

III-418 - ASPECTOS BACTERIOLÓGICOS DO LIXIVIADO DE RESÍDUOS SÓLIDOS DOMICILIARES DO MUNICÍPIO DO RIO DE JANEIRO E SEU POTENCIAL POLUIDOR

Caroline Esther de Souza Figueira⁽¹⁾

Graduação Tecnóloga em Gestão Ambiental pela Universidade Estácio de Sá (UNESA).

Bianca Ramalho Quintaes⁽¹⁾

Doutora em Processos Químicos e Bioquímicos pela Escola de Química da Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ. Mestre em Microbiologia Médica pela Universidade do Estado do Rio de Janeiro - UERJ. Biologista e Gerente de Divisão da Companhia Municipal de Limpeza Urbana - COMLURB. Professora do Programa de Engenharia Ambiental da Universidade Federal do Rio de Janeiro - PEA/UFRJ.

Marco André Giovannini Hinojosa⁽¹⁾

Microbiologista e Imunologista pela Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ. Especialização em Avaliação Ambiental pela Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP. Biologista da Companhia Municipal de Limpeza Urbana - COMLURB.

Verônica Ramiro Amorim⁽¹⁾

Química Industrial pela Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ. Gerente de Divisão da Companhia Municipal de Limpeza Urbana – COMLURB.

André Luiz Ferreira Menescal Conde⁽¹⁾

Biólogo pela Associação Universitária Santa Ursula. Biologista da Companhia Municipal de Limpeza Urbana - COMLURB.

Endereço⁽¹⁾: Companhia Municipal de Limpeza Urbana– COMLURB. Rua Américo de Souza Braga 647, 22783-385. Rio de Janeiro, Brasil. – Telefone: (21) 24898254 – e-mail: carol.sfigueira@gmail.com

RESUMO

A produção de resíduos sólidos é uma consequência inevitável da atividade humana, não apenas pelo crescimento populacional, mas também pelas mudanças nos padrões de consumo de bens da população e com isso, o seu gerenciamento é importante, pois causa impacto diretamente ao meio ambiente e a saúde pública (Medeiros, J. E. S. F., Paz, A. R., Júnior, J. A. M., 2015; Vergara, Tchobanoglous, 2012). Segundo dados da COMLURB (2016), a maior parte dos resíduos sólidos domiciliares é composta por matéria orgânica, que devido a sua degradação libera dois importantes passivos ambientais, o gás e o lixiviado. O monitoramento do lixiviado gerado é feito através de análises microbiológicas para observar a presença de microrganismos patogênicos e oportunistas (Efuntoye et al, 2011). As espécies dos gêneros *Enterobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Salmonella*, *Serratia*, *Proteus*, *Pseudomonas* e *Staphylococcus* estão entre os principais microrganismos encontrados (Adeyemi et al, 2007; Tena Flores et al., 2007). Por meio de estudos quantitativos da população microbiana e dos agentes patogênicos encontrados no lixiviado e as suas características de patogenicidade, o presente trabalho avaliará a microbiota dos resíduos sólidos domiciliares do município do Rio de Janeiro através de métodos dependentes de cultivo (análises quantitativas de indicadores de contaminação ambiental e pesquisa de enterobactérias e *Staphylococcus aureus*). O padrão microbiano obtido neste estudo pode ser associado ao perfil socioeconômico da população, uma vez que as amostras representam o que é descartado nos bairros do município do Rio de Janeiro e pode caracterizar o potencial poluidor dos resíduos no tocante à saúde pública e ao meio ambiente. Além disso, o trabalho pode contribuir para entender o ambiente de trabalho dos empregados da limpeza urbana e trazer informações à população sobre a importância do bom acondicionamento dos resíduos.

PALAVRAS-CHAVE: Resíduos Sólidos, Lixiviado, Rio de Janeiro, Microrganismos patogênicos, Análises microbiológicas.

INTRODUÇÃO

Segundo um estudo preliminar envolvendo a avaliação ecotoxicológica e microbiana, a caracterização do lixiviado em um aterro sanitário em Ibadan, Nigéria, (Oshode et. al, 2008) revelou o isolamento de microrganismos potencialmente patogênicos e produtores de toxinas. Isso porque a presença de fatores de virulência, particularmente enterotoxinas, reforça o papel de alguns destes isolados como agentes eficazes de doenças de origem alimentar. Além disso, a presença de microrganismos com características de ambiente hospitalar é de grande preocupação para a propagação da resistência antimicrobiana na cadeia alimentar.

Através do estudo quantitativo da população microbiana e dos agentes patogênicos presentes no lixiviado dos resíduos sólidos domiciliares (RSD) e as suas características de patogenicidade, o presente trabalho avaliará a microbiota dos resíduos sólidos domiciliares do município do Rio de Janeiro através de métodos dependentes de cultivo (análises quantitativas de indicadores de contaminação ambiental e pesquisa de enterobactérias e *Staphylococcus aureus*).

O padrão microbiano resultante deste estudo pode ser associado ao perfil socioeconômico da população, uma vez que as amostras representam o que é descartado nos bairros do município do Rio de Janeiro. Após 10 anos de estudo, surgiu à ideia de se ampliar a pesquisa da caracterização bacteriológica dos resíduos sólidos gerados em domicílio, para a verificação do perfil de susceptibilidade frente aos antibióticos como um marcador de patogenicidade. O objetivo é determinar se há microrganismos resistentes ou multirresistentes aos antimicrobianos, caracterizando o potencial poluidor dos resíduos no tocante à saúde pública e ao meio ambiente. Além disso, este estudo pode contribuir para entender o ambiente de trabalho dos empregados da limpeza urbana e trazer informações à população sobre a importância do bom acondicionamento dos resíduos.

OBJETIVOS

Avaliar a composição bacteriológica dos RSD coletados no município do Rio de Janeiro, investigar a presença de indicadores microbianos de poluição e de microrganismos potencialmente patogênicos de importância para a saúde pública e monitorar o ambiente de trabalho dos empregados da limpeza urbana com vistas à biossegurança ocupacional.

MATERIAIS E MÉTODOS

PROCEDÊNCIA DOS RESÍDUOS

As análises foram realizadas no lixiviado gerado nas bacias dos caminhões. A coleta da amostra se deu após o encerramento dos roteiros.

AMOSTRAGEM

De cada Região Administrativa (RA's) pertencente a uma determinada Área de Planejamento (AP) foram escolhidos ao acaso 1 bairros e coletada 1 amostra de cada bairro. Ao todo, serão analisadas 40 amostras. A Tabela 1 mostra os totais de amostras coletadas por AP's e RA's.

Tabela 1: Totais de amostras coletadas por AP's e RA's.

AP's	RA's	Nº de amostras
1	I, II, III, VII e XXIII	5
2	IV, V, VI, VIII e IX	5
3	X, XI, XII, XIII, XIV, XV, XX, XXII, XXV e XXXI	9
4	XVI, XXIV e XXXIV	2
5	XVII, XVIII, XIX, XXVI e XXXIII	5
Total		26

ANÁLISE BACTERIOLÓGICA

Os principais microrganismos indicadores frequentemente utilizados para avaliar a poluição, e em especial a de origem fecal, são *Escherichia coli* e o grupo dos coliformes totais. A detecção de *Salmonella* e a identificação de bactérias entéricas, de *Pseudomonas aeruginosa* e de *Staphylococcus aureus* são parâmetros diferenciais na determinação da diversidade microbiana.

Os procedimentos das análises bacteriológicas serão baseados nas metodologias preconizadas por Environmental Protection Agency – EPA, American Public Health Association – APHA e pela Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental – CETESB. As densidades de Coliformes Totais e *E. coli* serão expressas em números mais prováveis por 100 mL de amostra (NMP/100mL) e determinadas pela Técnica dos Tubos Múltiplos. As ocorrências de *Staphylococcus aureus* e de *Salmonella* e outras enterobactérias serão registradas como presença ou ausência.

PESQUISA DE ENTEROBACTÉRIAS

Para o isolamento de enterobactérias, um inóculo retirado da amostra de lixiviado foi transferido para ágar eosina azul de metileno (ágar EMB) e semeado pela técnica de esgotamento, em duplicata, seguido de incubação a 35-37°C por 24 horas.

As colônias suspeitas foram selecionadas e a identificação das espécies bacterianas foi obtida a partir das características fenotípicas fornecidas por provas bioquímicas convencionais de acordo com o Manual da ANVISA (2013) para detecção e identificação de bactérias de importância médica, que indica os seguintes testes como principais na identificação de enterobactérias: oxidase, fermentação da lactose, fermentação da glicose, descarboxilação da L-lisina, produção de gás, utilização do citrato como única fonte de carbono, produção de indol, produção de gás sulfeto de hidrogênio (H₂S), produção de urease, produção de fenilalanina desaminase e motilidade. Como provas complementares, foram empregados os testes da beta galactosidase (ONPG), descarboxilação da ornitina, fermentação da arabinose e desaminação do triptofano. A confirmação da identificação foi realizada com o auxílio do programa para detecção das similaridades entre as espécies, oferecido pelo Sistema API.

A pesquisa de *Salmonella* teve por base a ISO 6579:2002. Consistiu no enriquecimento seletivo de 1mL da amostra bruta em 10mL de caldo tetracionato de Kauffmann, adicionado de solução aquosa de iodo e solução de verde brilhante a 0,1% e incubados a 35°C ± 0,5 por 18 a 24 horas. Após incubação, um inóculo do caldo foi transferido para placas com os meios seletivos-indicadores ágar *Salmonella-shigella* (ágar SS) e ágar xilose lisina desoxicolato (XLD), seguido de incubação a 35-37°C por 24 horas. Colônias indicativas de *Salmonella* foram confirmadas através de testes de aglutinação em lâmina empregando-se soro polivalente “O” (Probac do Brasil Produtos Bacteriológicos Ltda.).

PESQUISA DE *Staphylococcus aureus*

A ocorrência de *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) foi registrada como presença ou ausência. Com o método de enriquecimento seletivo, 10mL do lixiviado bruto foram transferidos para caldo manitol salgado, seguido de incubação a $36^{\circ}\text{C} \pm 0,5 / 24 \text{ h}$. Após esse período, a cultura foi semeada em ágar manitol salgado com gema de ovo (20g/1 L), em triplicata, acompanhado de incubação a $36^{\circ}\text{C} \pm 0,5$ por um período de 24h (MC FADDIN, 1977). As colônias que se apresentavam amarelas translúcidas circundadas por halo de precipitação foram submetidas ao teste da catalase e da coagulase (NASCIMENTO *et al.*, 2009). Como controle positivo foram utilizadas estirpes de *S. aureus* (ATCC 6538) e como controle negativo foi empregado *Enterococcus faecalis* (ATCC 11700).

A Figura 1 mostra a sequencia de atividades relacionadas à metodologia de coleta e análise bacteriológica do lixiviado de RSD.



Figura 1: Metodologia de coleta e análise bacteriológica do lixiviado de RSD.

RESULTADOS

ANÁLISE COLIMÉTRICA

A Tabela 2 mostra os resultados das análises bacteriológicas de 2016 nas Áreas de Planejamento (AP) amostradas. Houve elevada incidência de coliformes totais e *Escherichia coli* em todos os bairros avaliados.

Tabela 2: Resultados das análises bacteriológicas do Rio de Janeiro em 2016.

AP	Origem Bairro	Coliformes Totais	E. Coli	OUTRAS ENTEROBACTÉRIAS											Pseudomonas aeruginosa	
				Kp	Ko	Pm	Pv	Ec	Ea	Cd	Cf	Pr	Et	Mn		
1	Benfica	5,0 x10 ⁹	2,2 x10 ⁹	x		x		x								AUSENTE
	Rio Comprido	3,0 x10 ⁹	5,0 x10 ⁸	x	x	x										3,0 x10 ⁶
	Caju	1,3 x10 ⁹	3,5 x10 ⁸	x		x		x								1,4 x10 ⁶
	Santa Teresa	1,1 x10 ¹⁰	1,4 x10 ⁹	x												AUSENTE
	Centro	3,0 x10 ⁸	3,0 x10 ⁸	x					x							AUSENTE
	MÉDIA	4,1x10⁹	9,5x10⁸	5	1	3	-	3	-	6,8x10⁵						
2	Leblon	9,0x10 ⁶	0,0E+00	x	x											AUSENTE
	Copacabana	7,0x10 ⁶	2,0x10 ⁶													2,4 x10 ⁴
	Tijuca	8,0x10 ⁶	1,1x10 ⁸	x		x										8,0 x10 ⁶
	Andaraí	2,2x10 ⁷	2,2x10 ⁷					x								1,7 x10 ⁶
	Humaitá	9,0x10 ⁹	5,0x10 ⁹	x			x									AUSENTE
	MÉDIA	1,6x10⁹	1,0x10⁹	3	1	1	1	1	-	1,9x10⁶						
3	Cocotá	2,3x10 ⁷	2,3x10 ⁷													AUSENTE
	Piedade	2,6x10 ⁹	3,0x10 ⁸	x	x											1,7 x10 ⁶
	Penha Circular	1,3x10 ⁹	1,7x10 ⁸	x												AUSENTE
	Barros filho	5,0x10 ⁹	3,0x10 ⁸	x		x										AUSENTE
	Irajá	1,7x10 ⁹	7,0x10 ⁸	x		x										2,8 x10 ⁶
	Bonsucesso	3,0x10 ⁷	3,0x10 ⁷	x												2,6 x10 ³
	Anchieta	5,0x10 ⁶	1,3x10 ⁸		x								x			1,7 x10 ⁴
	Jardim America	5,0x10 ⁹	1,7x10 ⁸	x												2,8 x10 ⁴
	Honório Gurgel	1,1x10 ⁹	1,1x10 ⁹			x										8,0 x10 ⁵
	MÉDIA	4,5x10⁹	1,7x10⁹	6	3	2	-	-	-	-	-	-	1	-	-	5,9x10⁵
4	Curicica	2,3x10 ¹⁰	5,0x10 ⁹	x												AUSENTE
	Barra da Tijuca	5,0x10 ⁹	8,0x10 ⁸	x				x								AUSENTE
	MÉDIA	1,4x10¹⁰	2,9x10⁹	2	-	-	-	1	-	AUSENTE						
5	Inhoaíba	2,8x10 ¹⁰	5,0x10 ⁸	x				x								AUSENTE
	Guaratiba	1,3x10 ¹⁰	8,0x10 ⁹	x				x								AUSENTE
	Sepetiba	5,0x10 ¹⁰	7,0x10 ⁷		x			x								8,0 x10 ¹
	Padre Miguel	1,4x10 ⁶	1,1x10 ⁷	x		x										2,3 x10 ³
	Realengo	1,3x10 ⁷	1,3x10 ⁷	x												AUSENTE
	MÉDIA	1,7x10⁹	6,6x10⁸	4	1	1	-	3	-	4,8x10²						

Kp= *K. pneumoniae* Ko =*K. oxytoca* Pm = *P. mirabilis* Pv = *P. vulgaris* Ec =*E. cloacae* Ea = *E. aerogenes* Cd = *C. diversus* Cf = *C. freündii* Pr =*Providencia* sp

Na Figura 2 pode-se observar também que as densidades de Coliformes totais e *Escherichia coli* mostram semelhanças entre as 5 AP's amostradas.

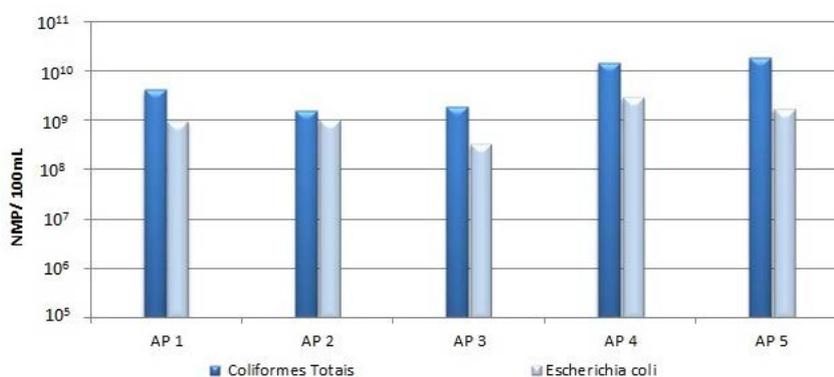


Figura 2: Densidade de coliformes totais e *Escherichia coli* das 5 AP's amostradas

Resultados prévios revelam uma homogeneidade nos valores obtidos para parâmetros de contaminação de origem fecal ao longo dos anos de 2005 a 2016, como visto na Figura 3.

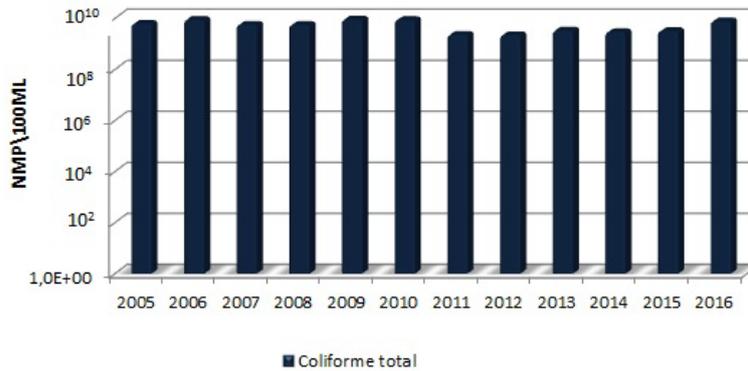


Figura 3: densidade de coliformes observada na serie histórica de 2005 a 2016

Comparando-se as áreas de planejamento amostradas, ao longo dos anos (2005 a 2015), observa-se que os resultados revelam uma homogeneidade nos valores obtidos com as determinações de Coliformes totais (Figuras 4 a 8).

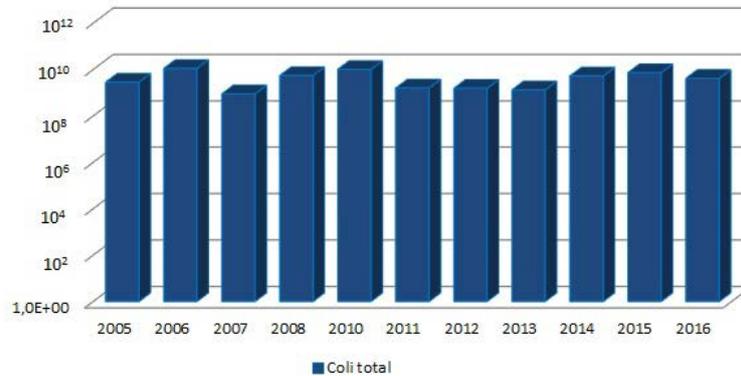


Figura 4: Densidades médias de Coliformes totais da Área de Planejamento 1 no período de 2005 a 2016

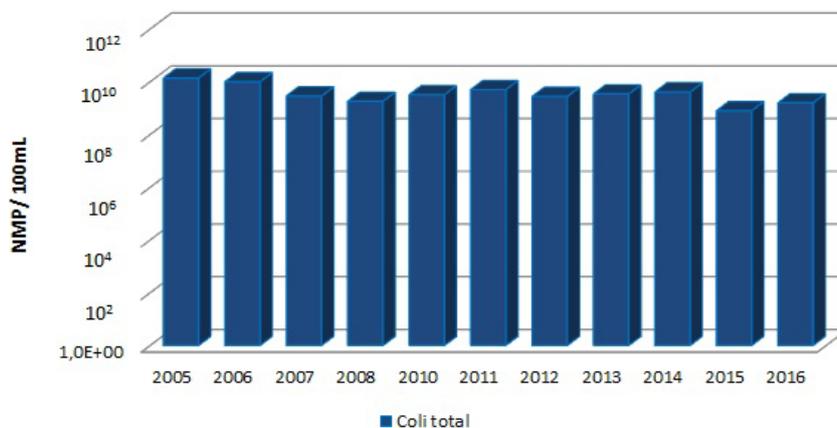


Figura 5: Densidades médias de Coliformes totais da Área de Planejamento 2 no período de 2005 a 2016

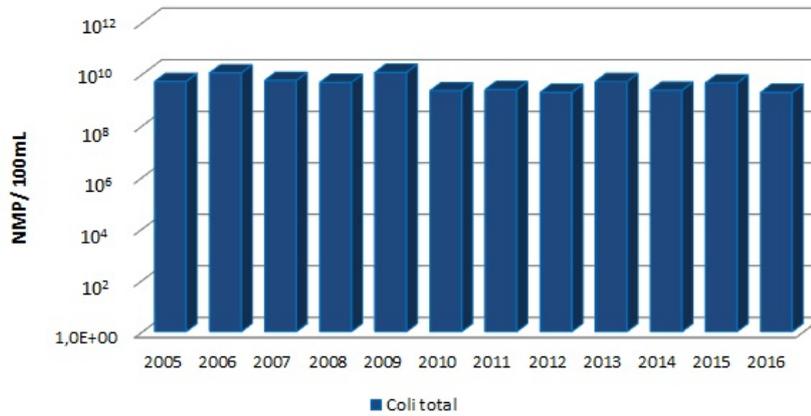


Figura 6: Densidades médias de Coliformes totais da Área de Planejamento 3 no período de 2005 a 2016

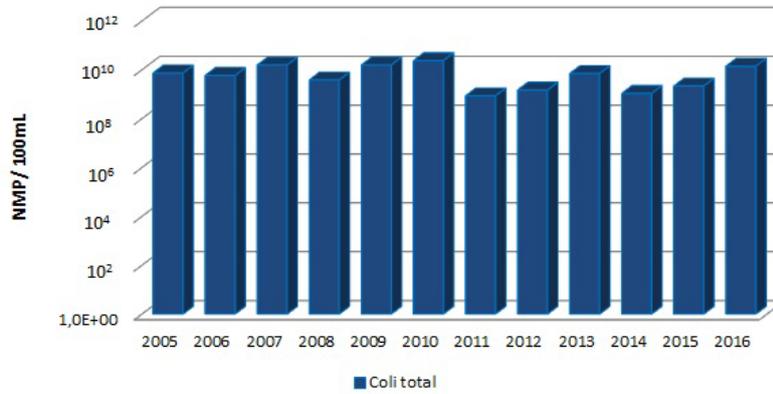


Figura 7: Densidades médias de Coliformes totais da Área de Planejamento 4 no período de 2005 a 2016

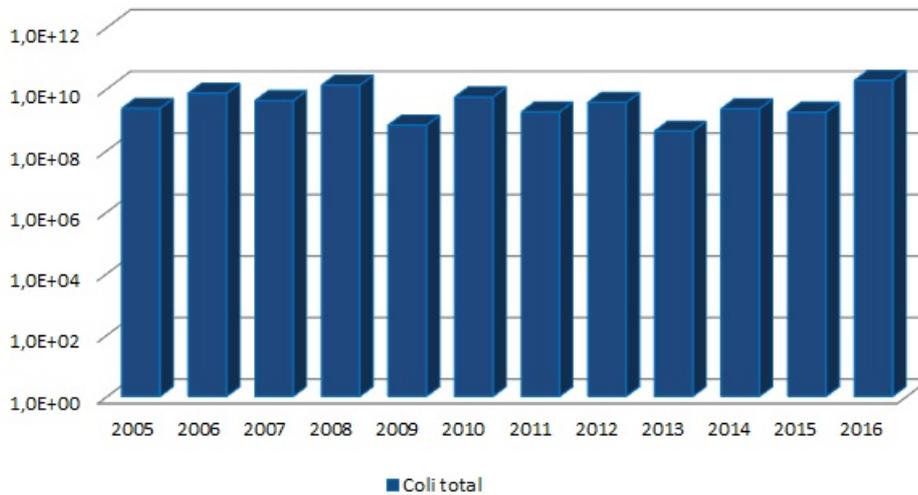


Figura 8: Densidades médias de Coliformes totais da Área de Planejamento 5 no período de 2005 a 2016

A mesma homogeneidade foi observada nos grupos de bactérias identificadas, havendo a prevalência de 3 espécies de importância sanitária: *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis* e *Klebsiella pneumoniae*. A análise em conjunto desses resultados, ou seja, a presença dos enteropatógenos, de coliformes totais e *Escherichia coli* em números que chegam a ordem de 10^9 bactérias/100mL no lixiviado, confirmam a presença de matéria fecal no RSD.

A presença de microrganismos entéricos foi observada em todas as amostras coletadas já que os resíduos são um retrato da microbiota do corpo humano e dos alimentos.

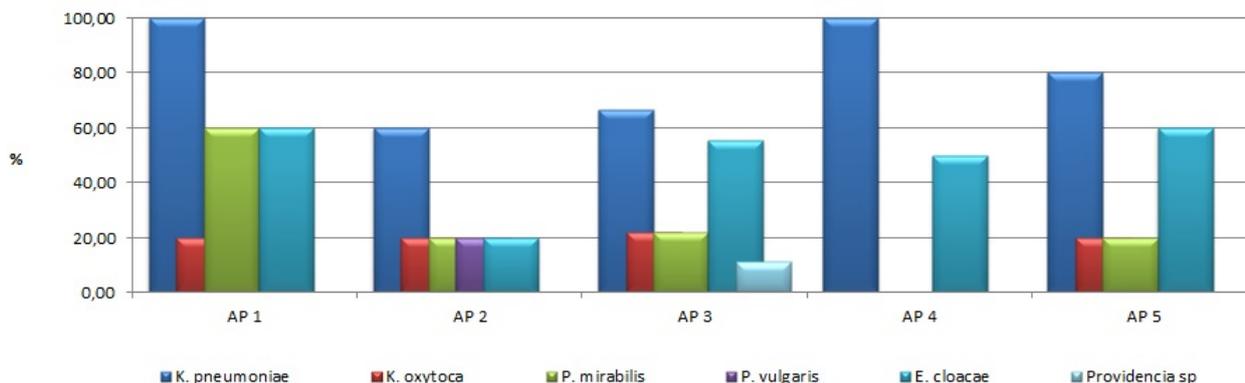


Figura 9: Porcentagem de bactérias entéricas isoladas do lixiviado.

CONCLUSÃO

O presente estudo mostra um panorama sobre a microbiota dos RSD no município do Rio de Janeiro e pode-se afirmar que os resíduos sólidos gerados em domicílio estão contaminados com microrganismos patogênicos, configurando potencial de risco à saúde humana e ao ambiente, se mal gerenciados e dispostos inadequadamente.

Para evitar ou mesmo reduzir significativamente tais riscos, faz-se necessário: o acondicionamento correto dos RSD em sacos plásticos apropriados, a coleta e o transporte em veículos adequados, o tratamento em unidades específicas como no caso das usinas ou centros de reciclagem (com ou sem compostagem), a destinação final em aterros sanitários, como também o uso permanente de equipamentos de proteção individual (EPIs) por parte dos empregados da limpeza urbana.

Não foi possível provar que a composição física variada dos resíduos, comprovadamente influenciada pelo padrão socioeconômico do bairro, tem influência no perfil microbiano uma vez que não houve diversidade quanto ao perfil de bactérias isoladas e a sua densidade.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ADEYEMI, O., O.B. OLOYEDE AND A.T. OLADIJI, 2007. Physicochemical and microbial characteristics of leachate-contaminated groundwater. *Asian J. Biochem.*, 2: 343-348
2. American Public Health Association – APHA, AWWA, WPCF, Standard Methods for the Examination of Water and Waste Water, 21th Ed., 2005.
3. ANVISA (2013) Agência Nacional de Vigilância Sanitária Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde. Módulo 6 : Detecção e identificação de bactérias de importância médica /Agência Nacional de Vigilância Sanitária.– Brasília: Anvisa, 2013. 150p.: il.9 volumes
4. CLSI – Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. M100 – S22, 2014

5. CETESB – Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. Coliformes termotolerantes – determinação pela técnica de tubos múltiplos com meio A1 – método de ensaio. L5.406. CETESB, São Paulo. 2007. 16p.
6. EFUNTOYE, M. O., BAKARE, A. A., SOWUNMI, A. A. Virulence factors and antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus* and *Clostridium perfringens* from landfill leachate. African Journal of Microbiology Research, v. 523, p.3994-3997, 2011.
7. Environmental Protection Agency – EPA
8. FLORES-TENA, F.J., GUERRERO-BARRERA, A.L., AVELAR-GONZALEZ, F.J., RAMIREZLOPEZ, E.M.; MARTINEZ-SALDANA, M.C. Pathogenic and opportunistic gram-negative bacteria in soil, leachate and air in San Nicolas landfill at Aguascalientes, Mexico. Rev. Latinoam Microbiol., v.49, n.1-2, p.25-30, 2007.
9. MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; DUNLAP, P. V.; CLARK, D. P. Microbiologia de Brock. 12aed. Artmed, Porto Alegre, 1160p, 2010.
10. Mc FADDIN, J. F. Biochemical tests for identification of medical bacteria. Williams e Wilkins Company Baltimore, 930p. 1977.
11. NASCIMENTO, T. C.; JANUZZI, W.A.; LEONEL, M.; SILVA, V. L.; DINIZ, C. G. Ocorrência de bactérias clinicamente relevantes nos resíduos de serviço de saúde em um aterro sanitário brasileiro e perfil de susceptibilidade a antimicrobianos. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, v. 42, n. 4, p. 415-419, 2009.
12. OSHODE, O.A.; BAKARE, A.A.; ADEOGUN, A.O.; EFUNTOYE, M.O.; SOWUNMI, A. A. Ecotoxicological assessment Using *Clarias gariepinus* and microbial characterization of leachates from municipal solid waste landfill. Int. J. Environ. Res., v.2, n.4, p.215 -225, 2008.