo Horizonte. p. 137-167: 1993.

CAMPOS, J. R./ **Conceitos gerais sobre técnicas de tratamento de água é abastecimento, Esgotos Sanitários e Desinfecção**. São Carlos. Departamento de Hidráulica e Saneamento: CESC/USP. 1999.

CARVALHO, H. F.; RECCO-PIMENTEL, S. M. **Moléculas importantes para a compreensão da célula e do seu funcionamento**. In: _____. A célula. 2. ed. São Paulo: Manole, 2007. p. 7-28.Castagnato.

GHAGAS, T. P. G.; SEKI, L.M.; DA SILVA, D.M.; ASENSI, M.D. **Occurrence of KPC-2-producing *Klebsiella pneumoniae* strains in hospital wastewater.** Journal of Hospital Infection, No. 77, 2011; 281.

CHAMBERS, Henry F.; LIU, Catherine. ***Staphylococcus aureus* with Heterogeneous Resistance to Vancomycin: Epicemiology, Clinical Significance, and Critical Assessment of Diagnostic Methods.** Journal of Antimicrobial Agents and Chemotherapy. Vol 47: 2003.
CHERNICHARO, C.A.L. Reatores Anaeróbios. Princípios do tratamento biológico de águas residuárias. Vol.5. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental – UFMG. 2010.

CHERNICHARO, C. A. L; VON SPERLING, M. ***A comparison between wastewater treatment processes in terms of compliance with effluent quality criteria standards.*** In: XXVII Congresso Interamericano de Engenharia Sanitaria e Ambiental. Porto Alegre. 2000.
CHICK, H. **Investigation of the laws of disinfection.** Journal of Hygiene, 8; 92-158, 1908.
CLARK, David P; MADIGAN, Michael T.; MARTINKO, John M.; DUNLAP, Paul V; ***Microbiologia de Brock.*** 12ª Edição Artmed São Paulo – SP (2010).

CLSI – Clinical and Laboratory Standards Institute. ***Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing;*** Fifteenth Informational Supplement. M100 – S15. Vol. 25. Nº1. January 2013

COELHO, H (2000) **Manual de gerenciamento de resíduos de serviços de saúde.** Rio de Janeiro, Fiocruz.

COIMBRA, Marcus V. S.; COIMBRA, Marcus V. S. Filho; LIMA, Nádia Cristina de. **Estudo da prevalência e dos índices de resistência microbiana em um hospital público do Rio de Janeiro.** Revista de Divulgação Científica SENA AIRES. Vol. 1; nº 1: 2012.

COLOMBO, F.G. FUENTEFRIA, D. B; FERREIRA, A. E.; GRAF, T.; CORÇÃO, G. ***Pseudomonas aeruginosa: disseminação de resistência antimicrobiana em efluente hospitalar e água superficial.*** Rev. Soc. Bras. Med. Trop. vol.41 no.5 Uberaba Sept./Oct. 2011.

COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO – CETESB ***Manual de Normas Técnicas Vigentes*** Disponível em: < <http://www.cetesb.sp.gov.br/servicos/normas---cetesb/43-normas-tecnicas---cetesb>> Acesso: DEZ. 2014.

CONSTANZO, S.D.; MURBY, J.; BATES, J. **Ecosystem response to antibiotics entering the aquatic environment.** March. Pollution Bulletin, 2005, 51, 218-223.

CORBELLA, X.; ARIZA, J.; ARDANUY, C.; VUELTA, M.; TABAU, F.; SORA, M.; PUJOL, M. e GUDIOL, F. **Efficacy of sulbactam alone and in combination with ampicillin in nosocomial infections caused by multiresistant *Acinetobacter*.** Journal of Antimicrobial Chemotherapy. Vol, 42: 1998.

COUTO, T. Clemente; NAVAL, Liliانا Pena; FARIA, Daniela Costa. **Análise das Variáveis Físico-Químicas da Água do rio Javaés, Ilha do Bananal, Entorno do Parque Nacional do Araguaia Tocantís – Brasil.** In: AIDIS; Asociación Interamericana de Ingeniería Sanitaria y Ambiental. Sección Uruguay. Rescatando antiguos principios para los nuevos desafíos del milenio. Montevideo, AIDIS, 2006. p.1-8, tab.

COUTU, S.; ROSSI, L.; BARRY, D. A.; RUDAZ, S.; VERNAZ, N. **Temporal variability of antibiotics fluxes in wastewater and contribution from hospitals.** 2013. PloS One 8, e53592.

DAMASCENO, L. M. O. **Avaliação e monitoramento da qualidade da água do rio Poti na região de Teresina, PI.** 2005, 133f. Monografia do curso de graduação em Tecnólogo em Meio Ambiente. Centro Federal de Educação Tecnológica do Piauí. Teresina, 2005.

DANIEL, L. A. (Coord.). **Processos de desinfecção e desinfetantes alternativos na produção de água potável.** Rio de Janeiro: PROSAB/FINEP, ABES, 139 p. 2001.

DE LA CRUZ, N.; GIMÉNEZ, J.; ESPLUGAS, S. .; GRANDJEAN, D.; ALENCASTRO, L. F.; PULGARÍN, C. **Degradation of 32 emergent contaminants by UV and neutral photofenton in domestic wastewater effluent previously treated by activated sludge.** Water Research, v. 46, p. 1947-1957, 2012.

DIAS, Leandro Henrique M.; SOUZA, Jeanette Beber de; VIDAL, Carlos Magno de Souza; CAVALIN, Grasielle Soares. **Modelo Experimental de Desinfecção de Esgoto Sanitário Usando Ácido Paracético.** Revista Ciências Ambientais (Online). V.3 n.2. 2009.

EMERICK, R. W., LOGE, F. J.; GINN, T.; DARBY J. L. **Modelling the inactivation of particle associated coliform bacteria.** Water Environmental Resistence. 72, 432 – 438, 2000.

EMMANUEL, E.; PIERRE, M. G.; PERRODIN, Y. **Groundwater contamination by microbiological and chemical substances released from hospital wastewater: Health risk assessment for drinking water consumers.** Environment International 35 718–726, 2009.

EUROPEAN SURVEILLANCE OF ANTIMICROBIAL CONSUMPTION – ESAC.
Disponível em: <<http://www.ecdc.europa.eu>> Acessado em 17/03/2015.

ESCHER, Beat I.; BAUMGARTNER, Rebekka; KOLLER, Mirjam; TREYER, Karin, LIENERT, Judit; MCARDELL, CHRISTA S. **Environmental toxicology and risk assessment of pharmaceuticals from hospital wastewater.** Water Research. Jun.2011

FERNANDES, A. T. **Infecção Hospitalar e suas Interfaces na Área da Saúde**. São Paulo: Atheneu, 2000.

FERRARA, R. A.; AVCI, C.B. **Nitrogen dynamics in waste stabilization ponds**. *Journal of water pollution control federation*, v.54, n.4, p. 361-369. 1982.

FIEBELKORN, K.R.; CRAWFORD, S.A.; MCELMEEL, M. L.; JORGENSEN, J. H. **Practical Disk Diffusion Method for Detection of inducible Clindamycin Resistance in *Staphylococcus aureus* and Coagulase-Negative *Staphylococci***. *Journal of Clinical Microbiology*. Vol. 41; n. 10: 2003.

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

FRANCA, J. B. A.; MORAES, T.V.; VAZ, D. C.; FERREIRA, A. A.; SOARES, F. A. L. **Tratamento de Efluente Doméstico com Macrófitas Aquáticas para Reúso na Fertirrigação**. Irriga. Botucatu. Ed. Especial 01. P85-93. 2014.

GALVÃO, Lia Cristina dos Santos; TADEU, Cristiene Nunes; PEREZ, Maurício Andrade; CONCEIÇÃO, Magda de Souza; MOREIRA, Simone. **Vigilância Microbiológica como Apoio ao Programa de Controle de Infecções na Unidade de Terapia Intensiva**. *Revista de Enfermagem (UFPE Online)*. Recife-PE. no. 8 (supl. 3): 4056-4064, 2014.

GARCÍA-GÁLÁN, M. J.; DÍAZ-CRUZ, M. S., BARCELÓ, D. **Occurrence of sulfonamide residues along the Ebro river basin: removal in wastewater treatment plants and environmental impact**. 2011, *Environmental International*, 37, 462-473.

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.

GELLER, Bruce L.; MARSHALL-BATTY, Kimberly, SCHNELL, Frederick J.; MCKNIGHT, Mattie M.; IVERSEN, Patrick L.; GREENBERG, David E. **Gene-Silencing Antisense Oligomers Inhibit *Acinetobacter* Growth in Vitro and In Vivo**. *The Journal of Infectious Diseases*, Chicago, Illinois. OUT. 2013.

GENTILLINI, E.; DENAMIEL, G.; LIORANTE, P.; GOLDALY, S.; REBUETTO, M.; DEGREGORIO, O. **Antimicrobial Susceptibility of *Staphylococcus aureus* isolated from Bovine Mastitis in Argentina**. *Journal of Dairy Science*. Vol. 83: 2000.

GONÇALVES, Fernando Botafogo; SOUZA, Amarilio Pereira de. **Disposição oceânica de esgotos sanitários: história, teoria e prática**. Rio de Janeiro (RJ): ABES, 325p. 1997.

GONÇALVES, Ricardo Franci. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE ENGENHARIA SANITARIA E AMBIENTAL. PROGRAMA DE PESQUISA EM SANEAMENTO BASICO (BRASIL). **Desinfecção de efluentes sanitários**. Rio de Janeiro (RJ): ABES; São Paulo (SP): RiMa, 422 p. 2003.

GOTARDO, J. T., BENTO, A. P., SEZERINO, P. H., OLIJNYK, D. P., PHILLIPPI, L. S., LAPOLLI, F. R., **Adaptação de parâmetros de projeto para lagoas facultativas de tratamento de esgotos domésticos na região sul do Brasil**. In: XXIX Congresso Interamericano de Ingeniería Sanitaria y Ambiental, Anais. San Juan de Puerto Rico. 2005.

GUEDES, Elder Vinicius Ribeiro. **Avaliação Comparativa entre Águas Residuárias de Serviços de Saúde e Águas Residuárias Urbanas: um Estudo em Montes Claros – MG**. Programa de Pós-graduação em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos. Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG. Belo Horizonte – MG. 2004.

GUO, M.; HU, H.; LIU, W. **Preliminary investigation on safety of post-UV disinfection of wastewater: bio-stability in laboratory-scale simulated reuse water pipelines**. Desalination, v. 239. 2009.

HALL, E.R., RANDLE, W.G. **AOX Removal from bleached kraft mill wastewater: a comparison of three biological treatment processes**. Wat. Sci. Tech., v. 26, n.1-2, p.387-396, 1992.

HALLMICH, C.; GEHR, R. **Effect of preand post-UV disinfection conditions on photoreactivation of fecal coliforms in wastewater effluents**. Water Research, v. 44, p. 2885-2893, 2010. Hauser (2010).

HAUSER, Alan R. **Antibióticos na prática clínica: fundamentos para escolha do agente antibacteriano correto**. Porto Alegre: Artmed, 2009.

HENES, Maria Ap; SILVA, Samanta C.; FORNARI, João Vitor; BARNABÉ, Anderson Sena; FERRAZ, Renato Ribeiro N. **Incidencia de infecção por *Acinetobacter* em uma unidade de tratamento especial de um hospital público de São Paulo – Brazil**. Science in Health, 4: 97-101. São Paulo. 2013.

HIRAMATSY, Keiichi. **Vancomycin resistance in staphylococci**. Journal of Drug Resistance Updates. Vol.1 (1998).

HIRAMATSU, Keiichi; ARITAKA, Nanae; HANAKI, Hideaki; KAWASAKI, Shiori, HOSODA, Yasuyuki; HORI, Satoshi; FUKUCHI, Yoshinosuke; KOBAYASHI, Intetsu. **Dissemination in Japanese hospitals of strains of *Staphylococcus aureus* heterogeneously resistant to Ampicillin.** The Lancet: vol. 350. 1997.

HIRSCH, R.; TERNES, T. HABERER, K.; KRATZ, K. L. **Occurrence of antibiotics in the aquatic environment.** Science Total Environmental, 1999, 225, 109-118.

HOAG, L. S. A. **Reuso de água em hospitais: o caso do hospital “SANTA CASA DE MISERICÓRDIA DE ITAJUBÁ.** Programa de Pós-Graduação em Engenharia da Energia. Universidade Federal de Engenharia de Itajubá. Itajubá. 2008.

HUANG, J. J.; HU, H. Y.; LU, S. Q.; Li, Y.; TANG, F.; Lu, Y. **Monitoring and evaluation of antibiotic-resistant bacteria at a municipal wastewater treatment plant in China.** Environmental International. 2012, 42. 31-36.

ILHA, Marina, S. de Oliveira; NUNES, Solange da Silva; SALERMO, Lia Soares. **Programa de conservação de água em hospitais: estudo de caso do Hospital das Clínicas da Universidade Estadual de Campinas.** Ambiente Construído, Porto Alegre, V.6, n.1, p. 91-97, JAN./MAR. 2006.

INSTITUTO DAS ÁGUAS DO PARANÁ – ÁGUAS PARANÁ – **Avaliação e proposição da rede de monitoramento, classificação e qualidade da água** – Volume III –Classificação de águas superficiais; Secretaria de Recursos Hídricos e Ambiente Urbano; Curitiba – Paraná, 2014.

JORDÃO, E. P.; PESSÔA, C. A. **Tratamento de esgotos domésticos.** 6ª ed. Rio de Janeiro-RJ: ABES, 2011.

JOUNG, Dae-ki; CHOI, Sung-Hoon; KANG, Ok-Hwa; KIM, Sung-Bae; MUN, Su-Hyun; SEO, Yun-Soo; KANG, Da-Hye; GONG, Ryong; SHIN, Dong-Won; KIM, Youn-Chul; KWON, Dong-Yeul. **Sinergic effects of oxireveratrol in conjunction with antibiotics against methicillin-resistant *Staphulococcus aureus*.** Journal of Molecular Medicine Reports. FEB: 2015.

KELLNER, E. PIRES, E.C. **Lagoas de Estabilização: Projeto e Operação.** Rio de Janeiro: ABES, 241p. 1998.

KOH, Tse Hseien; Ko Karrie; JUREEN, Roland; DEEPAK, Rama Narayana, TEE, Nancy Wen Sim; TAN, Thean Yen; TAY, Mathew Rong; LEE, Vernon J. M.; BARKHAM, Timothy

Mark S. **High Counts of Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae in Hospital Sewage.** *Infection Control & Hospital Epidemiology*, 36; 619-621: 2015.

KOBAYASHI, Cláudia C. B. A.; SADOYAMA, Geraldo; VIEIRA, José Daniel G. **Determinação da resistência antimicrobiana associada em isolados clínicos de *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* em um hospital público de Goiânia, Estado de Goiás.** *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. Vol. 42: 2009.

KOLÁR, M., URBÁNEK, K. , LÁTAL, T. **Antibiotic selective pressure and development of bacterial resistance.** *Int J Antimicrob Agents* 7, 357–363, 2001.

KONEMAN, E. W.. **Enterobacteriaceae.** In: E. W. Koneman; S. D. Allen; W. M. Janda; P. C. Schreckerberger; W. C. Winn (Org.) *Texto e Atlas Colorido*. 5ª ed. 177-250p. 2001

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

KÜMMERER, K. **Antibiotics in the aquatic environment – a review – Part I,** *Chemosphere*, 2009, 75, 417-434.

LANGONI, H.; ARAÚJO, W. N., SILVA, A.V. e SOUZA, L.C. **Tratamento da Mastite Bovina com Amoxicilina e Enrofloxacina Bem como com a Sua Associação.** *Arq. Ins. Biol., São Paulo-SP*, v. 67, n.2., p.177-180. JUN./DEZ. 2000.

LAPOLLI, Flávio Rubens, HASSEMER, Maria E. N.; CAMARGO, Jefferson G.; DAMÁSIO, Diedre L.; LOBO-RECIO, María Á.; **Processos de tratamento de esgotos.** Florianópolis: UFSC, 2007.

LAPOLLI, Flávio Rubens, HASSEMER, Maria E. N.; CAMARGO, Jefferson G.; DAMÁSIO, Diedre L.; LOBO-RECIO, María Á, **Desinfecção de efluentes sanitários através de dióxido de cloro.** Florianópolis: ABES, 2005. Artigo Técnico. Leme (1982)

LEMAIRE, Sandrine; BAMBEKE, Françoise Van; MINGEOT-LECLERCQ, Marie-Pauline; TULKENS, Paul M. **Activity of three β -lactams (ertapenem, meropenem and ampicillin) against intraphagocytic *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus*.** *Jornal of Antimicrobial Chemotherapy*. Vol 55: 2005.

LEUNG, H.W.; MINH, T.B.; MURPHY, M.B., LAM, J.C.W.; SO, M.K.; MARTIN, M. **Distribution, fate and risk assessment of antibiotics in sewage treatment plants in Hong Kong, South China.** *Environmental International*. 2012, 42, 1-9.

LEVENE, D. L.; BERENSON, M. L.; STEPHAN, D. **Estatística: teoria e aplicações**. Rio de Janeiro: LTC, 2000.

LEVIN, Anna S.; LEVY, Carlos E.; MANRIQUE, Edison I.; MEDEIROS, Eduardo A. S.; COSTA, Silvia F. **Severe nosocomial infections with imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* treated with ampicillin/sulbactam**. International Journal of Antimicrobial Agents. Vol. 21: January 2003.

LEVINSON, W.; WETZ, J.A. E., **Microbiologia Médica e Imunologia**. 4ª ed. Porto Alegre: Artes Médicas, 1998.

LI, GuanGhuy; WU, Congming; WANG, Xin. MENG, Jianghong. **Prevalence and characterization of methicillin susceptible *Staphylococcus aureus* ST398 isolates from retail foods**. International Journal of Food Microbiology. Vol 196: 2015.

LIBÂNIO, M. **Fundamentos de qualidade e tratamento de água**. 2ª edição. São Paulo: Editora Átomo, 2008.

LIM, Tow Keang; KO, Fanny W. S.; THOMAS, Paul S.; GRAINGE, Chris; YANG, Ian A. **Year in review 2014: Chronic obstructive pulmonary disease, asthma and airway biology**. Respiratory, 20, 510-518, 2015.

LIN, Huagn-Shen; LEE, Ming-Hsun; CHENG, Chun-Wen; HSU, Po-Chang; LEU, Hsieh-Shong; HUANG, Ching-Tai; YE, Jung-Jr. **Sulbactam treatment for pneumonia involving multidrug-resistant *Acinetobacter complex***. Infectious Diseases: March.2015.

LOYOLA, R. **A era pósantibióticos**. Disponível em: <<http://veja.abril.com.br/noticia/saude/a-era-pos-antibiotico>> . Acesso em: 10 de fevereiro de 2015.

MACÊDO, Jorge Antonio Barros de. **Águas & Águas**. São Paulo: Varela, 2001

MANZ, W., AMANN, R., LUDWIG, W., WAGNER, M. AND SCHLEIFER, K-L. **Phylogenetic oligodeoxynucleotide probes for the major subclasses of Proteobacteria: problems and solutions**. System. Appl. Microbiol. 59: 593-600, 2009.

MARTI, E.; VARIATZA, E.; BALCÁZAR, J.L. **The role of aquatic ecosystem as reservoirs of antibiotic resistance**. Trends Microbiology, . 22, 36-41. 2014.

MARTINS, P. A. **Manual de infecção hospitalar- epidemiologia, prevenção e controle** – 2.ed. Rio de Janeiro: Medsi Ltda, 2001.

MEDEIROS, P. S. **Caracterização Molecular de Isolados de Pseudomonas aeruginosa do hospital de base do Distrito Federal**. Brasília: UCB, 2009. 142p. II. Dissertação (Mestrado) – Universidade Católica de Brasília, Distrito Federal.

MEES, J.B.R. **Uso de aguapé (Eichhornia crassipes) em sistema de tratamento de efluente de matadouro e frigorífico e avaliação de sua compostagem**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola). Centro de Ciências Exatas e Tecnológicas, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel. P. 70; 2006.

MELO, C. M. M. **Divisão social do trabalho e enfermagem: A divisão social do trabalho na enfermagem**. São Paulo: Cortez, 2001.

MELO, M.T.; VIEIRA, R.H.; SAKER-SAMPAIO, S.; HOFER, E. **Coliforms and Salmonella in seawater near to domestic sewage sources in Fortaleza (Ceará, Brazil)**. Microbiologia. p. 463-470, (2009)

MENEZES, E. A.; NASCIMENTO, K.M.; SOARES, K.P.; AMORIM, L.N.; LIMA NETO, J.G.; CUNHA, F. A. **Avaliação da atividade *in vitro* do meropenem contra cepas de Klebsiella pneumoniae produtoras de betalactamases de espectro expandido na cidade de Fortaleza, Ceará**. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical., v. 40, n.3, 2007.

MIERZWA, José Carlos; HESPANHOL, Ivanildo; **Água na Indústria: uso racional e reuso**. São Paulo: Oficina de Textos. 2005.

MOE J, GRABOWSKI H, RIDLEY D. FDA review vouchers. The New England Journal of Medicine 2009; 360(8):837.

MOREL, M.M.; BERTUSSI FILHO, L.A. **Resíduos de serviços de saúde**. In: Rodrigurs EAC et al. Infecções hospitalares: prevenção e controle. São Paulo: Savier, 1997. cap.9, pag 519-534.

MORIYA, Takachi; MODENA, Jose Luiz P.; **Assepsia e Antissepsia: Técnicas de Esterilização**. Ribeirão Preto: Fundamentos em Clínica Cirúrgica – 1ª Parte. Capítulo III. p. 265-73; 2008.

MOTA, Francisco Suentônio Bastos; VON SPERLING, Marcos, **Nutrientes de esgoto sanitário: utilização e remoção**. Rio de Janeiro: ABES, 2009.

MOTTA, R.N., OLIVEIRA, M.M., MAGALHÃES, P.S.F., DIAS, A.M., ARAGÃO, L.P., FORTI, A.C., CARVALHO, C.B.M. **Plasmid – mediated extended – spectrum β – lactamase-producing strains of Enterobacteriaceae isolated from diabetes foot infections in a Brazilian diabetic center.** Brazilian Journal of Infectious Diseases, 2005.

MOZACHI, N. **O Hospital: Manual de Ambiente Hospitalar.** 2.ed. Curitiba: Manual Real, 2005.

MUCELIN, C. A. **Estatística Elementar e Experimental Aplicada às Tecnologias.** 2ª Edição. Medianeira: 2006.

NESPOLO, Natália Maramarque, SABA, Rachel Zoccal; ROSSATELLI, Dalila Aparecida; FAIRBROTHER, John Morris; ROSSI, Oswaldo Durival Júnior. **Ocorrência de *Escherichia coli* sorbital negativas em matadouro frigorífico de bovino e suscetibilidade e antimicrobianos.** Arq. Inst. Biol. São Paulo. Vol.81, No. 3: (2014).

NETO, Romeu C.; SANTOS, Lucia U. dos.; FRANCO, Regina M. B. **Águas: escassez e qualidade.** Revista Higiene Alimentar. São Paulo: V.22; 1.ed. p.3-4, out. 2008. Nóbile et. al. 2004.

NEVES, Patrícia R.; MAMIZUKA, Elsa M.; LEVY, Carlos R.; LINCOPAN, Nilton. ***Pseudomonas aeruginosa* multirresistente: um problema endêmico no Brasil.** Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial. Vol. 47. No. 4: 2011.

NOBLE, W.C.; VIRANI, Zarina; CREE, Rosemary G. A. **Co-transfer of vancomycin and other resistance genes from *Enterococcus faecalis* to *Staphylococcus aureus*.** FEMS Microbiology Letters. 1992.

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.** 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, p. 60, 2009.

NOVAK, Franz Reis; ALMEIDA, João Aprígio Guerra de; ASENSI, Marise Dutra; MORAES, Bianca Aguiar de; RODRIGUES, Dália dos Prazeres. **Resistência antimicrobiana de coliformes isolados de leite humano ordenhado.** Caderno de Saúde Pública, Rio de Janeiro, Vol. 17: 2001.

NUVOLARI, A. (coord.). **Esgoto Sanitário: coleta, transporte, tratamento e reuso agrícola**. 1ª ed. São Paulo: Edgard Blücher, 2003, 520 p.

O'NEIL, Maryadele J. **The Merck Index: An Encyclopedia of Chemicals, Drugs and Biologicals**, RSC Publishing: Canadá, 2006.

OLSEN, C. H. **Review of the use of statistics in infection and immunity**. *Infection Immunity*. 71, 6689-6692: 2003.

OLIVEIRA, Everton F.; SILVA, Elaine A.; FERNANDES, Carlos E. S.; FILHO, Antonio, C. P.; GAMARRA, Roberto M.; RIBEIRO, Alisson A.; BRAZIL, Reginaldo P.; OLIVEIRA, Alessandra G. **Biotic factors and Occurrence of *Lutzomyia longipalpis* in endemic area of visceral leishmaniasis, Mato Groço do Sul, Brazil**. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, vol 107 n.3 Rio de Janeiro, 2012.

OLIVEIRA, L. N.; SILVA, C. E.; **Qualidade da Água do Rio Poti e Suas Implicações para Atividades de Lazer em Terezina-PI**. *Revista Equador*. São Paulo: 2014.

OLIVEIRA, Maria João Chaves Pereira de; **Estudo de resistência da bactéria *Escherichia coli* a antibióticos em infecções urinárias na população da Região Autónoma da Madeira**. Programa de pós-graduação em Bioquímica Aplicada (Universidade da Madeira). Funchal:2010.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE – OMS (*WORLD HEALTH ORGANIZATION – WHO*). **ANTIMICROBIAL RESTANCE: Global Report on Surveillance**. WHO Library Cataloguing-in-Publication Data: Geneva, Switzerland. 2014.

PENWELL, William A. SHAPIRO, Adam B.; GIACOBBE, Robert A.; GU, Rong-Fang; GAO, Ning; THRESHER, Jason; MCLAUGHLIN, Robert E.; HUBAND, Michael; DEJONGE, Boudewijn L. M.; EHMANN, David E.; MILLER, Alita A. **The molecular mechanisms of sulbactam antibacterial activity and resistance determinants in *Acinetobacter baumannii***. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. Jan 2015.

PEREIRA-MAIA, Elene C.; SILVA, Priscila Pereira; ALMEIDA, Wagner Batista; SANTOS, Hélio Ferreira dos; MARCIAL, Bruna Luana; RUGGIERO, Reinaldo; GUERRA, Wendell. **Tetraciclina e Gliciliclinas: Uma visão geral**. *Química Nova*. Vol. 33; No.3L 2010.

PESCOD, M.B. *Wastewater Treatment and Use in Agriculture*. FAO irrigation and drainage paper 47. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome, 1992. Disponível em: <<http://www.fao.org/docrep/T0551E/t0551e02.htm>>. Acesso em 20 AGOS. 2014.

PESSÔA, Diego R.; PINTO, Gabriel F.; RUGGIERO, Reinaldo; OLIVEIRA, Carlos A.; GUERRA, Wendell; FONTES, Ana P. S.; TAVARES, Tatiane T.; MARZANO, Ivanna, PEREIRA-MAIA, Elene C. **Coordenação de Metais e Antibióticos como uma Estratégia de Combate à Resistência Bacteriana**. *Quim. Nova*, Vol. 34, nº 1, 111-118: 2011.

PIVELI, R.P. **Qualidade da Água**. Apostila do Curso de Especialização em Engenharia em Saúde Pública e Ambiental da Fac. Saúde Pública – USP, 1996.

POLISEL, Kleber C. **Desempenho de Lagoas de Maturação Utilizando Macrófitas Aquáticas e Chicaneamento**. Tese: Programa de Pós-graduação em Engenharia Civil: Área de Concentração Hidráulica e Saneamento. Escola de Engenharia de São Carlos – Universidade de São Paulo: São Carlos, 2005.

PRADO, Tatiana. **Avaliação da eficiência de um sistema de tratamento de efluente hospitalar por processo anaeróbio na remoção de coliformes, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, resistentes a antibióticos e vírus da Hepatite A**. Fundação Oswaldo Cruz – FIOCRUZ. Escola Nacional de Saúde Pública. Rio de Janeiro: FEV. 2007.

PRUNEAU, M.; MIRCHELL, G.; MOISAN, H.; DUMMONT-BLANCHETTE, E.; JACOB, C. L.; MALOUIN, F. **Transcription analysis of antibiotic resistance and virulence genes in multiresistant hospital acquired MRSA**. *Fems Imonology Medical Microbiology*, 63, 54-64, 2011.

QASIM, S.R. **Wastewater treatment plants: planning, design and operation**. Holt, Rinehart and Winston, New York, 1985.

RECHE, Archivaldo Jr. **A orbifloxacina no tratamento das cistites bacterianas**. *Ciência Rural*, Santa Maria v 35, nº6, 4325-4330, 2005.

RESENDE, Aline C. **Deteção de Microrganismos Presentes no Efluente Hospitalar e na Estação de Tratamento de Esgoto de Goiânia: Presença de Bactérias Gram-negativas Residentes aos Antimicrobianos**. Universidade Católica de Goiás. Curso de Pós-graduação Stricto Sensu (Mestrado em Ciências Ambientais e Saúde). Goiânia: 2009.

RODRIGUES-MOZAZ, Sara; CHAMORRO, Sara; MARTI, Elizabet; HUERTA, Belinda; GROS, Maritxell; SÀNCHEZ-MELSIÓ, Alexandre; BORREGO, Charles M.. BARCEIÓ, Damiá; Balcázar. **Ocurrence of antibiotic and antibiotic resistance genes in hospital and urban wastewaters and their impact on the receiving river**. *Water Research*, vol. 6. February: Pages. 234-242, 2015.

ROSE, M.A; DHAR, A.K; BROOKS, H.A; ZECCHINI, F; GERSBERG, R.M. **Quantitation of hepatitis A virus and enterovirus levels in the lagoon canals and Lido beach of Venice, Italy, using real-time RT-PCR.** Water Research. 40: 2387 – 2396. 2006.

RUTALA, William A. e WEBER, David J. **Guideline for Disinfection and Sterilization in Healthcare Facilities.** Department of Health & Human Services – USA (CDC) Chapel Hill NC: 2008.

SAAE – **SERVIÇO AUTONOMO DE AGUA E ESGOTO DE GUARULHOS.**
Disponível em: <<http://saaewww.saaeguarulhos.sp.gov.br>> Acesso em: AGOS. 2014.

SAMAE – **SERVIÇO AUTONOMO DE ÁGUA E ESGOTO DE IBIPORÃ – PR**
Disponível em: <<http://www.samaeibi.com.br/index.html>> Acesso em: DEZ. 2014.

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, L. H. M. L. M., GROS, M.; RODRIGUES-MOZAZ, S.; DELERUE-MATOS, C.; PENA, A.; BARCELÓ, D. **Contribution of hospital effluents to the load of pharmaceuticals in urban wastewaters: identification of ecologically relevant pharmaceuticals.** Science Total Environmental. 461-462, 302-316. 2013.

SANTOS, Paulo Duran dos. **Eficácia de desinfetantes frente a bactérias sobreviventes a higienização de equipamentos em matadouro frigorífico de bovinos.** Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 2010.

SANTOS, Catherine D.; **Avaliação da Eficiência da Desinfecção Mediante uso de Cloro Gás na ETE INSULAR – Florianópolis-SC.** Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC, Curso de Pós-graduação em Engenharia Sanitária e Ambiental. Florianópolis: 2014.

SANTOS FILHO, L. et al. **Determinação da produção de metalo- β -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.

SFACIOTTE, Ricardo Antonio Pilegi; BORDIN, Jéssica Tainá; VIGNOTO, Vanessa Kelly Capoia; HELLER, Luciana Maffini; PINTO, Adriana Aparecida; MUNHOZ, Patrícia Marques; BARBOSA, Maria José Baptista; WOSIACKI, Sheila Rezler. **Descrição de cepas bacterianas multirresistentes isoladas de equinos.** Revista de Ciência Veterinária e Saúde Pública. Vol.1, Sup. 1: 2014.

SHAHVERDI, Ahmad R.; FAKHIMI, Ali; SHAHVERDI, Hamid R.; MINAIAN, Sara. **Synthesis and effect of silver nanoparticles on the antibacterial activity of different antibiotics against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli***. Journal of Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine. Vol. 3. N. 2: 2007.

SILVA, Patrícia M. F.; FEITOSA, Jefferson P.; PIMENTEL, Mayara Couto; PEREIRA, Heronides dos Santos; CATÃO, Raissa Mayer Ramalho. **Prevalence of hospital-acquired infections caused by *Staphylococcus aureus* and antimicrobial susceptibility profile**. Journal of Nursing UFPE. Vol. 7. No. 8: 2013.

SPANU, Teresa; ANGELIS, Giulia de; CIPRIANI, Michela; PEDRUZZI, Barbara; D'INZEO, Tiziana; CATALDO, Maria Adriana; SGANGA, Gabriele; TACCONELLI, Evelina. **In vivo Emergence of Vancomicine in Multidrug-Resistant *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli***. Journal of Antimicrobial Agents and Chemotherapy. Vol. 56 no.10: 2012.

SOUHILA, Alouache; ESTEPA, Vanessa, MESSAI, Yamina, RUIZ, Elena; TORRES, Carmem; BAKOUR, Rabah. **Characterization of ESBLs and Associated Quinolone Resistance in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* Isolates from urban wastewater treatment plant in Algeria**. Microbial Drug Resistance (Online). Vol 20, 2013.

SOUZA, Jeanette Beber de; VIDAL, Carlos M. de S.; CAVALLINI, Grasielle S.; QUARTZOLI, Larissa; MARCON, Lucas R. C. **Avaliação do emprego de radiação ultravioleta na desinfecção de esgoto sanitário**. Semina: Ciências Exatas e Tecnológicas .V. 33. N.2. p. 117-126: 2012.

STRAUB TM, Chandler DP (2003) **Towards a unified system for detecting waterborne pathogens**. J Microbiol Methods 53:185-97

SAWYER, C.; McCARTY, P. **Chemistry for Environmental Engineering**. McGraw Hill, New York, 1996.

SCARPATE, E. C. B.; COSSATIS, J. J. **A presença da *Klebsiella pneumoniae* produtora de β -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.

SCHNEIDER, Roger Neto; NADVORNY, André; SCHMIDT, Verônica. **Perfil de resistência antimicrobiana de isolados de *Escherichia coli* obtidos de água superficiais e subterrâneas, em áreas de produção de suínos**. Biotemas Vol. 22: 2009.

SIBRAPE – UVC AG01 (Manual Técnico). SIBRAPE: Disponível em: <<http://www.sibrapeuvc.com.br/img/products/files/lamina-ag-tecnico.pdf>> Acesso em: OUT. 2013.

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.

SILVEIRA, I.C.T. **Cloro e ozônio aplicados à desinfecção de efluente hospitalar tratado em contadores biológicos rotatórios, com avaliação de efeitos tóxicos.** Daphnia similis. Porto Alegre: UFRGS, 2011. 173 f.

SMOLYAKOV, R., BORER, A.; RIESENBERG, K.; SCHIAEFFER, F.; ALKAN M.; PORATH, A., RIMAR, D.; ALMOG, Y.; GILAD, J. **Nosocomial multi-drug resistant *Acinetobacter baumannii* bloodstream infection: risk factors and outcome with ampicillin-sulbactam treatment.** Journal of Hospital Infection. Vol. 54: 2003.

SOUZA, J. B.; DANIEL, L. A. **Comparação entre hipoclorito de sódio e ácido peracético na inativação de *E. coli* e *C. perfringens* em água com elevada concentração de matéria orgânica.** Revista Engenharia Sanitária e Ambiental, 10(2):111-117. 2005.

STEIN, Ronei Tiago. **Caracterização e Avaliação do Sistema de Tratamento de Efluentes de uma Indústria Alimentícia, Visando o Reuso.** Centro Universitário UNIVATES: Lageado, NOV. 2012.

SUTTERLIN, Holly A.; ZHANG, Sisi; SILHAVY, Thomas J. **Accumulation of Phosphatidic Acid Increases Vancomycin in *Escherichia coli*.** Journal of Bacteriology. Vol. 196 no. 18: 2014.

SUU, Agnes; JALUKSE, Lauri; LIIGANG, Jaanus; KRUIVE, Anelli; HIMMEL, Daniel; KROSSING, Ingo; ROSÉS, Martí; LEITO, Ivo. **Unified pH Values of Liquid Chromatography Mobile Phases.** Analytical Chemical, 87, 2623-2630, 2015.

TAKEUTI, Marcos R. S. **Avaliação de Desempenho de uma Estação de Tratamento de Esgoto por Lagoas de Estabilização com Chicanas.** Curso de Pós-graduação em Engenharia Civil – Ênfase em Recursos Hídricos e Tecnologias Ambientais. Ilha Solteira – SP: Outubro de 2003.

TELLES, D. A.; COSTA, R. H. P. G. **Reuso da água: conceitos, teorias e práticas.** 1ª edição. São Paulo: Blücher, 2007.

TCHOBANOGLIOUS, George; BURTON, Franklin I.; STENSE, H. David. **Wastewater Engineering: treatment and reuse**. 4th ed: Mc Graw – Hill, New York. 2003.

THOMMANN, R.V.; MUELLER, J.A. **Calibration and Verification of a Mathematical Model of the Eutrophication of the Patomac Estuary**. Report by Hydroqual Inc, Mahwav, NJ, to DES, Dist. Col: 1987.

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

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

U.S. EPA – U. S. Environmental Protection Agency. **Volunteer Estuary Monitoring: A Methods Manual**. Washington, DC, USA: United States Environmental Protection Agency, Office of Water, 2006.

VALENTE, José P. S.; PADILHA, P. M.; SILVA, Assunta M. M.; **Oxigenio Dissolvido (OD), Demanda Biológica de Oxigênio (DBO), Demanda Química de Oxigênio (DQO) como parâmetros de poluição no ribeirão Lavapés/Botucatu – SP**. Eclética Química. Vol. 22. São Paulo: 1997.

VARDAKAS, Konstantinos Z.; TANSARLI, Giannoula S.; BLIZIOTIS, Ioannis A.; FALAGAS, Matthew E. **β -Lactam plus aminoglycoside or fluoroquinolone combination versus β -lactam monotherapy for Pseudomonas aeruginosa infections: A meta-analysis**. International Journal of Antimicrobial Agents. Vol. 41: 2013.

VAZ, Luiz Gustavo de L.; KLEN, Márcia Regina Fagundes; VEIT, Márcia Teresinha; SILVA, Edson Antonio da; BARBIERO, Tatiany Aparecida; BERGAMASCO, Rosângela **Avaliação da Eficiência de Diferentes Agentes Coagulantes na Remoção de Cor e Turbidez em Efluentes de Gavanoplastia**. Eclética química. Vol. 35. n° 4. São Paulo: 2010.

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.

VERLICCHI, P.; GALLETI, A.; MASOTTI, L. **Management of hospital wastewater the case of the effluent of a large hospital situates in a small town**. Water Science Technology, 61, 2507-2519. 2010.

VIANA, Ana Luiza d'Ávila; MELLO, Guilherme Arantes; **A history of public health concepts: integrity, coordination, decentralization, regionalization, and universality.** História, Ciência, Saúde-Manguinhos, vol. 19. no 4. Rio de Janeiro: Oct/Dec: 2012.

VIEIRA, Regine Helena Silva dos Fernandes; ATAYDE, Maylinque Albuquerque, CARVALHO, Edirsana Maria Ribeiro de; CARVALHO, Fátima Cristiane Teles de; FONTELES, Antonio Aduino Filho. **Contaminação fecal da *Crassostrea rhizophorae* e da água de cultivo do estuário do Rio Pacoti (Eusébio, Estado do Ceará): Isolamento e identificação de *Escherichia coli* e sua susceptibilidade a diferentes antimicrobianos.** Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science. Vol. 45, n.3: 2008.

VIDAILAC, Céline; BENICHO, Lothaire; DUVAL, Raphaël E. **In Vitro Synergy of Colistin Combination against Vacuole-Resistant *Acinetobacter* spp., *Pseudomonas aeruginosa*, and *Klebsiella pneumoniae* isolate.** Journal of Antimicrobial Agents and Chemotherapy. Vol. 56: 2012.

VIVIAN, Marcelo; KUNZ, Airton; STOLBERG, Joni; PERDOMO, Carlos; TECHIO, Vânia H. **Eficiência da Interação biodigestor e lagoas de estabilização na remoção de poluentes em dejetos de suínos.** Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental v. 14, n.3. Campina Grande: 2012.

VON SPERLING, Marcos. **Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos.** 3ª Edição, Belo Horizonte – MG, Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental Universidade Federal de Minas Gerais, 2011.

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.

WEN, X., DING, H., HUANG, X., LIU, R. **Treatment of hospital wastewater using a submerged membrane bioreactor.** Process Biochemistry. (39): 1427 – 1431. 2004.

ZHAO, Wei-Hua; HU, Zhi-Qing; OKUBO, Sachie; HARA, Yukihiro; SHIMAMURA, Tadakatsu. **Mechanism of Synergy between Epigallocatechin Gallate and β -lactams against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*.** Journal of Antimicrobial Agents and Chemotherapy. Vol. 45: 2001.

ZHAO, J., Davis, L. C., VERPOORTE, R., **Elicitor signal transduction leading to production of plant secondary metabolites, Biotechnol.** Adv. 2011, vol.23, pp.283–333.