

KARINA MEDICI BARRELLA

**AVALIAÇÃO DE BACTÉRIAS PATOGÊNICAS
EM PERCOLADO DE RESÍDUO HOSPITALAR
INFECCIOSO PADRÃO**

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de mestre, pelo Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental – Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, do Centro Tecnológico da Universidade Federal de Santa Catarina.

Orientador: Sebastião Roberto Soares

**FLORIANÓPOLIS
2002**

“É importante termos em mente que as explicações científicas do mundo natural são constituídas com base em certas suposições simplificadas para descrevermos os fenômenos que observamos. Como todas as nossas criações, a Ciência também tem suas limitações, funcionando de modo extremamente eficiente dentro de suas fronteiras”.

Marcelo Gleiser

“O mundo é uma ponte; atravessa-a, mas não construas uma casa sobre ela”.

Sidarta Gautama
(Buda)

Aos meus pais, Cecília e Gaetano,
meus avós, Albino e Tranqüila e
aos meus tios Angela e Wagner,
Alberto e Glória, que sempre acreditaram
em mim. Sem o amor, o carinho e o apoio
financeiro de vocês, eu não teria chegado aqui.

AGRADECIMENTOS

Ao Orientador, pelo apoio prestado ao longo do trabalho desenvolvido.

À Bióloga Kelli C. G. Alves e aos bolsistas de iniciação científica Anderson R. Miranda e Andreza Martins, pela amizade, paciência, esforço e apoio nos momentos difíceis.

À UFSC, e à Coordenadoria de Pós-Graduação da Engenharia Sanitária e Ambiental pela oportunidade concedida para realização dos estudos.

Ao CNPq e FINEP pela colaboração no custeio da montagem e manutenção do laboratório de microbiologia e divulgação da pesquisa, incluída no PROSAB 2, Tema 3: Projeto de Valorização de Componentes de Resíduos Sólidos de Coletas Especiais, Subprojeto 1.

Ao Laboratório Integrado do Meio Ambiente – LIMA – do Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental no auxílio prestado.

Ao Centro de Microscopia Eletrônica (CME) do Centro Politécnico da Universidade Federal do Paraná, por ter possibilitado a realização das fotos em microscopia eletrônica (varredura e transmissão), pelo auxílio e extrema gentileza de todos os funcionários, em especial à Bióloga D^{ra}. Daura R. E. Stofella, que com paciência explicou os procedimentos no preparo das amostras e no atendimento e escolha das melhores técnicas a serem empregadas.

Ao Laboratório de Análises da Universidade do Extremo Sul Catarinense – UNESC, pela realização das análises químicas, em especial à Engenheira Química M^a. Glória S. Santos.

Aos funcionários da FAPEU pela boa-vontade e agilidade durante todo o trabalho, principalmente por parte da Fabrícia e do Luciano.

Ao Químico Nilton César Pereira pelas fotos realizadas no laboratório.

À Bioquímica Cristina M. M. Oliveira na consultoria prestada sobre a montagem do laboratório, escolha de equipamentos e materiais a serem adquiridos, bem como no auxílio durante o experimento.

Ao Dagoberto, da empresa Dist, por sempre “socorrer-nos” quando algum equipamento dava problema, e no auxílio na solução de dúvidas quanto à aquisição e uso de equipamentos, vidrarias, etc.

Ao pessoal da secretaria da pós-graduação pelo apoio.

À Liliana e à Fabrice, companheiras de “república”, que se tornaram grandes amigas e estarão sempre em meu coração, por mais distante que eu esteja.

Ao meu irmão, Carlo, pelo apoio e torcida, ainda que feitos a distancia.

Aos amigos que tiveram uma enorme paciência comigo nos momentos de maior estresse e solidão, meu carinho e amor especial a todos: Ananda, Anderson, Andréia, Angélica, Antonio, Cacau e Carlos, Cátia, Cris (Pietá), Cristina, Débora, Débora Lim, Denise, Denise (Prof^a), Déo, Elis, Elivete, Érika, Fabi, Fabiane, Fernanda, Flavinho, Flávio, Francine, Giancarlo, Giuliana, Glades, Grasiela, Helen, João, Joaquim, Joel, Joseli, Kátia, Léo e Neyta, Legbara de Ògún, Ògún

Lourival e família, Luciano, Mara, Marcelo e Camila, Márcia, Márcia (Porto Alegre), Márcia (Esteio), Márcio, Maria Cristina, Maria Elisa, Maria Elisa (PROSAB), Marisa (Fadinha), Mazi, Paulo, Raquelzinha, Rebeca, Ricardo, Roberto Carneiro, Ruan, Samuel, Silvana, Sílvia, Sílvia, Ubirajara, Vitória e Ximena.

Enfim, a todo aquele que, de uma forma ou de outra, mesmo sem saber, contribuiu para o desenvolvimento deste trabalho, muito obrigada 😊.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	vii
LISTA DE QUADROS	x
LISTA DE TABELAS	xi
LISTA DE REDUÇÕES	xii
RESUMO	xiv
ABSTRACT	xv
1 INTRODUÇÃO	1
1.1 JUSTIFICATIVAS	5
1.2 OBJETIVOS	6
2 REFERENCIAL BIBLIOGRÁFICO	7
2.1 RESÍDUOS SÓLIDOS DE SERVIÇOS DE SAÚDE	7
2.1.1 Definições e Classificações	7
2.1.2 Geração dos Resíduos Sólidos de Serviços de Saúde	12
2.1.3 Os Resíduos Infeciosos	14
2.1.3.1 Composição gravimétrica do Resíduo Hospitalar Infecioso.....	16
2.1.3.2 Acondicionamento.....	18
2.1.3.3 Coleta interna e coleta externa.....	18
2.1.3.4 Armazenamento de RSSS.....	19
2.1.3.5 Tratamento e disposição final dos Resíduos Sólidos de Serviços de Saúde	19
2.1.3.7 Riscos associados à disposição de resíduos.....	21
2.1.3.8 Legislação	22
2.1.3.9 Exemplos da atual situação brasileira.....	24
2.2 INFEÇÃO HOSPITALAR	25
2.3 BACTÉRIAS PRESENTES EM RESÍDUOS SÓLIDOS DE SERVIÇOS DE SAÚDE	26
2.4 O CHORUME	27
2.5 ESTUDOS REALIZADOS EM ESCALA REAL	29
2.6 ESTUDOS REALIZADOS EM ESCALA LABORATORIAL	30
2.7 AS BACTÉRIAS	31
2.7.1 Estruturas Internas e Externas	31
2.7.2 Crescimento Bacteriano.....	33
2.7.3 Nutrientes Necessários ao Crescimento Bacteriano	36
2.7.4 Condições Físicas para o Crescimento Bacteriano.....	36
2.7.4.1 Dióxido de Carbono e Oxigênio.....	36
2.7.4.2 Potencial hidrogeniônico	37
2.7.4.3 - Temperatura	37
2.7.5 Cultivo em Laboratório	37
2.8 CARACTERÍSTICAS DOS MICRORGANISMOS	39
2.8.1 <i>Escherichia coli</i> (MIGULA, 1895) Castellani & Chalmers 1919 ^{AL}	39
2.8.2 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (SCHROETER 1872) Migula 1900	41
2.8.3 <i>Staphylococcus aureus</i> (ROSENBAACH 1884 ^{AL})	43
3 MATERIAIS E MÉTODOS	46
3.1 LOCAL E PERÍODO DE ESTUDO	49
3.2 REATOR DE FLUXO CONTÍNUO	49
3.3 RESÍDUO UTILIZADO	51
3.4 TESTE DE ESTERILIDADE DA FRAÇÃO LÍQUIDA DO RESÍDUO TIPO ..	52
3.5 PREPARO DA SOLUÇÃO INÓCULO	52

3.6 MONTAGEM DO RESÍDUO NO REATOR.....	54
3.7 CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS	55
3.8 CONTAGEM BACTERIANA.....	61
3.9 ANÁLISES REALIZADAS.....	63
3.10 PROCEDIMENTOS ANALÍTICOS.....	63
3.10.1 Oxigênio Dissolvido, pH e Carbono Orgânico Total	64
3.10.2 Análises Químicas de Nitrogênio e Fósforo.....	64
3.10.3 Vazão	64
3.10.4 Concentração dos Microrganismos	65
4 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	66
4.1 pH E OXIGÊNIO DISSOLVIDO	66
4.2 CARBONO ORGÂNICO TOTAL	71
4.3 ANÁLISES DE NITROGÊNIO E FÓSFORO.	72
4.4 VAZÃO APLICADA.....	72
4.5 AVALIAÇÃO DO CRESCIMENTO DE MICRORGANISMOS PATOGENICOS NOS PERCOLADOS	74
4.5.1 Série I.....	74
4.5.2 - Série II.....	77
4.5.3 - Série III.....	79
4.5.4 Comparação do Comportamento de Cada Espécie nas Séries.	82
4.5.5 Adesão dos Microrganismos ao Resíduo Infecioso Padronizado.....	88
5 CONCLUSÕES	99
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	101

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - ESQUEMA MOSTRANDO AS ESTRUTURAS INTERNAS E EXTERNAS DE UMA BACTÉRIA.....	32
FIGURA 2 – FOTOGRAFIA DE MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE BACTÉRIA MOSTRANDO PAREDE CELULAR, RIBOSSOMOS E MATERIAL NUCLEAR	32
FIGURA 3 – CURVA DE CRESCIMENTO BACTERIANO TÍPICA	34
FIGURA 4 – ESQUEMA DO REATOR DE FLUXO CONTÍNUO.....	50
FIGURA 5 – FOTOGRAFIA DOS FRASCOS CONTENDO AS CEPAS LIOFILIZADAS UTILIZADAS NO EXPERIMENTO	53
FIGURA 6 – FOTOGRAFIA MOSTRANDO ESTRIAS PARA OBTENÇÃO DE COLÔNIAS ISOLADAS EM PLACAS COM MEIO MUELLER HINTON® ...	53
FIGURA 7 – FOTOGRAFIA DA DISPOSIÇÃO DO RESÍDUO PADRÃO NO REATOR E DETALHE DO DISPOSITIVO DE VIDRO PARA DISTRIBUIÇÃO HOMOGÊNEA DE ÁGUA	55
FIGURA 8 – FOTOGRAFIA DA DISPOSIÇÃO DO REATOR DENTRO DA ESTUFA DBO.....	57
FIGURA 9 – COLETA DO PERCOLADO IMEDIATO	58
FIGURA 10 – FOTOGRAFIA DA PREPARAÇÃO PARA REALIZAÇÃO DAS DILUIÇÕES DOS PERCOLADOS	58
FIGURA 11 – FOTOGRAFIA DO TUBO DE ENSAIO COM PERCOLADO E DILUIÇÕES	59
FIGURA 12 – FOTOGRAFIA DA ESTUFA BACTERIOLÓGICA COM PLACAS INCUBADAS	60
FIGURA 13 – FOTOGRAFIA DAS COLÔNIAS OBTIDAS APÓS 24 HORAS DE INCUBAÇÃO A 36 °C EM MEIO DE CULTURA SELETIVO.....	62
FIGURA 14 – GRÁFICO COM VALORES DE pH DO PERCOLADO IMEDIATO DAS SÉRIES ISOLADAS	67
FIGURA 15- GRÁFICO COM VALORES DE pH DO PERCOLADO IMEDIATO DAS SÉRIES I A III.....	67
FIGURA 16 - GRÁFICO COM VALORES DE pH DO PERCOLADO ACUMULADO NAS SÉRIES ISOLADAS	69
FIGURA 17 – GRÁFICO COM VALORES DE pH DO PERCOLADO ACUMULADO NAS SÉRIES I A III.....	69
FIGURA 18 – GRÁFICO COM VALORES DE OXIGÊNIO DISSOLVIDO (OD) DO PERCOLADO IMEDIATO NAS SÉRIES ISOLADAS	70
FIGURA 19 – GRÁFICO COM VALORES DE OXIGÊNIO DISSOLVIDO (OD) DO PERCOLADO IMEDIATO NAS SÉRIES i A III	70
FIGURA 20 - GRÁFICO COM VALORES DE OXIGÊNIO DISSOLVIDO (OD) DO PERCOLADO ACUMULADOS NAS SÉRIES ISOLADAS.....	71
FIGURA 21 - GRÁFICO COM VALORES DE OXIGÊNIO DISSOLVIDO (OD) DO PERCOLADO ACUMULADO DAS SÉRIES I A III.....	71
FIGURA 22 – GRÁFICO DA VAZÃO DIÁRIA APLICADA DURANTE AS SÉRIES I A III DO RESÍDUO TIPO.....	73
FIGURA 23 - GRÁFICOS DAS VAZÕES DIÁRIAS APLICADAS DURANTE AS SÉRIES ISOLADAS	73
FIGURA 24- GRÁFICO COM CRESCIMENTO BACTERIANO NO PERCOLADO IMEDIATO DURANTE A SÉRIE I	75

FIGURA 25 - GRÁFICO COM CRESCIMENTO BACTERIANO NO PERCOLADO ACUMULADO DURANTE A SÉRIE I.....	76
FIGURA 26 – GRÁFICO DE COMPARAÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES DO PERCOLADO IMEDIATO COM O RESÍDUO	76
FIGURA 27 - GRÁFICO COM CRESCIMENTO BACTERIANO NO PERCOLADO IMEDIATO DURANTE A SÉRIE II.....	77
FIGURA 28 - GRÁFICO COM CRESCIMENTO BACTERIANO NO PERCOLADO ACUMULADO DURANTE A SÉRIE II	78
FIGURA 29 - GRÁFICO DE COMPARAÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES DO PERCOLADO IMEDIATO COM O RESÍDUO	78
FIGURA 30- GRÁFICO COM CRESCIMENTO BACTERIANO NO PERCOLADO IMEDIATO DURANTE A SÉRIE III	79
FIGURA 31 - GRÁFICO COM CRESCIMENTO BACTERIANO NO PERCOLADO ACUMULADO DURANTE A SÉRIE III.....	80
FIGURA 32 - GRÁFICO DE COMPARAÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES DO PERCOLADO IMEDIATO COM O RESÍDUO.....	80
FIGURA 33 - GRÁFICO COM CONCENTRAÇÕES DE <i>Escherichia coli</i> DO PERCOLADO IMEDIATO	83
FIGURA 34 – GRÁFICO COM CONCENTRAÇÕES DE <i>Escherichia coli</i> DO PERCOLADO ACUMULADO	84
FIGURA 35 - GRÁFICO COM CONCENTRAÇÕES DA <i>Pseudomonas aeruginosa</i> DO PERCOLADO IMEDIATO.....	85
FIGURA 36 – GRÁFICO COM CONCENTRAÇÕES DA <i>Pseudomonas aeruginosa</i> DO PERCOLADO ACUMULADO	85
FIGURA 37 - GRÁFICO COM CONCENTRAÇÕES DE <i>Staphylococcus aureus</i> DO PERCOLADO IMEDIATO	87
FIGURA 38 - GRÁFICO COM CONCENTRAÇÕES DE <i>Staphylococcus aureus</i> DO PERCOLADO ACUMULADO	87
FIGURA 39 - GRÁFICO DE COMPARAÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES DO PERCOLADO IMEDIATO DAS SÉRIES ISOLADAS COM O RESÍDUO	88
FIGURA 40– FOTOGRAFIA DE MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO MOSTRANDO A BACTÉRIA <i>E. coli</i> , PROVENIENTE DE RESÍDUO HOSPITALAR INFECCIOSO PADRONIZADO	89
FIGURA 41 – FOTOGRAFIA DE MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO COM DUAS BACTÉRIAS <i>E. coli</i> PROVENIENTES DE RESÍDUO HOSPITALAR INFECCIOSO PADRONIZADO	89
FIGURA 42 – FOTOGRAFIA DE MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO MOSTRANDO <i>Pseudomonas aeruginosa</i> PROVENIENTE DE RESÍDUO HOSPITALAR INFECCIOSO PADRONIZADO	90
FIGURA 43 – FOTOGRAFIA DE MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO MOSTRANDO TRÊS BACTÉRIAS <i>Pseudomonas aeruginosa</i> PROVENIENTES DE RESÍDUO HOSPITALAR INFECCIOSO PADRONIZADO	90
FIGURA 44 – FOTOGRAFIA DE <i>Escherichia coli</i> SOBRE UM FRAGMENTO DE ESPARADRAPO PROVENIENTE DE RESÍDUO SÓLIDO HOSPITALAR INFECCIOSO PADRONIZADO VISTAS EM M.E.V.. AUMENTO DE 1853X	91
FIGURA 45 – FOTOGRAFIA COM BACTÉRIAS <i>Escherichia coli</i> SOBRE UM FRAGMENTO DE GAZE PROVENIENTE DE RESÍDUO HOSPITALAR INFECCIOSO PADRONIZADO, VISTAS EM M.E.V. AUMENTO DE 1010X	92

FIGURA 46 – FOTOGRAFIA COM BACTÉRIAS <i>Escherichia coli</i> SOBRE UM FRAGMENTO DE GAZE PROVENIENTE DE RESÍDUO HOSPITALAR INFECCIOSO PADRONIZADO, VISTAS EM M.E.V.. AUMENTO DE 1262X.	92
FIGURA 47 – FOTOGRAFIA COM BACTÉRIAS <i>Escherichia coli</i> SOBRE UM FRAGMENTO DE PLÁSTICO PROVENIENTE DE RESÍDUO HOSPITALAR INFECCIOSO PADRONIZADO, VISTAS EM M.E.V.. AUMENTO DE 1853X.	93
FIGURA 48 – FOTOGRAFIA COM BACTÉRIAS <i>Escherichia coli</i> SOBRE UM FRAGMENTO DE PLÁSTICO, PROVENIENTE DE RESÍDUO HOSPITALAR INFECCIOSO PADRONIZADO, VISTA EM M.E.V.. AUMENTO DE 1853X.	93
FIGURA 49 – FOTOGRAFIA COM BACTÉRIAS <i>Pseudomonas aeruginosa</i> SOBRE UM FRAGMENTO DE ESPARADRAPO, PROVENIENTE DE RESÍDUO HOSPITALAR INFECCIOSO PADRONIZADO, VISTA EM M.E.V.. Aumento de 1568x	94
FIGURA 50 – FOTOGRAFIA COM <i>P. aeruginosa</i> SOBRE UM FRAGMENTO DE ESPARADRAPO, PROVENIENTE DE RESÍDUO HOSPITALAR INFECCIOSO PADRONIZADO, VISTAS EM M.E.V., AUMENTO DE 1853 VEZES.....	95
FIGURA 51 – FOTOGRAFIA MOSTRANDO <i>P. aeruginosa</i> SOBRE UM FRAGMENTO DE ESPARADRAPO, PROVENIENTE DE RESÍDUO HOSPITALAR INFECCIOSO PADRONIZADO, VISTAS EM M.E.V.. AUMENTO DE 1853X.....	95
FIGURA 52 – FOTOGRAFIA MOSTRANDO <i>P. aeruginosa</i> SOBRE UM FRAGMENTO DE GAZE, PROVENIENTE DE RESÍDUO HOSPITALAR INFECCIOSO PADRONIZADO, VISTAS EM M.E.V.. AUMENTO DE 1704X. NOTAR QUE MATERIAL ESTÁ BASTANTE FRAGILIZADO.....	96
FIGURA 53 – FOTOGRAFIA MOSTRANDO <i>P. aeruginosa</i> SOBRE UM FRAGMENTO DE PLÁSTICO, PROVENIENTE DE RESÍDUO HOSPITALAR INFECCIOSO PADRONIZADO, VISTA EM M.E.V.. AUMENTO DE 1782X.	96
FIGURA 54 – FOTOGRAFIA DE <i>P. aeruginosa</i> SOBRE UM FRAGMENTO DE PLÁSTICO, PROVENIENTE DE RESÍDUO HOSPITALAR INFECCIOSO PADRONIZADO, VISTAS EM M.E.V.. AUMENTO DE 1853X.	97

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1 – CLASSIFICAÇÃO DOS RSSS, SEGUNDO RESOLUÇÃO CONAMA N°5/1993.....	9
QUADRO 2 – CLASSIFICAÇÃO DOS RSSS SEGUNDO DIVERSOS AUTORES.	10
QUADRO 3 – FASES DO DESENVOLVIMENTO BACTERIANO.....	34

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – QUANTIDADE DE RESÍDUOS GERADA EM DIVERSOS ESTABELECIMENTOS.....	13
TABELA 2 – PRODUÇÃO DE RESÍDUOS INFECCIOSOS (Kg/LEITO/DIA)	15
TABELA 3: COMPOSIÇÃO MÉDIA DOS RESÍDUOS HOSPITALARES INFECCIOSOS NA ITÁLIA	16
TABELA 4: COMPOSIÇÃO MÉDIA DA FRAÇÃO SÓLIDA DOS RESÍDUOS HOSPITALARES INFECCIOSOS NO HOSPITAL GOVERNADOR CELSO RAMOS, FLORIANÓPOLIS, SC.....	17
TABELA 5 – MÉDIA DE CADA COMPONENTE LÍQUIDO ENCONTRADO NOS SACOS ANALISADOS, CONFORME UNIDADE HOSPITALAR	17
TABELA 6: MICRORGANISMOS ENCONTRADOS NOS RSSS	27
TABELA 7 – VARIAÇÃO DE PROPRIEDADES E CONCENTRAÇÃO DE SUBSTÂNCIAS NO CHORUME	28
TABELA 8 – COMPOSIÇÃO DA FRAÇÃO SÓLIDA DO RESÍDUO	51
TABELA 9 – COMPOSIÇÃO DA FRAÇÃO LÍQUIDA DO RESÍDUO.	52
TABELA 10 – COMPOSIÇÃO DA FRAÇÃO LÍQUIDA DO RESÍDUO NAS SÉRIES ISOLADAS	52
TABELA 11 - MICRORGANISMOS UTILIZADOS E PERÍODO DE INCUBAÇÃO DOS MESMOS	54
TABELA 12 – PERÍODO, DURAÇÃO E AS CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS DE CADA SÉRIE.....	63
TABELA 13 – VARIÁVEIS ANALISADAS E FREQUÊNCIA ANALÍTICA.....	64
TABELA 14 – VALORES MÍNIMO E MÁXIMO, MÉDIA ± DESVIO PADRÃO DAS VARIÁVEIS ANALISADAS	68
TABELA 15 – RESULTADOS DAS ANÁLISES QUÍMICAS REALIZADAS NO PERCOLADO NA AUSÊNCIA DE BACTÉRIAS E AO FIM DE CASA SÉRIE	72

LISTA DE REDUÇÕES

ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas
BOD – Biological Oxygen Demand
CC – Centro Cirúrgico
CCIH – Comissão de Controle de Infecções Hospitalares
CME – Centro de Microscopia Eletrônica
CONAMA – Conselho Nacional do Meio Ambiente
DAEC – *Escherichia coli* que adere difusamente
DNA – Ácido desoxirribonucléico
EaggEC – *Escherichia coli* enteroagregativa
EHEC – *Escherichia coli* enterohemorrágica
EIEC – *Escherichia coli* enteroinvasora
Emerg – Emergência
EPA – Environmental Protection Agency
EPEC – *Escherichia coli* enteropatogênica
EPI – Equipamento de Proteção Individual
ETEC – *Escherichia coli* enterotoxigênica
IH – Infecção Hospitalar
IPAT – Instituto de Pesquisa Ambiental e Tecnológica
IPT – Instituto de Pesquisa Tecnológica
LACEN/SC – Laboratório Central de Saúde Pública de Santa Catarina
LARESO – Laboratório de Resíduos Sólidos
LIMA – Laboratório Integrado do Meio Ambiente
Neuro – Neurotraumatologia/Ortopedia
OD – Oxigênio Dissolvido
OMS – Organização Mundial de Saúde
OPAS – Organização Pan-Americana da Saúde
RHI – Resíduo Hospitalar Infeccioso
RSS – Resíduos de Serviços de Saúde
RSSS – Resíduos Sólidos de Serviços de Saúde
UFC – Unidade Formadora de Colônia
UFPR – Universidade Federal do Paraná
UFSC – Universidade Federal de Santa Catarina
UNESC – Universidade do Extremo Sul Catarinense
UTI – Unidade de Tratamento Intensivo
WHO – World Health Organization

Símbolos

°C – graus centígrados

% - porcentagem

μm - micrômetro

g – grama

kg - quilograma

L – Litro

Nº - número

mL – mililitro

mm – milímetros

pH – Potencial Hidrogeniônico – concentração dos íons hidrogênio

UFC/mL – Unidades Formadoras de Colônia por mililitro

Abreviações

Cols. – colaboradores

N. – número

Vol. - Volume

RESUMO

Os Resíduos Sólidos de Serviços de Saúde (RSSS) representam uma pequena fração dos Resíduos Sólidos produzidos pela sociedade e constituem objeto de constante preocupação, considerando o perigo deste resíduo. A falta de dados sobre a sobrevivência e patogenicidade da população microbiana dá margem a opiniões que nem sempre possuem base científica. Este trabalho teve o objetivo de acompanhar, em escala laboratorial, o comportamento de três espécies de bactérias patogênicas: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus* em percolado formado quando da passagem de um fluxo de água diário sobre uma massa de resíduo hospitalar infeccioso padrão confeccionado em laboratório. O percolado foi coletado em dois momentos: após a passagem sobre a massa de resíduo, *percolado imediato*, e o *percolado acumulado*, que ficava armazenado em um balão volumétrico. Para tanto, foram realizadas seis séries de ensaios: três séries com uma duração média de 31 dias e com todas as espécies presentes, e três séries com apenas uma das espécies inoculadas a fim de constatar se há ou não competição entre elas. Além da coleta diária do percolado, eram também monitorados, diariamente, pH, oxigênio dissolvido e carbono orgânico total. Ao final de cada série a massa de resíduo foi analisada quanto à concentração de microrganismos e realizaram-se análises químicas do percolado acumulado. Esse trabalho permitiu concluir que no final de cada série as bactérias estavam viáveis, não se observando um aumento muito significativo na concentração das mesmas, mantendo-se razoavelmente constantes, quando comparadas a concentração inicial. As análises microbiológicas realizadas no resíduo demonstraram que a concentração das bactérias estava superior à concentração do percolado, o que permite concluir que o resíduo oferece condições à sobrevivência das bactérias. Também foi constatado que as oscilações nas concentrações dos parâmetros físicos analisados (pH e oxigênio dissolvido) não podem ser relacionadas ao comportamento das bactérias. Isso demonstra a necessidade de um cuidado na manipulação do RSSS e na maneira como ele é disposto, evitando que o chorume formado entre em contato com seres vivos e o meio ambiente.

Palavras-chave: resíduos sólidos de serviços de saúde, percolado, microbiologia, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*.

ABSTRACT

Health Care Waste represents a small fraction of the Solid Waste produced by the society and constitutes a subject of various discussions, especially considering the hazardous potential of this waste. The lack of data regarding the surveillance and pathogenicity of microbial yield of leads to opinions that are not based on scientific information. The present work had the objective to study on an experimental scale the behaviour of three species of pathogenic bacterium: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*, in the leachate resulted from standard hospital infectious waste prepared in laboratory. The leachate was collected in two stages: just after the passage through the waste mass, this called *immediate leachate* and the *cumulative leachate* which stored in a volumetric recipient. Six series of analyses were carried out, three of them with and average duration of 31 days considering all types of present bacterium and an average duration of 20 days each series with just one specie of bacteria. The purpose of this experiment was to observe if would occur or not and interspecific competition. Leachate collection, pH, oxygen and organic carbon were daily monitored. At the end of each series, the waste mass was analysed as for the microorganisms concentrations and chemical analyses of the cumulative leachate were carried out. Finally, was concluded that bacterium were viable, no significant grow of bacterium concentration was observed, concentration which showed to be relatively constant compared with the initial concentration of the leachate. The microbiological analyses of the waste shows a high concentration of bacterium, much higher than the leachate ones, observation which leads to the conclusion that the microorganisms are able to survive. Also was observed that the oscillations in concentrations of the analysed physical parameters (pH and dissolved oxygen) can not be related with the behaviour of bacterium. This shows that stronger oscillations are necessary in order to affect and change the behaviour of bacterium.

Key Words: Solid Health Care Waste, percolate, microbiology, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*.

1 INTRODUÇÃO

A preocupação com as questões ambientais começou a ganhar corpo a partir de 1972, na Conferência de Estocolmo: além do combate à poluição marinha, ela teve o objetivo de conscientizar os países sobre a limpeza dos rios nas bacias mais povoadas e do ar nos grandes centros urbanos. Em 1987, a Comissão Mundial sobre Meio Ambiente redigiu o relatório "Nosso Futuro Comum" e as conclusões e propostas foram discutidas no segundo grande evento na área ambiental, a Conferência do Rio de Janeiro, em 1992.

Dentre os diversos documentos produzidos na conferência do Rio de Janeiro, destaca-se a Agenda 21, em que os governantes dos países participantes ratificam o compromisso na adoção de atividades e procedimentos visando a melhor qualidade de vida. Nela há a convocação para que cada município crie uma estratégia local para desenvolvimento sustentável, a chamada Agenda 21 Local, sendo o desafio colocar em prática projetos que visem a formação de cidades sustentáveis, integradas ao meio ambiente.

Todavia, entre a teoria e a prática há uma grande distância e há muito ainda o que ser feito. A população do planeta hoje está em torno de 6 bilhões de pessoas, das quais um bilhão não possuem habitação segura e serviços de saneamento básico como: abastecimento de água, rede de esgotamento sanitário e coleta de lixo que, além de degradarem o ambiente, representam riscos à saúde. Um ambiente doméstico inadequado é responsável por quase 30% da ocorrência de doenças nos países em desenvolvimento.

O Saneamento Ambiental é uma das ferramentas para melhora na qualidade de vida da população, por procurar alcançar a salubridade ambiental por meio de água potável, coleta e disposição sanitária de resíduos sólidos, líquidos e gasosos. Também mostra o uso sanitário correto do solo, drenagem urbana, controle de doenças transmissíveis e demais serviços e obras especializadas a fim de proteger e melhorar as condições de vida urbana e rural (FUNASA, 1998).

No que tange os resíduos sólidos, a questão tem por início a conceituação dos termos lixo e resíduo, que podem variar conforme época e local (CALDERONI, 1998). Assim, resíduo sólido, segundo o Glossário de Engenharia Ambiental do Ministério de Minas e Energias (BRASIL, 1987), é definido como "material inútil, indesejável ou descartado, com conteúdo líquido insuficiente, para que possa fluir livremente, nos estados sólido e semi-sólido, resultante de atividades da comunidade; sejam elas de origem domiciliar, da saúde, comercial, de serviços, de varrição e industrial". Economicamente, resíduo ou lixo é todo material que uma dada sociedade ou agrupamento humano desperdiça. CALDERONI (*op. cit.*) define lixo domiciliar como "todo material sólido ao qual o seu proprietário ou possuidor não atribui mais valor e dele deseja descartar-se, atribuindo ao poder público a responsabilidade pela sua disposição final". Quanto a sua origem, os resíduos sólidos são classificados como: domiciliar; comercial; industrial; serviços de saúde; portos, aeroportos, terminais ferroviários e terminais

rodoviários; agrícola, construção civil; limpeza pública; abatedouros de aves; matadouro; estábulo (FUNASA, 1998).

A ABNT, na NBR 10004 (1987) classifica os resíduos quanto aos riscos potenciais ao meio ambiente e à saúde pública a fim de destiná-los de maneira correta, sendo três as classes, Resíduos Classe I, Classe II e Classe III. Nesta classificação são excluídos os resíduos radioativos por serem de competência da Comissão Nacional de Energia Nuclear.

Os resíduos classe I são os perigosos, que apresentam periculosidade ou então uma ou mais das seguintes características: inflamabilidade, corrosividade, reatividade, toxicidade e patogenicidade. Nesta categoria estão incluídos os resíduos infectantes provenientes dos serviços de saúde.

Os resíduos classe II, são os não-inertes, que não são nem perigosos - classe I - nem inertes, classe III.

Os resíduos classe III são inertes, ou seja, quando amostrados e submetidos a uma série de testes prescritos em outras normas não têm nem um dos constituintes solubilizados a concentrações superiores aos padrões de potabilidade de água. Como exemplos desses materiais, tem-se: rochas, tijolos, vidros e certos plásticos e borrachas não decompostos prontamente.

O mundo produz anualmente 30 bilhões de toneladas de resíduos (Secretaria de Estado do Meio Ambiente, 1998), com quantidade e composição que variam de comunidade para comunidade e também dentro da mesma comunidade conforme as estações do ano.

A disposição adequada dos resíduos deve ser feita em aterros projetados adequadamente, com sistema de drenagem de percolado, controle de emissão de gases, impermeabilização do solo, etc; os resíduos industriais perigosos devem ser dispostos em aterros próprios e os resíduos infectantes e perfurantes-cortantes provenientes de serviços de saúde devem ser dispostos separadamente dos resíduos urbanos, em valas ou células adequadas e recobertas.

Entretanto, a realidade brasileira é um pouco diversa. O país produz diariamente 100 mil toneladas de resíduos sólidos urbanos (LOPES, *et al.*, 2000), dos quais, segundo dados de levantamento realizado pelo IBGE em 1991, 76% são dispostos a céu aberto (locais conhecidos como *lixões*), 13% em aterros controlados e apenas 10% em aterros sanitários, ou seja, 89% do resíduo produzido no país não é disposto de maneira adequada.

Nos *lixões* não são depositados apenas os resíduos urbanos, mas também resíduos industriais e os de serviços de saúde. O depósito a céu aberto envolve aspectos sanitários, ambientais e de saúde pública, agravada com a presença de catadores, que muitas vezes são relegados a segundo plano e só lembrados em anos eleitorais. Adultos, crianças e idosos fazem do local área de trabalho e até moradia. Quando não moram no local, alimentam-se e deixam os filhos menores em toldos improvisados, como no caso do *lixão* de São Gonçalo, RJ (ABES, 1999).

O estado de Santa Catarina possui um total de 293 municípios, 1.498.742 domicílios particulares, e há coleta de resíduos em 1.244.660 residências, 83,06%; no município de Florianópolis, há 103.820 residências e coleta em 102.748, 98,97% (IBGE, 2000).

O estado, segundo dados de levantamento (SDM, 1993), demonstra que em 1993 a geração de Resíduos Sólidos no estado era de 2.570 ton/dia chegando-se a um per capita de 0,93kg lixo/hab/dia. A coleta seletiva é realizada em 36 municípios, entretanto ela é feita em escala reduzida, ou seja, abrangendo partes das áreas coletadas.

No caso dos resíduos sólidos de serviços de saúde (RSSS), a responsabilidade pela coleta e destinação final é dos geradores, que na maior parte dos casos queimam sem controle ambiental, depositam em vazadouro a céu aberto (lixões), aterro sanitário, enterrado em fossas e em aterros municipais controlados. De acordo com o questionário, respondido por 200 municípios, há 2.318 unidades de saúde no Estado e a coleta é diferenciada em 107 (54%) e não é diferenciada em 93 (47%). É prática comum no estado a queima do RSSS (46,23%), e muitos ainda fazem a disposição a céu aberto (19,59%), enterra-o ou deposita em fossa ou valas (17,08), depositam em aterro controlado (5,52%) e apenas 23 ocorre disposição em aterro sanitário (11,55%).

No caso da Grande Florianópolis ocorre coleta diferenciada em 52% das 203 unidades de saúde. Quanto a destinação final, segundo os municípios que responderam a esse item, as práticas mais comuns são o enterramento (6 municípios), depósito a céu aberto (3), incineração (3), aterro controlado (2) e vala séptica.

O descaso quanto a essa fração de resíduo produzida, em conjunto com o desconhecimento do que realmente ocorre com os microrganismos existentes nessa massa de resíduo, muitas vezes leva a especulações sobre o risco oferecido, sendo necessários trabalhos que mostrem o que ocorre com esses resíduos, tanto quando dispostos separadamente, como quando dispostos em conjunto com outros resíduos.

Para tanto, primeiramente é importante conhecer quais os componentes de um resíduo, tanto a composição gravimétrica quanto biológica, além de conhecer o comportamento dos microrganismos nessa massa, se sobrevivem ou não no resíduo, se após um período eles não possuem mais condições para sobrevivência, seja devido às mudanças de temperatura ou outro parâmetro físico, seja pela diminuição da disponibilidade de substrato adequado.

Os estudos envolvendo quantificação microbiológica do resíduo sólidos de serviço de saúde não têm como afirmar que os microrganismos lá existentes transmitirão doenças, mesmo porque é necessário um agente de transmissão de doenças, o vetor, para que isso ocorra. Entretanto, em países como o Brasil, onde o normal é o depósito a céu aberto ("lixão"), este pode ser mais um indicativo da necessidade de se tomar cuidados para disposição adequada de resíduos.

Infelizmente, há uma escassez de dados, também a nível internacional, sobre o comportamento dos microrganismos em um resíduo de serviço de saúde e também ao longo do tempo, após disposição final, dando margem à especulações sem base científica.

Seguindo essa linha, o Laboratório de Resíduos Sólidos do Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental da UFSC iniciou, ainda em 1994, uma série de pesquisas visando caracterizar o resíduo sólido de serviço de saúde e o comportamento de microrganismos patogênicos no mesmo. O trabalho teve início com o levantamento da quantidade de resíduos geradas no Hospital Universitário da UFSC (SOARES & CASTILHOS, 1998), continuou e se estendeu à caracterização dos resíduos infectantes presentes em setores do Hospital Governador Celso Ramos em Florianópolis (SILVA, 2000), a partir do qual foram realizados estudos do comportamento de microrganismos em escala laboratorial, tanto no resíduo quanto em percolado, utilizando resíduo hospitalar padronizado a partir do levantamento gravimétrico realizado (SILVA, *op. cit.*; SOARES *et al.*, 2001). Dessa maneira, ainda que em escala laboratorial, procura-se contribuir ao entendimento do problema, para então, em conjunto com outras informações tentar solucionar questões como qual a maneira mais adequada de gerenciamento no local de geração até a disposição final desses resíduos.

Para o desenvolvimento do estudo são consideradas como hipóteses:

- a) O resíduo tipo utilizado representa a constituição de um resíduo hospitalar infeccioso;
- b) O volume de 37 mL de água destilada, ao passar diariamente através do resíduo, será capaz de carrear os microrganismos inoculados, entretanto, este volume não é suficiente para fazer uma lavagem no resíduo, sendo possível encontrar, no final de cada série, a concentração de microrganismos na massa do resíduo e,
- c) O comportamento dos microrganismos no percolado depende da constituição do resíduo, dos nutrientes presentes no percolado, bem como das características dos microrganismos.

A apresentação do estudo é realizada em 6 capítulos. O Capítulo 1 – Introdução, onde são apresentadas as razões para o desenvolvimento do trabalho, bem como os objetivos a serem atingidos. Capítulo 2 – Referencial Bibliográfico, onde são abordados os assuntos: Resíduos Sólidos de Serviços de Saúde, procurando focar desde a sua geração até a destinação final, incluindo a Legislação atual; Microbiologia, dando ênfase às características dos microrganismos utilizados, além de trabalhos realizados sobre o tema, a fim de possibilitar uma melhor interpretação dos resultados. O Capítulo 3 – Materiais e Métodos descreve a maneira pela qual a pesquisa foi conduzida e as análises realizadas. Os resultados são apresentados e discutidos no Capítulo 4 – Resultados e Discussões, e serão concluídos no Capítulo 5 – Conclusões. Por fim, o Capítulo 6 apresenta as Referências Bibliográficas utilizadas no trabalho.

1.1 JUSTIFICATIVAS

O conhecimento sobre o comportamento dos microrganismos nos resíduos infecciosos provenientes de estabelecimentos de saúde, tanto em escala laboratorial quanto real é importante para melhor estabelecer planos de gerenciamento dos resíduos dentro do estabelecimento de saúde e para estabelecer a melhor opção na sua destinação final. Entretanto, pouco é conhecido sobre esse assunto, seja em literatura nacional ou estrangeira.

O trabalho em escala laboratorial, apesar de limitante, tem como vantagem o controle de alguns parâmetros, como pH e oxigênio dissolvido. Assim, é possível analisar se as mudanças na concentração desses parâmetros podem ser associadas ao comportamento das bactérias além de poder estudar o comportamento de algumas bactérias e suas relações com as outras. Isso seria bastante difícil de ser realizado em escala real, pela impossibilidade de um levantamento tanto qualitativo quanto quantitativo dos microrganismos, pela dificuldade em ter resíduos com a mesma composição em todas as séries. O emprego de um resíduo padronizado em detrimento ao *in natura* possibilita a repetição do experimento em outra oportunidade, com a mesma composição e as mesmas características, podendo, inclusive, utilizar outras espécies de bactérias.

1.2 OBJETIVOS

Objetivos Gerais

- Acompanhar a evolução temporal do crescimento bacteriano nos percolados imediato e acumulado formados após passagem de fluxo de água através de uma massa de resíduo hospitalar infeccioso padrão.
- Verificar o período de viabilidade de microrganismos patogênicos nos percolados.

Objetivos Específicos

- Avaliar o crescimento bacteriano nos percolados de resíduo hospitalar infeccioso padrão por um período superior a 15 dias sem interrupção.
- Verificar as concentrações de pH e oxigênio dissolvido em cada série e verificar se há uma relação desses parâmetros com o comportamento das bactérias *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus* presentes no percolado de resíduo hospitalar infeccioso padrão.
- Verificar a concentração de microrganismos presentes no resíduo padrão ao final de cada série de experimentação.

2 REFERENCIAL BIBLIOGRÁFICO

2.1 RESÍDUOS SÓLIDOS DE SERVIÇOS DE SAÚDE.

2.1.1 Definições e Classificações.

Entre os resíduos produzidos pela sociedade, uma pequena parcela do total gerado, mas que suscita grande controvérsia é aquela referente aos resíduos gerados em um estabelecimento de saúde. RODRIGUES (1988) afirma que “10% dos casos de infecções hospitalares são causadas por lixos e outras situações”, ao passo que ZANON (1991) cita que esse temor é devido ao ambiente hospitalar de séculos atrás, onde pessoas com doenças infecciosas eram mantidas em locais fechados, de pouca ventilação e higiene precária, que facilitavam a transmissão de doenças. Dessa maneira, ficou incutido que todo resíduo gerado em tais estabelecimentos, denominado de *lixo hospitalar* poderia vir a transmitir doenças. Muitas vezes confunde-se o termo resíduo hospitalar com resíduo infectado, quando apenas uma pequena parcela dos resíduos gerados em tal estabelecimento pode ser classificado como resíduo infectado. Esses dois autores demonstram como a situação é delicada e complicada, pois, infelizmente há poucos estudos realizados sobre o assunto, principalmente no Brasil, quanto à sobrevivência de microrganismos patogênicos no resíduo sólido de serviço de saúde (RSSS) e o seu potencial na transmissão de doenças.

Assim, fez-se necessário procurar outras definições para melhor caracterizar a fração de resíduo considerada perigosa em um estabelecimento de saúde, que corresponde a apenas 1% do total de resíduo gerado pela sociedade. Dados publicados pela Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental (1998) demonstram que no Brasil, a quantidade de RSSS coletada varia de 0,05% (Rio de Janeiro, RJ) a 13,5% (Recife, PE). Apesar da alta quantidade coletada em Recife, os dados mostram que a média fica em torno de 1%; cabe ressaltar que muitos municípios não realizam uma coleta diferenciada de tais resíduos.

Cada país ou agência costuma apresentar termo e definição próprios do que vem a ser considerado um resíduo perigoso gerado em uma instituição de saúde. Entre os termos empregados tem-se: resíduo hospitalar, resíduo biomédico, resíduo médico, resíduo clínico, resíduo infeccioso ou infectante. No Brasil, o termo melhor aceito atualmente é Resíduo de Serviços de Saúde, por abranger os diversos estabelecimentos geradores além dos hospitais.

No Brasil, há a Resolução nº5 do Conselho Nacional de Meio Ambiente (CONAMA) de 1993, que utiliza definição dada pela Associação Brasileira de Normas Técnicas – ABNT – pela norma NBR 12807 (ABNT, 1993f): resíduos resultantes das atividades exercidas por estabelecimento gerador. Como estabelecimento gerador, a NBR 12807 entende como os definidos por outra norma, 12808 (1993b); entretanto, a Resolução CONAMA define como geradores os prestadores de serviços de saúde, incluindo, dessa maneira, os resíduos

provenientes das mais diversas fontes, como hospitais, portos, aeroportos e terminais rodoviários e ferroviários.

Entretanto, a melhor definição encontrada até o momento, e que será a utilizada neste trabalho, corresponde àquela feita por MOREL e BERTUSSI F^o (1997), em que Resíduo de Serviços de Saúde é:

"todo aquele gerado por prestadores de assistência médica, odontológica, laboratorial, farmacêutica, instituições de ensino e pesquisa médicas relacionados tanto à população humana quanto veterinária que, possuindo potencial de risco, em função da presença de materiais biológicos capazes de causar infecção, produtos químicos perigosos, objetos perfurantes-cortantes efetiva ou potencialmente contaminados, e mesmo rejeitos radioativos, requerem cuidados específicos de acondicionamento, transporte, armazenamento, coleta, tratamento e disposição final".

Tal definição engloba todos os serviços que geram resíduos perigosos, infectantes, químicos e radioativos e excluindo os resíduos administrativos e comuns.

Classificações

No Brasil há duas classificações para os Resíduos de Serviços de Saúde, a da Resolução CONAMA e da NBR 12808 da ABNT (*op. cit.*), sendo a do CONAMA a melhor aceita atualmente. A classificação nº5 do Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA (BRASIL, *op. cit.*) apresenta quatro grupos de resíduos, A, B, C e D:

- GRUPO A: Nesse grupo estão incluídos os resíduos que apresentam risco potencial à saúde pública e ao meio ambiente pela presença de agentes biológicos; os perfurantes-cortantes estão incluídos neste grupo;
- GRUPO B: Resíduos que apresentam risco pelas características químicas;
- GRUPO C: Rejeitos radioativos representados por materiais radioativos ou contaminados por radionuclédeos. A Resolução CNEN-NE6.05 rege-os.
- GRUPO D: Resíduos comuns, não se enquadram nos grupos acima.

O Quadro 1 apresenta os constituintes de cada grupo.

QUADRO 1 – CLASSIFICAÇÃO DOS RSSS, SEGUNDO RESOLUÇÃO CONAMA Nº5/1993.

GRUPO	CATEGORIA	CONSTITUINTES
A	Presença de agentes biológicos	Sangue e hemoderivados; animais usados em experimentação, bem como os materiais que tenham entrado em contato com os mesmos; excreções, secreções e líquidos orgânicos; meios de cultura; tecidos, órgãos, fetos e peças anatômicas; filtros de gases aspiradores de área contaminada; resíduos advindos de área de isolamento; resíduos de laboratórios de análises clínicas; resíduos de unidades de atendimento ambulatorial; resíduos de sanitários de unidades de internação e de enfermaria; animais mortos a bordo de meios de transporte. Lâminas de barbear, vidros quebrados, bisturis, agulhas.
B	Presença de agentes Químicos	Drogas quimioterápicas e produtos por elas contaminados; resíduos farmacêuticos, como medicamentos vencidos, contaminados, interditados ou não utilizados; materiais corrosivos, tóxicos, inflamáveis e reativos.
C	Rejeitos radioativos	Materiais radioativos ou contaminados por radionuclédeos provenientes de laboratórios de análises clínicas, serviços de medicina nuclear e radioterapia.
D	Resíduos comuns	Todos os demais resíduos que não se enquadram nos grupos anteriores.

Fonte: BRASIL, 1993.

Já a NBR12808 (ABNT, *op. cit.*) toma por base as classificações propostas pela Health and Safety Commission, HSC, pela Organização Mundial de Saúde, OMS, e pela EPA, seguindo a classificação dos resíduos em três classes, A, B e C:

- Classe A: *Infectantes*. Seu potencial de risco está ligado à presença de material biológico, não diferenciando se o material provém de um portador de patologia infecciosa; são também incluídos os perfurantes-cortantes;
- Classe B: *Especiais*. Potencial de risco é ligado à natureza físico-química do material.
- Classe C: *Comuns*. Não oferecem risco adicional à saúde pública, tendo constituição semelhante as dos resíduos domésticos; não enquadram-se nas classes A ou B.

Essa diferenciação pode levar a uma desorientação na prática, sendo o ideal a simplicidade, concisão e objetividade. A parcela de resíduos perigosos apresenta diversas subdivisões, que variam conforme país ou instituição (Centro Pan-Americano de Engenharia Sanitária e Ciências do Meio Ambiente, 1997; SILVA, 2000).

No caso de uma unidade hospitalar, poderão ser produzidos todos os tipos de resíduos, e os resíduos infecciosos são produzidos em maior quantidade por setores como internação, salas cirúrgicas, salas de parto, serviços de emergência, além de serviços de laboratório, radiodiagnóstico, audiometrias, endoscopias, bancos de sangue que produzem resíduos infecciosos e especiais (Tipo B ou Grupo B, conforme classificação utilizada).

O Quadro 02 mostra a classificação utilizada por diversos autores, de diversos países, mostrando a diversidade de classificações existentes.

QUADRO 2 – CLASSIFICAÇÃO DOS RSSS SEGUNDO DIVERSOS AUTORES.

Autores	Categorias/Subdivisão de Resíduos							
	1	2	3	4	5	6	7	8
ABNT	Infecioso - A.1 - Biológico/A.2 - Sangue e hemoderivados/A.3 Cirúrgico, anatomopatológico e exsudato/ A.4 - Perfurante ou cortante / A.5 - Animal contaminado / A.6 - Assistência ao paciente	Especial - B.1 - Rejeito radioativo/ B.2 - Resíduo farmacêutico/B.3 - Resíduo químico-perigoso.	C - Comum	-	-	-	-	-
Cheremisinoff	Cirúrgico (patológico e animal)	Atenção ao paciente	Roupas e tecidos usados	Perfurante e cortante	Matéria orgânica	Não-orgânico	Alimentar	Não-combustível (vidro, metal e cinzas)
Cross	Doméstico	Patológico	Contaminado	Especial	-	-	-	-
CVS	Infecioso/Isolamento/Material biológico/Sangue humano e derivador / Patológico/Perfurante / Animal contaminado	Especial/Radioativo/Farmacêutico/Químico-perigoso	Geral ou comum	-	-	-	-	-
EPA	Cultura e estoque de agentes infecciosos e materiais biológicos associados	Patológico	Sangue humano e hemoderivados	Animal contaminado (carcaça, parte do corpo e cama)	Áreas de isolamento	Perfurante e cortante usado	Perfurante e cortante não usado	-
Hall	Radioativo	Químico	Infecioso	Anatômico	Patológico	-	-	-
NHMRC	Perfurante e cortante	Infecioso	Tecido humano	Citotóxico	Farmacêutico	Químico	Radioativo	Plástico
OMS	Patológico	Infecioso	Perfurante e cortante	Farmacêutico	Químico	Radioativo	Comum	Contêineres pressurizados
Ota	Infecioso	Perigoso	Radioativo	Geral	-	-	-	-
Quiroga	Médico-cirúrgico	Restos de alimentos	Resíduo de limpeza	Resíduos de caldeiras, calefação ou equipamentos de combustão	-	-	-	-
Ruiz	Cirúrgico	Sólido comum	Desperdício	-	-	-	-	-

Fonte: Schneider *et al* Manual de Gerenciamento de Resíduos Sólidos de Serviços de Saúde. São Paulo: CLR Balieiro, 2001. 173p.

2.1.2 Geração dos Resíduos Sólidos de Serviços de Saúde

Levantamento realizado pela Organização Mundial de Saúde (OMS) atesta que os grandes geradores dos resíduos de serviços de saúde são hospitais; serviços de emergência; maternidades; centros de diálise; postos de biomédicos e laboratórios de biotecnologia; centros de pesquisa médica, centros de autópsia, pesquisa animal; serviços de coleta de sangue e asilos. Os pequenos geradores são pequenos estabelecimentos de saúde como clínicas odontológicas, acupunturistas, hospitais psiquiátricos, clínicas veterinárias, locais onde são feitas tatuagens e colocados brincos e *piercings*, usuários de drogas ilícitas, serviços funerários, de ambulância e tratamento domiciliar (PRÜSS *et al*, 1999).

O montante de Resíduos Sólidos de Serviços de Saúde produzido pode variar tanto de país para país como entre municípios, entretanto, as características são semelhantes (MATO & KASEVA, 1999). Os dados obtidos em literatura demonstram que há uma diferença bastante significativa em virtude, muitas vezes, da metodologia empregada para a quantificação, o local amostrado e a classificação adotada no trabalho. Entretanto, observa-se que, no geral, há um aumento na geração de RSSS devido a uma implementação do uso de materiais descartáveis. Os resíduos infectantes depois de contaminados devem ser armazenados separadamente: os infectantes em sacos plásticos do tipo branco leitosos (NBR 9190 - ABNT, 1985) e os objetos perfurantes-cortantes em recipientes rígidos (coletores) segundo orientação da IPT – NEA55/96 (IPT, 1996), e em ambos é impresso o símbolo universal de substância infectante. Dessa maneira, a não separação do resíduo no local em que é gerado, colocando-o junto dos resíduos comuns, acarretará em uma maior despesa para o estabelecimento, posto que a legislação vigente considera que a instituição geradora será responsável por arcar com custos de coleta e destinação final. Com isso, atualmente tem-se buscado maneiras de se minimizar a quantidade de resíduos perigosos (excetuando-se os infectantes, lavanderias e os de utilidade do estabelecimento) (SCHNEIDER *et al*, 2001).

Em países com a chamada “gestão clássica” (Reino Unido, França e Bélgica), a quantidade gerada é de 1,5 a 2,0kg/leito/dia; em contrapartida, há os países com uma gestão denominada “avançada” (Alemanha, Áustria, Canadá, Holanda e Suécia), em que somente uma pequena porcentagem dos resíduos produzidos em estabelecimentos de saúde é considerada infecciosa, valor que varia de 0,05 a 0,4kg/leito/dia. No caso do Brasil, normalmente dividem-se os resíduos em infectantes (Classe A) e especiais (classe B), com uma taxa de geração de 1,2 a 3,8 kg/leito/dia (JOFFRE, 1993 apud SCHNEIDER *et al*, 2001).

Estudos realizados na Tanzânia (MATO & KASEVA, *op. cit.*) e na Holanda (VAN de WELD apud GUIMARÃES & BARROS, 2001) demonstraram que os centros de atendimento especializados produzem uma maior quantidade de RSSS que as unidades não-especializadas ou convencionais; MATO e KASEVA (*op. cit.*) também obtiveram uma maior quantidade de resíduos em hospitais mais

modernos, provavelmente devido a um maior emprego de produtos descartáveis. No caso de hospitais, a taxa de geração é expressa com base no número total de leitos, número de leitos ocupados ou mesmo volume gerado. Ao se expressar o resultado com base no número total de leitos pode-se obter dados irreais quando não há ocupação de 100% dos leitos. SOARES e cols. (1997) sugerem a aplicação da taxa de geração por leito ativo/dia. Na Tabela 01 estão valores da quantidade de resíduo gerada no Brasil e no exterior, levantados ou compilados pelos autores referenciados.

TABELA 1 – QUANTIDADE DE RESÍDUOS GERADA EM DIVERSOS ESTABELECIMENTOS

Local	Ano	Instituição	Quantidade gerada
Venezuela	1992	Hospital D. Lucian	3,8 kg/leito/dia ⁽¹⁾
Taiwan	1993	Hospital Universitário	4,6 kg/leito/dia ⁽¹⁾
Ribeirão Preto, SP.	1992		3,0 kg/leito/dia ⁽¹⁾
Grande São Paulo	1996		245,00t/dia ⁽¹⁾
EUA	1991	Hospitais americanos	6063t/dia ⁽²⁾
Caxias do Sul, RS.	2001	Hospital Geral, Caxias do Sul	1,06kg/leito/dia (infeccioso) ⁽⁴⁾
Campinas, SP.	1993		2,8 kg/leito/dia ⁽¹⁾
Belo Horizonte, MG.	2001	Hospital SEMPER	0,27kg/leito/dia ⁽³⁾
Belo Horizonte, MG.	2001	Hospital das Clínicas, UFMG	0,55kg/leito/dia ⁽³⁾

(1) Apud ANDRADE, 1997. (2) MATTOSO, 1996. (3) GUIMARÃES & BARROS, 2001; (4) SCHNEIDER *et al*, 2000.

A maioria dos levantamentos é realizada em hospitais, por serem os grandes geradores dessa classe de resíduos (ANDRADE, 1997; GUIMARÃES & BARROSO, *op. cit.*; MATTOSO, 1996; MATO & KASEVA, *op. cit.*; SILVA, 2000), mas atualmente estão sendo levantados dados em clínicas odontológicas e laboratórios (GUIMARÃES & BARROSO, *op. cit.*; NOBREGA *et al.*, 2001). Segundo o CENTRO PAN-AMERICANO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E CIÊNCIAS DO MEIO AMBIENTE da OPAS (1997) a geração de resíduos em um estabelecimento de saúde é determinada pela complexidade e frequência dos serviços prestados.

Um correto planejamento para o gerenciamento de resíduos em um estabelecimento de saúde trará vantagens tanto ao estabelecimento quanto aos trabalhadores, posto que a correta segregação dos resíduos conforme sua classificação diminuirá os custos com destinação final, além de evitar acidentes dos trabalhadores, principalmente com os objetos perfurantes-cortantes. Diversos trabalhos propõem maneiras de melhor gerenciar os resíduos, desde a quantificação dos resíduos gerados, a segregação na fonte e, atualmente, buscas por minimização na geração de resíduos até a destinação final, antecedida ou não por tratamento. Entre tais trabalhos destacam-se os de ANDRADE (*op.cit.*), SCHNEIDER *et al*, (*op. cit.*); e PRÜSS *et al* (1999).

Devido a grande variedade entre os dados de literatura, o interessante para a unidade geradora que pretende elaborar um plano de gerenciamento, é quantificar o resíduo produzido para então elaborar um plano adequado a sua realidade (ANDRADE, *op. cit.*, GUIMARÃES & BARROS, *op. cit.*, SCHNEIDER *et al*, *op.cit*), evitando super ou subestimar a real quantidade gerada.

Como a finalidade do trabalho é o estudo de microrganismos patogênicos em um resíduo hospitalar infeccioso, a seguir é apresentada uma melhor caracterização, bem como todos os passos ideais que ele deve seguir dentro da unidade hospitalar até sua disposição final.

2.1.3 Os Resíduos Infecciosos

Os termos resíduos infecciosos e infectantes são sinônimos do mesmo tipo de resíduo, que podem ser definidos como a parcela de resíduos gerada que, devido as suas características de maior virulência, infectividade e concentração de patógenos apresentam risco adicional à saúde pública. A Resolução nº 5 do CONAMA (BRASIL, 1993) os define como “aqueles que possuem agentes biológicos ou se apresentam contaminados por eles, causando riscos potenciais à saúde pública e ao meio ambiente”. O Quadro 01 apresenta as diversas subdivisões deste grupo, conforme a classificação da Resolução nº05 do CONAMA. A Organização Mundial de Saúde (OMS) define essa parcela de resíduo como “aquela parcela suspeita de conter patógenos (bactérias, vírus, parasitas ou fungos) em concentração ou quantidade suficiente para causar doenças em hospedeiros suscetíveis”. Apesar da classificação da OMS considerar os perfurantes-cortantes como infectantes, eles são considerados em particular (PRÜSS *et al*, 1999b).

Os altos custos com a destinação final diferenciada têm levado a estudos sobre a real proporção de resíduos infectantes produzidos por estabelecimentos de saúde. Apesar de em alguns países a quantidade total de resíduos produzidos ser considerada como tal, os estudos demonstram que apenas uma pequena parcela, que varia de 10% a 40% dos resíduos possuem essa característica (SOARES & CASTILHOS, 1998; PRÜSS, *op. cit*; SCHNEIDER *et al*, 2000, WHO, 2000).

Trabalho realizado na Itália durante os anos de 1991 e 1992 é um dos trabalhos mais completos quanto a quantificação de resíduo hospitalar infeccioso (RHI), pois engloba 4 hospitais com 164 departamentos, 2500 leitos e 40 laboratórios de análises e envolveu cerca de 200 pesquisadores (LIBERTI *et al*, 1994; LIBERTI *et al*, 1996). As amostras foram coletadas diariamente, pesadas e submetidas a análises quali-quantitativas a fim de determinar os parâmetros físico-químicos como composição bruta (papel, vidro, plásticos etc), umidade, densidade aparente, valor calorífico, análise elementar, cloro e metais pesados.

A análise quantitativa demonstrou que a produção média dos resíduos hospitalares infecciosos ficou em 0,44kg/leito/dia. Dessa quantidade, 35% do peso refere-se aos laboratórios de análises e cirurgias; 10% a resíduos provenientes de diálise e primeiros-socorros e o restante

refere-se quase que exclusivamente aos leitos em uso (LIBERTI, L.*et al*, 1994). Entretanto, é grande a diferença entre esses dados e outros existentes na literatura, como é possível ver na Tabela 02 a seguir:

TABELA 2 – PRODUÇÃO DE RESÍDUOS INFECCIOSOS (Kg/LEITO/DIA)

Local	Resíduo Hospitalar Infectante	Referência
Dinamarca	0,2 kg/leito/dia	Gleis (1991), apud Liberti (1994).
Itália	0,44 kg/leito/dia	LIBERTI (1994).
França	1-2,3 kg/leito/dia	NÉRI, 1989; GEHARD, 1991 apud LIBERTI, 1994
Caxias do Sul, RS.	1,06 kg/leito/dia	SCHNEIDER, 2001
Alemanha, Holanda, Canadá, Áustria, Suécia.	0,05 - 0,4 kg/leito/dia	SCHNEIDER, op.cit.
Dar es Salaam, Tanzânia.	0,66 kg /paciente/dia *	MATO & KASSENGA, 1997; MATO <i>et al.</i> , 1995
Dar es Salaam, Tanzânia.	0,134 kg/paciente/dia*	SWAI & MTALO (1996)
Florianópolis, SC.	1,22 kg/paciente/dia	SOARES <i>et al.</i> (1997)

* *Resíduos perigosos*

Os trabalhos realizados por Liberti, *et al.* (1994; 1996) tentaram analisar a razão das diferenças entre os valores obtidos e a conclusão foi que o valor é influenciado não somente pela ambigüidade existente na definição do termo resíduo hospitalar, mas também dos procedimentos realizados em cada departamento médico. Assim, apesar da média obtida de 0,44 kg/leito/dia, o pico de produção ocorreu na Unidade de Cuidado Intensivo alcançando 6,3 kg/leito/dia e o menor valor foi obtido pela Medicina Ocupacional, 0,07 kg/leito/dia; em hospitais especializados também há uma menor produção de RHI, como no caso de um centro ortopédico pesquisado, em que a média foi de 0,29 kg/leito/dia.

Os trabalhos de SILVA (2000) e SCHNEIDER *et al.* (2000) também verificaram as taxas de produção de resíduo infectante nos diferentes departamentos em um hospital.

SILVA (*op. cit.*) optou por quantificar os resíduos infectantes produzidos nas áreas críticas do ponto de vista clínico, ou seja, onde estão pacientes com baixa resistência imunológica, operados, portadores de grandes lesões, pois a finalidade era a de constituir um resíduo hospitalar padronizado. Segundo a Comissão de Controle de Infecções Hospitalares (CCIH) do hospital em que a pesquisa foi realizada são as seguintes unidades hospitalares críticas: Centro Cirúrgico (CC), Emergência (Emerg), Internação Cirúrgica (IC), Neurotraumatologia/Ortopedia (Neuro) e Unidade de Tratamento Intensivo (UTI). Após análise, verificou-se que os resíduos são produzidos na seguinte ordem: Neuro (31%), Emergência (20%), UTI (19%), IC (19%) e CC (11%).

Já SCHNEIDER (*op. cit.*) quantificou todos os resíduos produzidos no Hospital Geral de Caxias do Sul para fins de gerenciamento, encontrando as seguintes porcentagens: Unidade de Internação Clínica (27,6%); Unidade de Internação Pediátrica (15,1%), Centro Obstétrico (13,3%), CTI Adulto (12,1%) e CTI Neonatal (11,6%), seguidos por outros setores, que produzem resíduos em menor porcentagem. Valores tão diferenciados mostram a importância do conhecimento que a instituição que queira fazer um gerenciamento de tais resíduos precisa ter de sua própria produção.

2.1.3.1 Composição gravimétrica do Resíduo Hospitalar Infeccioso.

A Composição gravimétrica de resíduos de serviços de saúde de alguns países é apresentada no trabalho de Prüss *et al* (1999b), entretanto, não fica bem claro se nessa composição foram analisados somente os resíduos infectantes ou também os perigosos. Já o trabalho desenvolvido na Itália em 1992 e apresentado por Liberti *et al* (1994), Tabela 04, e o trabalho desenvolvido por SILVA (*op. cit.*), Tabela 05, e que é adotado nesse trabalho, analisaram apenas os resíduos infectantes; a diferença é que o primeiro inclui resíduos de peças anatômicas.

TABELA 3: COMPOSIÇÃO MÉDIA DOS RESÍDUOS HOSPITALARES INFECCIOSOS NA ITÁLIA

Material	% - peso seco.
Papel	34
Plásticos	46
Vidro	7,5
Metais	0,4
Resíduo Anatômico	0,1
Líquidos	12
Outros	0,1

Fonte: LIBERTI *et al*, 1994.

TABELA 4: COMPOSIÇÃO MÉDIA DA FRAÇÃO SÓLIDA DOS RESÍDUOS HOSPITALARES INFECCIOSOS NO HOSPITAL GOVERNADOR CELSO RAMOS, FLORIANÓPOLIS, SC

Material	(%)
Plástico Não Filme	25,65
Látex	18,72
Algodão	17,61
Papel	14,72
Plástico Filme	6,54
Adesivos	6,35
Matéria Orgânica	4,90
Plástico + Papel	1,90
Vidros	1,82
Papelão	1,26
Alumínio	0,31
Outros Materiais	0,22
Total	100,00

Fonte: SILVA (2000).

A quantidade de líquidos gerada no Hospital Governador Celso Ramos, apresentada na TABELA 05 refere-se apenas àqueles encontrados em contenedores graduados. A disposição dos líquidos presentes nos resíduos não possibilitou medição e identificação precisas, por estarem misturados à fração sólida ou acumulados no fundo do saco.

Apesar da caracterização feita por SILVA (*op.cit.*) apresentar mais subdivisões, nota-se que em ambos a maior porcentagem de resíduos infectantes refere-se a plástico e que a quantidade de vidro encontrada no resíduo italiano está bastante acima daquela encontrada no hospital florianopolitano (7,5% e 1,82%, respectivamente). Essa maior subdivisão no trabalho de SILVA (*op. cit.*) é porque a finalidade da composição gravimétrica no trabalho foi a confecção de um resíduo hospitalar infeccioso padronizado para ser utilizado na pesquisa realizada, em que foi inoculado cepas de três bactérias a fim de estudar-se o comportamento das mesmas no resíduo.

TABELA 5 – MÉDIA DE CADA COMPONENTE LÍQUIDO ENCONTRADO NOS SACOS ANALISADOS, CONFORME UNIDADE HOSPITALAR

LÍQUIDOS (mL)	EMERG	UTI	NEURO	IC	CC	MÉDIA (mL)
Soro fisiológico.	428,33	0	141,67	66,67	83,33	144,00
Urina	0	8,33	251,67	0	0	52,00
Sangue	8,33	3,33	8,33	36,67	25	16,33

2.1.3.2 Acondicionamento

Quando o acondicionamento é realizado na origem, ele evitará riscos à saúde, facilitará as operações de coleta e armazenamento interno, externo e o transporte. O acondicionamento dos resíduos de serviços de saúde é feito conforme cada categoria (comum, infectante ou especial), o que evita a mistura entre os tipos de resíduos.

No caso dos resíduos infectantes, o acondicionamento deve ser realizado em sacos plásticos branco-leitosos, conforme a NBR 9190 (1985), e os perfurantes-cortantes conforme a orientação da IPT – NEA 55/96 (IPT, 1996), sendo obrigatória a impressão do símbolo universal de substância infectante e facultativa a inscrição INFECTANTE, e a moldura e inscrição devem ser em preto com fundo branco no rótulo (NBR 7500/94). Os sacos plásticos servirão para forração de lixeiras, que devem ser aquelas com tampa acionada por pedal.

Já os resíduos infectantes manipulados em laboratórios de análises clínicas, hemoterapias e pesquisa microbiológica, devem ser esterilizados na unidade geradora, sendo a esterilização por calor úmido (por autoclave) a normalmente utilizada. Os resíduos de risco biológico sangue, fezes, secreções e outros líquidos orgânicos têm de ser submetidos a tratamento na própria instituição antes do lançamento na rede pública de esgoto.

Os recipientes, sacos plásticos e locais onde são colocados devem ser identificados com símbolos que indiquem a classificação dos resíduos contidos nos mesmos. É importante que os recipientes e sacos plásticos sejam fechados quando 2/3 de sua capacidade estiverem preenchidos; os mesmo devem estar bem vedados para evitar o derrame ou vazamento, além de estar com anotações sobre a data e fonte geradora. Após isso, ele deve ser levado à sala de resíduo.

2.1.3.3 Coleta interna e coleta externa

A coleta interna é a transferência dos recipientes, do local de geração (lixeiras), fechamento dos sacos de lixo e transporte ao local de armazenamento interno (coleta interna I), ou deste para o abrigo de resíduos ou armazenamento externo, fora do estabelecimento, ou para o local de tratamento (coleta interna II) e está especificada na NBR 12807 (ABNT, 1993). É importante que as pessoas envolvidas com essa atividade usem equipamentos de proteção individual (EPI) apropriado (SCHNEIDER *et al.*, 2000). Entretanto, trabalho realizado por Nóbrega *et al.* (2001a) na cidade de João Pessoa, PB, mostrou que em clínicas odontológicas, clínicas veterinárias e laboratórios, eles apenas utilizam luvas, quando o correto seria uso de uniforme completo, que inclui, além da luva: capa, boné, óculos, máscara facial e botas.

A coleta externa é o recolhimento e transporte dos RSSS armazenados nas unidades para o tratamento ou disposição final; nesta fase, os resíduos infectantes ou especiais identificados podem ser transportados junto com o lixo comum; ele deverá circular em carro fechado com caçamba estanque que não permita vazamentos. A NBR 12810 (ABNT, 1993c) apresenta as especificações do carro específico para transporte quando o volume é superior a 20 quilos, que deve ter o símbolo de infectante, segundo NBR 7500 (ABNT, 1994). O transporte deve possuir ficha de emergência (NBR 7503/1992), envelope para transporte de produtos perigosos, conforme especificações contidas na NBR 7504 (ABNT, 1993d), além de obedecer à norma da ABNT sobre procedimento no transporte de resíduos da NBR 13221 (ABNT, 1994b). Na NBR 12810 (*op. cit.*) também é apresentada as características do veículo coletor, complementada pela NBR 9191 (ABNT, 1993e) que define os equipamentos auxiliares que devem estar presentes no veículo (SCHNEIDER *et al*, 2000).

2.1.3.4 Armazenamento de RSSS

Quando a geração de RSSS não ultrapassar 20 litros por dia, os mesmos podem ficar acondicionados em recipientes resistentes, laváveis, impermeáveis, com tampa e capacidade suficiente para armazenamento equivalente a três dias de geração; ele não pode ser colocado onde haja trânsito de pessoas e dentro de sanitários. O abrigo externo deve ser construído levando-se em conta o tipo de coleta; se houver coleta separada para resíduo infectante do resíduo comum será necessária a criação de um abrigo para separação de áreas para cada tipo de resíduo coletado (SCHNEIDER *et al*, 2000). Esses abrigos devem seguir as especificações da NBR 12809 (ABNT, 1993f); devem estar devidamente sinalizados, possuir pisos e paredes de cor branca e material liso e resistente; ter iluminação adequada; não pode ser acessado por pessoas estranhas ao serviço; devem também possuir sistema de vedação para animais e insetos, além de aberturas teladas e portas que fecham sem deixar frestas. É também necessário que haja iluminação adequada tanto dentro quanto fora do abrigo (DESCARPACK, 1997).

2.1.3.5 Tratamento e disposição final dos Resíduos Sólidos de Serviços de Saúde

A Resolução CONAMA 05/93 define sistema de tratamento de resíduos sólidos como “*o conjunto de unidades, processos e procedimentos que alteram as características físicas, químicas ou biológicas dos resíduos e conduzem à minimização do risco à saúde pública e à qualidade do meio ambiente*”.

A realidade brasileira é que 89% dos resíduos são indiscriminadamente dispostos no solo de maneira irregular, sem tratamento prévio, onde entrarão em contato com os catadores e servirão como habitat para baratas, moscas, ratos e vetores (IBGE, 1991).

No caso dos resíduos de serviços de saúde, os materiais provenientes de laboratórios devem ser autoclavados, antes de dispostos (tratamento prévio), indicado para culturas e estoques de agentes infecciosos (PRÜSS *et al*, 1999c), mas isso só é viável para pequenas quantidades e alguns materiais específicos. A não segregação na fonte geradora aliada a gestão clássica de RSSS, que considera todo o montante produzido em estabelecimentos de saúde como infectantes ou especiais leva a um grande volume gerado que nem sempre é tratado antes de disposto. Entretanto há muitas técnicas atualmente disponíveis para tratamento de resíduos, que foram surgindo conforme a realidade e a necessidade e se aperfeiçoando ao longo dos anos. No caso dos resíduos infecciosos, o objetivo é destruir os microrganismos patogênicos, seja por calor, substâncias químicas ou irradiação por microondas, para que não apresentem riscos quando em contato com seres humanos (PRÜSS, 1999c; SCHNEIDER *et al*, *op.cit.*).

A escolha do tratamento ideal dependerá de vários fatores como potencial de risco do resíduo, realidade do local, recursos econômicos e naturais, população, entre outros fatores. Estudos em escala laboratorial ou mesmo em uso em alguns países comprovam que os métodos disponíveis para tratamento na fonte geradora possibilitam que esses resíduos possam ser dispostos juntamente com os resíduos domiciliares; é importante que tais métodos sejam constantemente monitorados por meio de indicadores que garantam a eficácia do método (SCHNEIDER *et al*, 2001).

Entre as técnicas atualmente disponíveis destacam-se: métodos de esterilização, desinfecção, biodigestão e incineração. Cada técnica pode ser encontrada detalhadamente nos trabalhos de MACHADO & MORAES (2001), SCHNEIDER *et al* (*op.cit.*), SILVA (*op. cit.*) e PRÜSS *et al* (1999d).

Qualquer tipo de tratamento de resíduos resultará em um rejeito que precisará ser disposto em algum local. No caso de cinzas resultantes da incineração, as mesmas devem ser avaliadas para ver o local a ser disposto. A disposição final normalmente ocorre em um dos seguintes locais: a céu aberto, vazadouros, vala séptica e aterro sanitário.

A forma mais utilizada pelos municípios brasileiros é a disposição dos RSSS *a céu aberto*, junto com os resíduos domiciliares, popularmente conhecido como “lixão”. Não traz vantagens, apenas desvantagens tanto para o meio ambiente quanto ao problema social que se desenvolve, que é a catação, onde famílias passam o dia. A disposição inadequada, sem nenhuma cobertura, leva à proliferação de vetores e animais no local (SCHNEIDER *et al*, 2001).

Por vezes o resíduo é utilizado para preencher buracos e voçorocas, chamados de *vazadouros*, provocadas pelas chuvas, levando a um carreamento desses resíduos na direção de corpos d’água e os impactos são os mesmo que a disposição à céu aberto (SCHNEIDER *et al*, *op.cit.*).

Valas sépticas são valas escavadas no solo, com o fundo revestido por manta para impermeabilização; a profundidade é de aproximadamente 1 metro e os resíduos são cobertos com uma camada de cal virgem e uma camada de terra (SCHENEIDER *et al*, *op.cit.*).

O *aterro sanitário* é a disposição metódica dos resíduos compactados no solo, que são colocados em células alternadas com camadas de argila compactada. O fundo do aterro recebe impermeabilização para proteção do solo e de lençóis subterrâneos; também há rede de drenagem para captação dos líquidos percolados, rede de drenagem para águas pluviais, rede de captação de gases, além do monitoramento de lençóis freáticos. É um método utilizado para depósito de resíduos domiciliares e, segundo a Resolução CONAMA nº5/93, os RSSS só poderão ser dispostos de tal maneira após tratamento (SILVA, *op.cit.*).

2.1.3.7 Riscos associados à disposição de resíduos

A disposição dos resíduos em aterros inadequados pode causar a contaminação da água potável, além de riscos associados à manipulação do material a ser disposto (WHO, 2000). Trabalho realizado por AZEVEDO e cols (2001) aponta os impactos da disposição ambiental dos resíduos infectantes nos meios físico, biótico, antrópico e sócio-econômico.

No meio físico destaca-se a poluição das águas superficiais, subterrâneas (pela infiltração do chorume, dependendo do tipo de solo local); contaminação do ar pela presença de microrganismos via aerosol e também pela produção de cinzas contaminadas, resultantes da queima; poluição do solo, além da poluição da paisagem, que trará danos à saúde ambiental além de desvalorização da área, entre outras. No meio biótico, destaca-se a contaminação dos animais, insetos e vetores por patógenos além da sobrevivência de microrganismos patogênicos. Com relação ao meio antrópico, os impactos referem-se ao risco de contaminação biológica pelos catadores e pessoas que vivem próximas à região, pela ingestão de águas contaminadas pelo chorume, inalação de microrganismos e ingestão de alimentos contaminados ou contato com vetores contaminados. E, finalmente, os fatores sócio-econômicos, que são relacionados com a perda de terras produtivas, desvalorização da área do entorno, depreciação das pessoas que moram próximas à área e dos catadores, além do custo com a recuperação ambiental da área degradada.

Revisão publicada pela OMS em 2001 (KENNEDY, 2001) sobre os impactos dos resíduos microbiológicos provenientes dos resíduos de serviço de saúde mostra que as pessoas que possuem maior risco com os resíduos são (em ordem decrescente): funcionários que manipulam o RSSS, funcionários de laboratórios, funcionários que manipulam resíduos, dependentes de drogas e público em geral. Entretanto, em países em desenvolvimento há também mais dois grupos de pessoas que têm riscos aumentados: os catadores de lixo, que normalmente não usam nenhum

equipamento adequado e os pacientes, com a reutilização de seringas entre outros equipamentos que foi “reciclado” sem um tratamento adequado.

Infelizmente a ausência de estudos em países em desenvolvimento não permite analisar os riscos das pessoas que trabalham com resíduos em adquirir doenças e compará-los com os da população. Os dados de países desenvolvidos demonstram uma maior incidência de doenças como hepatite, doenças infecciosas, bronquite crônica e alergias pulmonares. É complicado estabelecer uma relação entre a doença adquirida pela pessoa e a sua manipulação, pois os custos com tais estudos epidemiológicos, são, segundo a OMS, quase impraticáveis, mesmo porque, tanto em países desenvolvidos quanto subdesenvolvidos, as pessoas que trabalham com os resíduos possuem baixo poder aquisitivo, entretanto, a exposição a tais resíduos contribuem significativamente para esses resultados.

Os riscos às pessoas que não possuem um contato direto referem-se mais a acidentes com agulhas de seringas dos pacientes que se tratam na própria residência. Já para pessoas que não se acidentam com esses resíduos, os riscos são maiores àqueles que reutilizam equipamentos médicos descartáveis, principalmente seringas (KENNEDY, 2001).

2.1.3.8 Legislação

A legislação brasileira sobre resíduos sólidos de serviços de saúde segue, em geral, as orientações de organismos internacionais como a EPA (Environmental Protection Agency) e a OMS (Organização Mundial de Saúde).

As regulamentações tiveram início com o *Decreto Federal 76973 de 31 de dezembro de 1975*, que regulamenta os padrões de construção e instalação de prédios destinados aos serviços de saúde.

A Comissão Nacional de Energia Nuclear é a responsável pelas resoluções *CNEN NE 6.05/85* que trata da gerência e segurança de rejeitos radioativos e, *CNEN NE 3.05/96*, sobre os requisitos de radioproteção e segurança para serviços de medicina nuclear.

A *Portaria nº53 do Ministério do Interior de 1º de março de 1979* trata dos projetos de tratamento e disposição final dos resíduos sólidos, obriga a incineração dos resíduos portadores de agentes patogênicos, inclusive os de estabelecimentos hospitalares e congêneres, isentando os resíduos patogênicos submetidos à esterilização por radiação ionizante. Também fica obrigada a incineração dos resíduos provenientes de portos e aeroportos, que deverão ser incinerados nos locais de produção. A incineração será desobrigada na *Resolução CONAMA nº 06 de 19 de setembro de 1991*, ressalvados os casos previstos em lei e acordos internacionais e ressaltando, que os estados e municípios que deixarem de incinerar os resíduos, definam os procedimentos mínimos para o gerenciamento dos resíduos de serviços de saúde, portos e aeroportos.

A *Resolução CONAMA n° 5, de 05 de agosto de 1993*, define procedimentos mínimos para o gerenciamento de resíduos sólidos oriundos de serviços de saúde, portos, aeroportos, terminais ferroviários e rodoviários. Plano de Gerenciamento de Resíduos Sólidos: “documento integrante do processo de licenciamento ambiental, que aponta e descreve as ações relativas ao manejo de resíduos sólidos, contemplando os aspectos referentes à geração, segregação, acondicionamento, coleta, armazenamento, transporte, tratamento e disposição final”. Classifica os resíduos em 4 grupos, A, B, C e D, conforme suas características. Ela determina que caberá aos estabelecimentos o gerenciamento de seus resíduos, desde a geração até a disposição final, atendendo as exigências ambientais e de saúde pública, e que estes devem ter um responsável técnico devidamente registrado no conselho profissional. Segundo SILVA (2000) este documento é a principal orientação legal para os resíduos sólidos dos serviços de saúde. Esta resolução determina, ainda, que resíduos sólidos pertencentes ao **Grupo A** não poderão ser dispostos no meio ambiente sem tratamento prévio e recomenda a esterilização a vapor ou a incineração como alternativa de tratamento.

O *Decreto Federal número 96044 de 18 de maio de 1998* aprova o regulamento do transporte rodoviário de produtos perigosos ou que representem riscos para a saúde das pessoas, para a segurança pública ou para o meio ambiente.

E, por fim, a *Resolução CONAMA 283/2001 de 12 de julho de 2001*, dispõe sobre o tratamento e a destinação final dos resíduos de serviços de saúde, responsabilizando a unidade geradora pelo tratamento e disposição final do resíduo, que deve estar presente em um Plano de Gerenciamento de Resíduos de Serviços de Saúde. O tratamento deve ser feito com o objetivo de tornar o resíduo do Grupo A como Grupo D; quando não for possível, o órgão ambiental competente definirá as alternativas de destinação em aterros devidamente licenciados. Os resíduos do Grupo B devem ser submetidos a tratamento e destinação final específicos e os medicamentos alterados, interditados, parcialmente utilizados ou impróprios ao consumo devem ser devolvidos ao fabricante ou importados, sendo o estabelecimento que adquiriu o produto co-responsável pelo transporte e, por fim, os resíduos do Grupo D receberão tratamento e destinação final semelhantes aos resíduos domésticos e a coleta deve ser realizada pelo órgão municipal de limpeza urbana.

Embora os resíduos dos serviços de saúde sejam de competência dos estabelecimentos geradores, a prefeitura municipal de Florianópolis, por exemplo, executa, ou faz a contratação desses serviços e repassa os custos de operação e manutenção aos geradores. Ainda para esta cidade. Especificamente, a *Lei Municipal n° 3890/92*, dispõe sobre separação, coleta e dá outras providências relativas aos resíduos de serviços de saúde. Esta lei torna obrigatória a separação dos resíduos de serviços de saúde em três espécies: resíduos infectantes, especiais e comuns, sendo este dividido em reciclável e rejeito. Estão sujeitos as aplicações desta lei os seguintes estabelecimentos: hospitais, clínicas de saúde, laboratórios, clínicas veterinárias, farmácias ou

quaisquer outros estabelecimentos de prestação de serviços, ambulatorios e de atendimento de saúde.

Além das legislações supracitadas, muitas normas técnicas, a Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT), a Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental (CETESB) e o Instituto de Pesquisas Tecnológicas (IPT) elaboram uma série de normas a respeito de resíduos sólidos dos serviços de saúde, dando subsídios para o seu correto gerenciamento. As mais importantes estão citadas durante o trabalho e não serão aqui novamente descritas.

Uma completa abordagem do tema pode ser consultada nas obras de BIDONE *et al* (2001), SCHNEIDER *et al* (2000) e SILVA (2000).

2.1.3.9 Exemplos da atual situação brasileira

Trabalhos realizados na cidade de João Pessoa, PB (NÓBREGA *et al* 2001; NÓBREGA *et al*, 2001a) melhor exprimem a realidade brasileira. De acordo com os levantamentos realizados em hospitais, postos de saúde, clínicas odontológicas, veterinárias e laboratórios da cidade, há um despreparo destas instituições quanto à coleta, armazenamento e disposição final, além da falta de uso de equipamentos de proteção individual pelos trabalhadores, que, na maioria das vezes, reduz-se ao uso de luvas. Todos os resíduos produzidos pelos estabelecimentos são encaminhados para o depósito a céu aberto, conhecido com *lixão do Roger*. Os trabalhos demonstram que há um descaso por parte dos estabelecimentos, dos resíduos gerados, além da ausência de fiscalização dos mesmos pelos órgãos ambientais competentes, ou seja, há um desrespeito geral pela Resolução CONAMA 05/93 e muitas vezes são ignoradas as normas estabelecidas pela Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT).

O descaso pela questão desencadeia uma outra situação como a relatada por MAGALHÃES (2000), que ocorre no “Lixão de São Gonçalo”, Rio de Janeiro: o comércio de materiais oriundos de estabelecimentos de saúde. Neste local, pessoas que “trabalham” lá, afirmam que os caminhões que chegam com os RSSS são os mais disputados e os preços oferecidos muitas vezes ultrapassam as quantias de materiais como papel, papelão, vidro, entre outros objetos. A seguir, trechos da reportagem:

“Nos lixões aparecem ‘comerciantes’ de materiais altamente suspeitos: seringas de injeção que provavelmente vão alimentar uma grande parte de pessoas dependentes de drogas. (...). Da mesma forma, o garrote de borracha – utilizado para compressão do braço durante uma aplicação intravenosa – é de grande interesse pela alta qualidade e resistência na fabricação artesanal de estilingues, forquilha usada para atirar pedras em passarinhos. (...). Também há registros de comércio ilegal de uma multiplicidade de equipamentos médico-hospitalares em “lixões”, entre eles grandes quantidades de bolsas de plástico utilizadas em pacientes que se submeteram à técnica de

colostomia (equipamento pós-operatório para operação no intestino). Restos de gaze já usadas em cirurgias e muito plástico amontoado em meio a tantos outros materiais, despertam maior atenção quando aquele lixo especial é descarregado até por ambulâncias.”.

Após questionamento da jornalista, que estava observando o fato e questionou o interesse excessivo diante de tanto material plástico, em particular frascos de soro, o comerciante revelou que intermediava o material junto a uma pequena indústria fabricante de invólucros para embalagem de ‘laranjinhas”, suco de laranja “natural”, vendido em praias cariocas. Também já foi identificada uma pequena indústria de preservativos comprados nos “lixões” que eram lavados e supostamente esterilizados, após o que eram vendidos no mercado informal das ruas da cidade.

Dessa maneira é muito importante que haja divulgação de todo e qualquer estudo realizado sobre os Resíduos Sólidos de Serviços de Saúde, e que eles cheguem a população para que comece a haver uma pressão pública para a destinação correta desses resíduos.

2.2 INFECÇÃO HOSPITALAR

Segundo a Resolução RDC nº 48 de 2 de Junho de 2000 da Agência de Vigilância Sanitária, a Infecção Hospitalar (I.H.) é a infecção adquirida após a admissão do paciente na Unidade Hospitalar e que se manifeste durante a internação ou após a alta, quando puder ser relacionada com a internação ou os procedimentos hospitalares (BRASIL, 2000). ROJO e cols (1999) já a definem como “qualquer bacteremia que tem início após 72 horas da admissão no hospital, após ocorrer um procedimento invasivo ou em pacientes que foram readmitidos ao hospital ou que chegam transferidos de outras instituições”.

A presença do microrganismo patogênico no ambiente hospitalar não é suficiente para causar uma infecção, sendo necessários ainda suscetibilidade do paciente e resistência dos microrganismos às drogas (ANDRADE, *op. cit.*).

A doença infecciosa é conseqüência da desarmonia entre agente infeccioso, seja ele vírus, bactérias, fungos, protozoários ou helmintos e os tecidos do hospedeiro. Os agentes infecciosos são divididos em dois grupos: patógenos primários e patógenos secundários. Os primários não fazem parte da microbiota normal humana e são responsáveis por doenças infecciosas endêmicas ou epidêmicas, ao passo que os secundários fazem parte da microbiota normal humana e causam infecções apenas quando há uma alteração no organismo, sendo atualmente responsáveis pela maioria das infecções hospitalares (ZANON & MORAES, 1987).

A preocupação com a I.H. teve início na década de 50 após ocorrer uma epidemia que foi causada por *Staphylococcus aureus* e atacou pacientes hospitalizados nas unidades cirúrgica e pediátrica na Europa e nos Estados Unidos da América (SANTOS, 1997). Atualmente, há um aumento no risco em se adquirir uma infecção hospitalar – ou infecção nosocomial, devido à

diversidade de procedimentos realizados nas unidades hospitalares, ao uso de antibióticos de amplo espectro, ao emprego de técnicas invasivas, além de extensos procedimentos cirúrgicos (ROJO *et al*, *op. cit.*, SANTOS, *op. cit.*). As espécies de microrganismos causadores de infecção hospitalar variam periodicamente em função de práticas médicas, como uso de antibióticos. HERLWALDT e WENZEL (1995) constataram que o intervalo entre essas mudanças diminuiu, devido às práticas supra citadas. Outra observação feita por ROJO *et al* (*op.cit.*) é que as infecções hospitalares têm uma maior incidência em pacientes com mais de 60 anos de idade, por eles apresentarem doenças já existentes e que debilitam o sistema imunológico, principalmente câncer, doenças biliares e do sistema digestório.

No caso de infecções que ocorrem em pós-operatórios, o aumento na incidência de infecções por bactérias gram-positivas ocorre por fatores como idade do paciente avançada, que muitas vezes possuem um histórico de doenças crônicas além de procedimentos cirúrgicos mais complexos e agressivos. Nem sempre as medidas adotadas, tais como redução da flora indígena por desinfetantes, administração de antimicrobianos como profilaxia e outras intervenções, são eficientes, devido, principalmente, às mudanças que ocorrem nos microrganismos, que produzem gerações a cada 10 a 30 minutos, o que aumenta as chances do surgimento de mutações (KOONTZ, 2000).

No caso de Florianópolis, estudo demonstrou que os principais microrganismos isolados em infecções no Hospital Governador Celso Ramos (SILVA, 2000) são *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus coagulase* negativo.

É importante ressaltar que a simples presença de um microrganismo no ambiente hospitalar não é certeza de ocorrência de infecção hospitalar, sendo necessário um estudo epidemiológico. O risco de adquirir a doença depende mais dos mecanismos de defesa antiinfeciosa do paciente do que da simples presença de microrganismos no ambiente hospitalar; dessa maneira, além de um levantamento dos microrganismos no local é essencial realizar um estudo epidemiológico específico. Como descrevem ZANON & MORAES (*op. cit.*), em tal estudo engloba os indivíduos que apresentam o fenômeno em apreço e os que não o apresentam, para então se calcular os indicadores epidemiológicos. Em tal trabalho estão muito bem descritos os passos de um método epidemiológico, bem como a epidemiologia das infecções hospitalares. Há muitos trabalhos que explicam muito o contato entre microrganismo-hospedeiro e como ele pode desencadear um quadro infeccioso, destacando-se os trabalhos de BROOKS, 1998a FINLAY & FALKOW, 1989; MADIGAN *et al.*, 1997a; TODAR, 1998a; TODAR, 2000a; TODAR, 2000b; TODAR, 2000c.

2.3 BACTÉRIAS PRESENTES EM RESÍDUOS SÓLIDOS DE SERVIÇOS DE SAÚDE

Estudos demonstraram que a maioria das bactérias encontradas nos RSSS é proveniente da flora bacteriana normal de um indivíduo e não por patógenos primários. Na Tabela 6 são encontrados os microrganismos citados na literatura:

TABELA 6: MICRORGANISMOS ENCONTRADOS NOS RSSS

Microrganismos encontrados	Concentração média (UFC/g)	Autor
E. agglomerans, E. cloacal, E. coli, K. oxytoca, K. pneumoniae, P. aeruginosa, P. fluorescens, P. mirabilis, P. morganii, P. vulgaris, S. aureus.	Entre 10^6 e 10^7 UFC/g de resíduo.	JAGER e cols (1990)
E. coli, Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus, Streptococcus faecalis, Streptococcus faecium, Streptococcus gallenororum, Streptococcus avium (também foram identificadas outras que não são indicadores de contaminação).	Entre $2,1 \times 10^6$ e $8,6 \times 10^8$ UFC/100g de resíduo.	MATTOSO (1996)
Bactérias do grupo Coliforme, Estreptococcus, Pseudomonas aeruginosa, Salmonella typhi, Shigella sp., Staphylococcus aureus.	-	CETESB (1978)
Acetobacter calcoaceticus, Enterobacter sp., Escherichia coli, Klebsiella spp., Pseudomonas aeruginosa, Proteus sp., Serratia marcescens, Staphylococcus aureus, Streptococcus do grupo D.	Entre $1,7 \times 10^3$ e $3,4 \times 10^8$ UFC/g..	KALNOWSKI e cols (1983).
Enterobactérias como Salmonella, Shigella spp; Vibrio cholerae, helmintos; Mycobacterium tuberculosis; Streptococcus pneumoniae; Vírus da herpes; Neisseria gonorrhoeae, Bacillus anthracis, Vírus da Imunodeficiência Humana; Staphylococcus spp; Staphylococcus aureus, Enterococcus, Klebsiella, Candida albicans, vírus das Hepatites A, B e C (WHO, 1998).	-	PRÜSS e cols. (1999e)

2.4 O CHORUME

O chorume é o resultado da decomposição dos resíduos, de coloração escura e, em conjunto com a matéria orgânica e o líquido que entra na massa de resíduo advindo de fontes

externas, como chuva, nascentes, lençol freático, sistemas de drenagem superficial forma o líquido percolado. Dessa maneira, materiais que estão presentes, e que são altamente contaminados, podem ser arrastados ou diluídos (SEGATTO & SILVA, 2000). Os contaminantes produzidos, suas quantidades e as taxas de produção são influenciados por uma série de fatores como composição do lixo, densidade, pré-tratamento, seqüência de disposição, profundidade, umidade, temperatura e tempo (PALMISANO & BARLAZ, 1996; SEGATTO & SILVA, 2000). A TABELA 7 mostra a variação de propriedades e concentração de substâncias do chorume de aterros de resíduos urbanos.

TABELA 7 – VARIAÇÃO DE PROPRIEDADES E CONCENTRAÇÃO DE SUBSTÂNCIAS NO CHORUME

Parâmetro	Faixa de Variação
Alcalinidade (mg CaCO ₃ /L)	850-17.500
Arsênio (mg/L)	0-200
Cádmio (mg/L)	0-2
Chumbo (mg/L)	0-2
Cianetos (mg/L)	0-10
Cloretos (mg/L)	100-12.400
Cobre (mg/L)	0-8
Cromo total (mg/L)	0-300
DBO ₅ (mg/L)	15.000-50.000
DQO (mg/L)	21.000-78.000
Ferro (mg/L)	2-2.100
Fósforo total (mg/L)	0.1-31
Manganês (mg/L)	0-35
Mercurio (mg/L)	0-0.05
Níquel (mg/L)	0-5
Nitrato (mg/L)	0.1-250
Nitrito (mg/L)	0.1-40
Nitrogênio amoniacal (mg/L)	50-5.000
pH	3,5 – 9,0
Sólidos Suspensos (mg/L)	660-5.000
Sulfato (mg/L)	18-2.000
Zinco (mg/L)	0-25

Fonte: SEGATTO & SILVA, 2000.

As bactérias colonizam a superfície do resíduo e podem ser encontradas no chorume. A estabilização das bactérias em um aterro dependerá do número e das atividades dos microrganismos que devem estar em um número alto e totalmente integrado, além do fato do local ter de dar condições físicas e químicas o crescimento real e a atividade (PALMISANO & BARLAZ, 1996).

No caso de aterros mal administrados, pode ocorrer contaminação dos aquíferos nas vizinhanças, resultando na contaminação dos mesmos. O lixiviado de aterros é enriquecido com carbono comparados aos aquíferos, podendo, assim, alterar a microbiota natural além dos processos físico-químicos chave como reações químicas do tipo redox. O alto potencial de biodegradação sugere a presença de microrganismos diversos, que estão tanto dispersos livremente quanto aderidos a material particulado (PALMISANO & BARLAZ, 1996).

2.5 ESTUDOS REALIZADOS EM ESCALA REAL

Trabalhos desenvolvidos na Alemanha (KALNOWSKI *et al.*, 1983; JAGER, *et al.*, 1990) com o objetivo de comparar quali-quantitativamente os microrganismos presentes em setores hospitalares com o resíduo doméstico demonstram que, de maneira geral, no resíduo doméstico há uma maior diversidade e quantidade de microrganismos presentes, comparado a salas de consultório médico e a unidades cirúrgicas (salas de operação, unidade de tratamento intensivo e enfermaria). Das amostras coletadas e analisadas foram detectadas presença de *Actinobacter calcoaceticus*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter* spp., *Klebsiella* spp., *Proteus* spp., *Serratia marcescens* em maior porcentagem nas amostras de resíduos domésticos que nos resíduos hospitalares, ao passo que os microrganismos *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus* foram encontradas em um número superior de amostras no hospitalios (KALNOWSKI *et al.*, *op.cit.*).

GERBA (1996) relata estudos realizados por diversos autores sobre a sobrevivência de microrganismos entéricos tanto no aterro quanto no lixiviado. Devido à alta quantidade de matéria orgânica foi detectada uma grande diversidade de bactérias indicadoras fecais mesmo após 10 anos nos lisímetros mantidos pela EPA.

Os estudos no lixiviado, realizados em lisímetros, indicaram que a tendência é que haja um declínio na concentração de bactérias indicadoras, apesar de se manterem em baixa concentração por um período prolongado. Ao comparar os estudos realizados simulando aterros e depósitos a céu aberto, o resultado obtido foi que, após mais de 20 semanas a concentração foi maior no segundo, demorando mais para diminuir a concentração de coliformes ao longo do tempo; entretanto as concentrações de estreptococos fecais não tiveram um declínio significativo ao longo do tempo. GLOTZBECKER AND NOVELLO apud GERBA (*op.cit.*) detectaram a sobrevivência de *Escherichia coli* e *Streptococcus faecalis* pode variar de horas a meses, dependendo da fonte de lixiviado e a temperatura de incubação.

ENGELBRECHT & AMIHOR apud COLLINS & KENNEDY (1992) analisaram microbiologicamente o chorume de um aterro e encontraram *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus faecalis*, *Streptococcus durans*, *Streptococcus pneumoniae*, *Klebsiella*,

Proteus spp, bacilos coliformes, salmonelas, ou seja, microrganismos encontrados no organismo humano. A explicação levantada por COLLINS & KENNEDY (*op. cit.*) é que a alta temperatura no interior do **aterro**, cerca de 60°C, inativariam os microrganismos, além da condição de anaerobiose atingida e a variação do pH são adversos ao crescimento microbiano.

2.6 ESTUDOS REALIZADOS EM ESCALA LABORATORIAL

Estudos foram realizados em escala laboratorial sobre o comportamento de microrganismos patogênicos ao longo do tempo em um resíduo hospitalar padronizado, montado a partir de levantamento da composição de resíduos infectantes em um hospital. Em tal resíduo não foi adicionada matéria orgânica. Na primeira etapa, SILVA (2000) analisou o comportamento de *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus* em uma massa de resíduo.

Na primeira fase, constatou-se que, após 384 horas (16 dias) as três bactérias permaneceram viáveis, e a bactéria que apresentou um maior crescimento foi *Pseudomonas aeruginosa*. Na segunda etapa do projeto, SOARES *et al* (2001), utilizando a mesma composição gravimétrica do resíduo, mas agora o submetendo a um fluxo de água, a fim de se formar um percolado, analisou a concentração das mesmas espécies de microrganismos no percolado formado em dois momentos, logo após a passagem de água e o percolado acumulado durante um período de 16 dias. Novamente os microrganismos continuaram presentes, mas, desta vez, houve uma queda na concentração no final do experimento em comparação à concentração do primeiro dia de coleta, com exceção de *Pseudomonas aeruginosa*. O interessante a ser observado é que, mesmo com a ausência de matéria orgânica, tais bactérias conseguem manter-se viáveis após os 16 dias de experimento.

Os trabalhos nessa área, tanto em escala real quanto no ambiente de laboratório, apesar de escassos são muito importantes, para demonstrar que os microrganismos conseguem sobreviver e, que são necessários cuidados para não ocorrer contato com agentes que possam contaminar-se e transmitir doenças a outros indivíduos, sendo necessário que a área em que os mesmos fiquem depositados não entrem em contato com seres humanos, ainda que os acidentes normalmente ocorrem com objetos perfurantes cortantes o melhor ainda é a prevenção, dada a escassez de dados nesta área, que não permitem chegar a uma conclusão, pois, tais estudos devem ser completados com estudos epidemiológicos tanto no ambiente hospitalar quanto no local de disposição final de resíduos, que, no caso do Brasil, ainda tem como realidade lixões a céu aberto.

2.7 AS BACTÉRIAS

Em um experimento onde se pretende entender o comportamento de bactérias em um resíduo sólido de serviço de saúde é essencial um estudo teórico das características das bactérias. Dessa maneira, optou-se por apresentar um estudo não somente das três bactérias em questão, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*, mas também uma revisão das características deste grupo de microrganismos, estruturais, condições para o cultivo. Após esta revisão, serão enfocadas mais detalhadamente as características das bactérias estudadas.

As bactérias são organismos procaríotos, não possuem membrana nuclear e a maioria é unicelular. É a forma de vida dominante na Terra, com cerca de 3,5 a 4 bilhões de anos (PELCZAR, 1996; TODAR, 1998c). Elas podem ter vida livre ou podem viver em associações simbióticas com outros organismos, microrganismos, plantas e animais (TODAR, *op.cit.*). Atualmente há cerca de 1500 espécies de bactérias descritas, mas esse número é, provavelmente, menos de 1% (um por cento) de todas as espécies na natureza (PELCZAR, 1996; TODAR, 1998c). As bactérias possuem três formas básicas, de característica genética: cocos (esféricas); bacilos (cilíndricas) e espirilos (espiraladas) (ALTERTHUM & CARVALHAL, 1999; PELCZAR, *op.cit.*) e são normalmente medidas em micrômetros (cada micrômetro equivale a 1/1000mm). A maioria possui entre 0,5µm a 1,0µm de diâmetro ou largura, dependendo da espécie. Como exemplo, as bactérias pertencentes ao gênero *Staphylococcus* são cocos (esféricas), com um diâmetro de 0,5 a 1,5µm; *Pseudomonas aeruginosa* tem o formato de bacilo, com 1 a 5µm de comprimento por 0,5 a 1,0µm de largura e *Escherichia coli*, no formato de bacilo possui 0,3 a 1,0µm por 1,0 a 6,0µm (BARON *et al*, 1994; TODAR, 1997b).

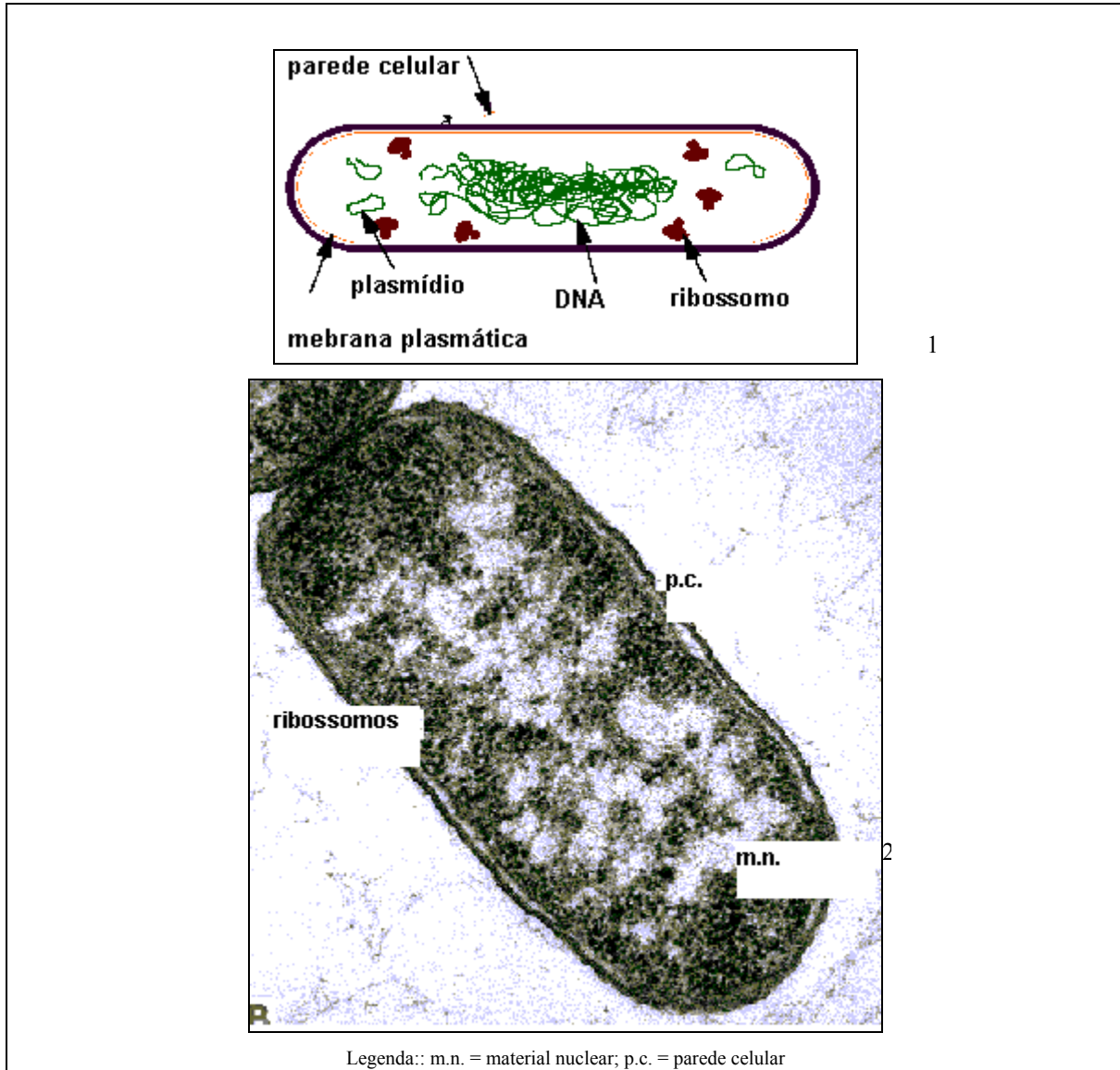
2.7.1 Estruturas Internas e Externas

São várias estruturas que funcionam na bactéria, interna e externamente à parede celular (ALTERTHUM & CARVALHAL, *op.cit.*).

Externamente têm-se *flagelos*, *pêlos* e, em algumas, *glicocálice*. Os flagelos estão relacionados a motilidade da bactéria; os pêlos à adesão, reprodução e nas infecções (realizam adesão) e o glicocálice, presente em bactérias como *E. coli* possui funções de adesão e proteção à fagocitose. As bactérias que possuem glicocálice podem ser uma praga às indústrias por serem responsáveis pelo acúmulo de lodo nos equipamentos podendo entupir filtros e fechar tubos ou outros equipamentos, afetando a qualidade final dos produtos (PELCZAR, *op. cit.*). As FIGURAS 1 e 2 mostram as estruturas presentes na bactéria.

A *parede celular* é uma estrutura rígida que mantém a forma de cada célula, prevenindo a expansão e rompimento da célula com a entrada de água. Pode corresponder a 10 a 40% do peso seco da célula (PELCZAR, *op. cit.*).

FIGURA 1 - ESQUEMA MOSTRANDO AS ESTRUTURAS INTERNAS E EXTERNAS DE UMA BACTÉRIA
 FIGURA 2 – FOTOGRAFIA DE MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE BACTÉRIA MOSTRANDO PAREDE CELULAR, RIBOSSOMOS E MATERIAL NUCLEAR



Legenda: m.n. = material nuclear; p.c. = parede celular

Fonte: <http://www.ucmp.berkeley.edu/bacteria/bacteriamm.html> . Foto de microscopia cedida ao site por Errol Kepkep. Acesso em 25/03/2002

Internamente, estão presentes: a área citoplasmática, contendo substâncias dissolvidas e partículas como o ribossomo, e o material nuclear, rico em material genético, o DNA. Há diferentes tipos de substâncias acumuladas no citoplasma como enxofre, grânulos de glicogênio, etc. O enxofre está presente em bactérias que oxidam H₂S. O material genético não fica em um núcleo

delimitado por membrana, mas fica disposto em uma porção próxima ao centro da célula e consiste de um cromossomo único e anelar (PELCZAR, *op. cit.*).

2.7.2 Crescimento Bacteriano

O crescimento refere-se ao aumento ordenado na soma de todos os componentes de um organismo. Por conseguinte, o aumento de tamanho que resulta quando uma célula capta água ou depósitos de lipídeos ou polissacarídeos não constitui um crescimento verdadeiro. A multiplicação celular é uma consequência do crescimento; nos organismos unicelulares, o crescimento leva a um aumento no número de indivíduos que formam uma população ou cultura (BROOKS, *et al.*, 1998b).

A população de microorganismos na biosfera é relativamente constante: o crescimento é contrabalançado pela morte. A sobrevivência de qualquer grupo microbiano no seu nicho é determinada, em grande parte, pela competição bem-sucedida por nutrientes e pela manutenção de um conjunto de células vivas durante a falta de nutrientes. Cada vez mais, fica evidente que muitos microorganismos existem em grupos formados por representantes de diferentes gêneros. Outros microorganismos, quase sempre caracterizados como células isoladas no laboratório, formam colônias coesas no ambiente natural (BROOKS *et al.*, *op. cit.*).

O conhecimento atual sobre microbiologia, principalmente fisiologia, provém de estudos laboratoriais com linhagens isoladas em condições ótimas, ou seja, os mesmos estão em condições diferentes do ambiente natural, não havendo competição interespecífica, estresse nutritivo etc, conduzindo a estados fisiológicos diferentes daquele do ambiente natural.

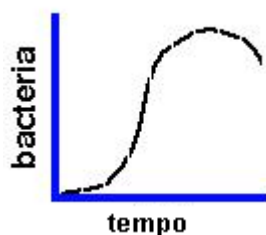
Muitos são os trabalhos realizados para obter equações matemáticas por onde é possível estimar o crescimento bacteriano, estudos empíricos que ainda não reproduzem com total fidelidade o que acontece na realidade, mas são maneiras para auxiliar o entendimento e prever, principalmente, a relação com os microrganismos que contaminam alimentos (GREJSPEERDT & VANROLLEGHEM, 1999; HILST & WRIGHT, 1994; NYSTRÖN, 1999). Da mesma maneira que um resíduo, um alimento também tem sua composição heterogênea, e o crescimento pode ocorrer sobre ou dentro dos alimentos, ocorrendo um amplo gradiente de nutrientes, pH e oxigênio, levando à diferenciação celular a microcolônias, havendo também uma ampla variedade na escala de distância de micra a alguns centímetros, podendo restringir a difusão de materiais para e a partir das microcolônias em crescimento (HILST & WRIGHT, *op.cit.*).

Com relação aos procedimentos de saúde pública, é importante frisar que um ambiente não estará livre de microrganismos, pois, a partir do momento em que um local torna-se ausente de um microrganismo, outros irão ocupar tal nicho, o que reflete a importância da ocupação de um nicho por competidores não-patogênicos a fim de evitar que os patogênicos o ocupem (BROOKS *et. al.*, *op. cit.*).

Curva de Crescimento

Se em um meio de cultura for inoculado com células microbianas retiradas de uma cultura que previamente cresceu até a saturação, e o número de células viáveis por milímetro for determinado periodicamente e representado na forma de um gráfico, obtém-se em geral uma curva de crescimento.

FIGURA 3 – CURVA DE CRESCIMENTO BACTERIANO TÍPICA



A curva pode ser didaticamente dividida em quatro fases: Fase Lag, Fase Logarítmica, Fase estacionária e Fase de Declínio.

QUADRO 3 – FASES DO DESENVOLVIMENTO BACTERIANO

Seção da curva	Fase	Crescimento
A	Lag	zero
B	Logarítmica	crecente
C	Estacionária	constante
D	de Declínio	descrescente

Fonte: ALTHERTHUM & CARVALHAL, 1999.

* Fase de Lag (A)

Representa um período durante o qual as células, com depleção de metabólitos e enzimas em consequência de condições desfavoráveis ocorridas no final de sua cultura anterior, adaptam-se a seu novo ambiente. Tal fase pode ou não existir, tendendo a ser longa quando o inóculo for pequeno, e é curta, quando em condições favoráveis de crescimento. Verifica-se a formação de enzimas e substâncias intermediárias que se acumulam até que alcancem concentrações suficientes para permitir a retomada do crescimento, sendo, portanto, um período de intensa atividade metabólica (ALTHERTHUM & CARVALHAL, *op. cit.*).

** Fase Logarítmica (B)*

Durante esta fase as células encontram-se em multiplicação máxima ou constante, crescendo e reproduzindo-se assexuadamente por fissão binária, sendo cada duplicação uma nova geração. O tempo de geração depende de fatores como temperatura de incubação, natureza do meio, aeração do meio, concentração de íons hidrogênio e natureza do organismo. A fase prossegue até que um ou mais nutrientes no meio se esgotam, ou até que ocorra um acúmulo de produtos metabólicos tóxicos que inibem o crescimento. No caso dos microorganismos aeróbios, o oxigênio é habitualmente o nutriente que se torna limitante.

** Fase Estacionária (C)*

Eventualmente, a exaustão de nutrientes ou o acúmulo de produtos tóxicos provocam a parada completa do crescimento, sendo as mudanças de pH e o potencial de oxirredução os responsáveis pela passagem da fase B para C. Todavia, na maioria dos casos, ocorre renovação celular na fase estacionária: verifica-se uma perda lenta de células pelo crescimento e divisão. Quando isso ocorre, a contagem total de células aumenta lentamente, apesar de a contagem viável permanecer constante.

Segundo Altherthum e Carvalhal (*op. cit.*), além das condições acima, outro fator importante é a necessidade de um *espaço biológico* para que ocorra o crescimento individual, devendo, nesse caso, haver uma quantidade mínima de nutrientes por unidade de superfície, hipótese esta sugerida com base na observação de ausência de crescimento e multiplicação em meios extremamente diluídos.

** Fase de Declínio (D)*

Fase em que ocorre o decréscimo da população, podendo a morte celular estar relacionada com a natureza e concentração do fator limitante. Depois de um período de tempo na fase estacionária, que varia de acordo com o microorganismo e as condições de cultura, a velocidade de morte aumenta até atingir um nível em estado de equilíbrio dinâmico. Com frequência, após a maior parte das células ter morrido, a velocidade de morte diminuirá drasticamente, de modo que um pequeno número de sobreviventes pode persistir durante meses ou mesmo anos.

Esta persistência pode, em alguns casos, refletir uma renovação celular; algumas células crescem à custa dos nutrientes liberados pelas células que morreram e que sofreram lise, situação que ocorre até o momento em que a célula não é mais capaz de continuar a dividir, mesmo se transferida a outro meio. Quando o fator limitante é o acúmulo de produtos metabólicos tóxicos, a *causa mortis* dependerá da natureza do fator, pouco sabendo-se a respeito de tais metabólitos e seu modo de ação (ALTHERTHUM & CARVALHAL, *op. cit.*).

2.7.3 Nutrientes Necessários ao Crescimento Bacteriano

As bactérias são formadas por diferentes moléculas, sendo predominante a presença de macromoléculas, particularmente proteínas e ácidos nucleicos. Os precursores dessas macromoléculas podem ser retirados do meio ambiente ou sintetizados a partir de compostos simples. Todas as bactérias necessitam de condições mínimas para sobrevivência e posterior reprodução, necessitando de fontes de energia, macronutrientes e micronutrientes. Como macronutrientes têm-se carbono, oxigênio, hidrogênio, nitrogênio, enxofre e fósforo e, como micronutrientes, há ferro, magnésio, manganês, cálcio, zinco, potássio, sódio, cloro, cobre, cobalto, selênio, molibdênio entre outros (BARBOSA & TORRES, 1999, TODAR, 1998b).

2.7.4 Condições Físicas para o Crescimento Bacteriano

Além dos nutrientes, é também necessário que o meio ambiente em que as bactérias vivem, seja ele natural ou em laboratório, propicie condições físicas adequadas a seu crescimento, ou seja, que a atmosfera gasosa, a temperatura e o pH estejam em níveis que permitam a sua sobrevivência (BARBOSA & TORRES, *op. cit.*, TODAR, 1998b).

2.7.4.1 Dióxido de Carbono e Oxigênio

O dióxido de carbono e o oxigênio são os dois principais gases que afetam o crescimento de células microbianas. O oxigênio é sempre fornecido em grandes quantidades pela água. A tolerância ou não ao oxigênio dependerá da presença de várias enzimas e de radicais de oxigênio gerados pelas células na presença de oxigênio.

No caso de microrganismos aeróbios ou anaeróbios tolerantes, a ação da enzima superóxido desmutase previne o acúmulo de superóxido nas bactérias, enquanto que a catalase e a peroxidase contribuem, quebrando a molécula de peróxido de hidrogênio.

Os microrganismos anaeróbios facultativos crescem na presença de oxigênio e também em anaerobiose; não requerem oxigênio para o crescimento embora possam utilizá-lo para produção de energia em reações químicas e, quando em anaerobiose, obtêm a energia por fermentação (Ex.: *Escherichia coli*).

Os anaeróbios não toleram a presença de oxigênio e não o utilizam nas reações para produção de energia; alguns podem tolerar baixas concentrações de oxigênio, mas os estritos, por não possuírem tais enzimas, sofrem oxidação letal quando expostos ao oxigênio (BARBOSA & TORRES, *op. cit.*; PELCZAR, 1996b, TODAR, *op. cit.*). Os microrganismos microaerófilos podem usar

o oxigênio nas reações químicas para produção de energia, mas não podem resistir ao nível de oxigênio atmosférico, 21% (PELCZAR, *op.cit.*).

2.7.4.2 Potencial hidrogeniônico

Em ambientes naturais, o potencial hidrogeniônico, pH, varia de 0,5 a 10,5, e a maioria dos procaríotos de vida livre crescem em uma escala superior a 3, e tendo como máximo, para seu crescimento, um pH igual a 9. O microrganismo deve manter o pH intracelular em torno de 7,5, não importando o valor do pH externo e, para que o pH celular interno seja alterado, o pH externo deve ser mudado drasticamente. Grande parte das bactérias tem um pH ótimo ao redor da neutralidade, por ser o valor mais adequado à absorção de alimentos. O pH ótimo é o valor em que o organismo terá seu melhor crescimento, havendo também os limites mínimo e máximo que irão variar com a espécie. (BARBOSA & TORRES, *op. cit.*, TODAR, *op. cit.*, PELCZAR *et al.*, 1996b).

2.7.4.3 - Temperatura

Tal como o pH, as bactérias também exibem uma faixa de temperatura em que podem crescer (mínima, ótima e máxima). Na temperatura ótima as enzimas estão na forma mais ativa. As temperaturas abaixo da ótima levam à desaceleração das reações metabólicas, ao passo que, acima da ótima, ocorre a desnaturação do material e, conseqüentemente, a morte da bactéria (BARBOSA e TORRES, *op. cit.*). No caso das bactérias utilizadas, são classificadas como mesófilas, por terem uma faixa de temperatura ótima entre 25 e 40°C; os microrganismos patogênicos ao homem são mesófilos, crescendo melhor em uma temperatura em torno de 37°C (temperatura corporal). A temperatura ótima de crescimento não é a mediana entre as temperaturas mínima e máxima, mas é mais próxima ao limite superior de temperatura (PELCZAR, 1996b).

2.7.5 Cultivo em Laboratório

Para se obter informações sobre crescimento, identificação, reprodução, entre outras características dos microrganismos é necessário o cultivo dos mesmos em laboratório, o que se iniciou no século XIX com a introdução do meio ágar, possibilitando a contagem de colônias.

O ágar possibilitou a origem de diversos meios de cultura sólidos mais complexos, contendo nutrientes necessários ao crescimento microbiano. Para possibilitar o crescimento de microrganismos em meios de cultura é necessário o fornecimento de macro e micronutrientes essenciais no microambiente de cultivo, seja ele tubos de ensaio, placas de Petri, etc (APHA, 1992, BARBOSA & TORRES, *op.cit.*, PELCZAR *et al.*, 1996c).

A composição do meio é muito variada, conforme as necessidades do microrganismo que se pretende cultivar, podendo ter uma composição simples, como apenas um único carboidrato como fonte de energia ou até uma composição complexa, usada para cultivo de microrganismos mais exigentes (BARBOSA & TORRES, *op. cit.*). Também é necessário obedecer aos limites quantitativos, pois, valores elevados de determinados nutrientes podem vir a inibir o crescimento microbiano. Atualmente o laboratório pode optar por fazer o meio de cultura no próprio local ou adquirir meios industrializados.

Há diversos tipos de meios: podem ser líquidos ou sólidos; para diferenciação das bactérias ele poderá ser *seletivo*, que inibe o crescimento de um determinado grupo de microrganismos, *diferencial*, para distinguir colônias de microrganismos diferentes. Os meios seletivos e diferenciais são empregados quando o objetivo é diferenciar os vários tipos de microrganismos em uma placa, crescendo apenas os microrganismos de interesse (BARBOSA e TORRES, *op. cit.*, PELCZAR, 1996c).

Para o cultivo de microrganismos, há alguns requisitos básicos obrigatórios como inoculá-los em meios de cultura adequados e incubá-los em condições ambientais igualmente adequadas. O inóculo é a amostra de material que contém geralmente uma pequena quantidade de microrganismos; obedecidas as condições citadas, os microrganismos multiplicam-se, aumentando em número e massa e, com isto, atingindo o objetivo desejado (BARBOSA e TORRES, *op. cit.*).

A utilização de placas de Petri com meio de cultura para cultivo de microrganismos levará ao aparecimento de colônias.

O meio ótimo e as condições na determinação da contagem de colônias podem variar, mas, uma vez que um procedimento é determinado, ele pode ser bastante útil para análise microbiana de rotina e, como pequenas variações nos procedimentos podem alterar os resultados obtidos com a contagem de colônia, são de extrema importância a competência e precisão dos analistas.

Historicamente, os métodos de contagem de colônia são baseados na técnica de pour plate. Entre os métodos de contagem, destaca-se a contagem colônia aeróbia. Os procedimentos são identificados como "contagem de placa padrão", "contagem de placa aeróbia", "contagem de placa total", "contagem de placa viável", "contagem mesofílica", etc. Esses métodos possibilitam o conhecimento do número estimado de microrganismos viáveis, mas, como as células microbianas ocorrem sozinhas ou em agrupamentos, a agitação da diluição inicial antes de inocular uma amostra no meio de cultura pode não separar esses agrupamentos. Assim, cada colônia que aparecerá na placa poderá ter se originado de uma única célula ou de agrupamentos de células, razão pela qual tem de ser referenciada como Unidade Formadora de Colônia (UFC). A precisão na contagem de colônias dependerá da obtenção de resultados similares ao se repetir as contagens, feitas por uma ou mais pessoas (APHA, *op.cit.*). Além disso, um fator que pode afetar a contagem é a esterilização mal realizada dos utensílios ou cuidados inadequados com o material esterilizado

que podem contaminá-los. Outros fatores incluem erros de diluição de amostra, distribuição inadequada da amostra na placa, entre outros (APHA, *op. cit.*).

O método de pour plate deu origem a diversos outros métodos, como o método de espalhamento na superfície "*surface or spread plate method*", método em placas Petrifilm®, "*calibrated loop methods*", "*drop plate method*" e "*membrane filter method*" entre muitos outros.

2.8 CARACTERÍSTICAS DOS MICRORGANISMOS

Os microrganismos *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus* são de grande interesse médico-sanitário por serem os grandes causadores de infecção hospitalar, além de serem comumente encontrados em análises microbiológicas dos RSSS, de maneira que é importante conhecer as características dos mesmos.

2.8.1 *Escherichia coli* (MIGULA, 1895) Castellani & Chalmers 1919^{AL}

Pertencentes à família Enterobacteriaceae, são bacilos gram-negativos, catalase positivos, não formadores de esporos, anaeróbios facultativos, com dimensões de 0,3-1,0µm por 1.0 -6.0µm (BARON *et al.*, 1994; TODAR, 1997) O crescimento ótimo é entre 22°C e 37°C, crescendo em meios simples; quimioautótrofos, (possuem metabolismos respiratório e fermentativo), fermentam ácidos e gases (MICROBIONET, 2001; TODAR, *op. cit.*) e vivem em um pH entre 4.4 e 9.0, sendo o pH ótimo entre 6.0 e 7.0 (TODAR, 1997b).

Presentes nas fezes de humanos e da maioria dos mamíferos (MICROBIONET, *op. cit.*), ocorrem no trato intestinal da maioria dos animais saudáveis de sangue quente (GRAY, 1995) e a colonização ocorre poucas horas ou dias após o nascimento pela ingestão da bactéria presente em alimentos, água ou diretamente de outros indivíduos. No caso dos seres humanos, o intestino é normalmente colonizado 40 horas após o nascimento e a bactéria pode aderir à mucosa do intestino delgado e, uma vez estabelecida a linhagem poderá persistir por meses ou anos (TODAR, *op. cit.*).

A *Escherichia coli* tem alta versatilidade, podendo crescer em meio que contenha apenas glicose. As linhagens selvagens, não necessitam de fatores de crescimento e podem transformar, metabolicamente, a glicose e os sais minerais em todas as macromoléculas que constituem a célula. Quando em condições anaeróbias fermentam e produzem ácidos e gases diversos, característicos como produtos finais.

Esta bactéria responde a sinais ambientais como substâncias químicas, pH e osmolaridade de várias maneiras. Como resposta a mudanças em temperatura e osmolaridade, pode variar o diâmetro do poro de porinas de sua membrana externa para acomodar moléculas maiores (nutrientes) ou para excluir substâncias inibidoras, podendo sobreviver às substâncias químicas

presentes em seu ambiente. Apenas produz enzimas para degradação de fontes de carbono e enzimas para síntese de metabólico caso estejam disponíveis as fontes de carbono e os nutrientes (TODAR, 1997c).

Espécie constituída por uma variedade de bactérias patogênicas que podem causar infecções intestinais, urinárias, septicemias, meningites, entre outras infecções, provavelmente é a bactéria mais versátil quanto a patogenicidade. É a bactéria mais comumente isolada em laboratórios de microbiologia clínica, os bacilos mais comuns nas fezes, a causa mais comum de infecção do trato urinário e uma causa comum de infecções intestinais e extraintestinais (GRAY, 1995) Somente em infecções intestinais são conhecidas diversas categorias de *Escherichia coli*, TRABULSI & CAMPOS (1999a) citam seis categorias: *E. coli* enteroinvasora (EIEC), *E. coli* enterohemorrágica (EHEC), *E. coli* enterotoxigênica (ETEC), *E. coli* enteroagregativa (EaggEC), *E. coli* enteropatogênica (EPEC) e *E. coli* que adere difusamente (DAEC). Já KONEMANN *et al.* (1997) citam apenas as cinco primeiras categorias. O importante a ser destacado é que tais categorias raramente causam infecção extra-intestinal.

Além das infecções intestinais, a bactéria também é responsável por outros três grupos de infecções: infecções urinárias, meningite do recém-nascido e bacteremia; nas duas primeiras infecções ela é uma das principais causadoras e, na bacteremia, é responsável por 40 a 50% das bacteremias causadas por Gram-negativos (TRABULSI & CAMPOS, 1999b).

Com relação às infecções urinárias, a espécie é responsável por 90% dos casos adquiridos na comunidade (TRABULSI & CAMPOS, 1999a; TODAR, *op. cit.*). Esta infecção normalmente se dá por via ascendente, ou seja, as bactérias presentes nas fezes coloniza a uretra e a bexiga e, em alguns poucos casos, os rins. As bactérias responsáveis pelos casos de infecção urinária possuem vários tipos de adesinas para não serem eliminadas com o fluxo urinário.

Quanto à meningite do recém-nascido, é adquirida pelo contato com a mãe e estudos epidemiológicos mostraram que durante a gravidez aumentam as taxas de colonização de antígenos K1, o maior determinante da virulência entre as linhagens de *E. coli* que causam a infecção; também inibe a fagocitose e os responsáveis pelos mecanismos imunológicos do hospedeiro. Com relação à bacteremia, 40 a 50% dos casos são causados por bactérias gram-negativas, sendo as fontes mais comuns de infecção os tratos urinário e digestório, cateteres intravenosos, aparelho respiratório e pele.

Os fatores responsáveis pela virulência são: adesinas, toxinas, propriedades antifagocíticas de superfície, defesas contra reações a soros bactericidas, defesas contra resposta imunológica e atributos genéticos (TODAR, *op. cit.*)

2.8.2 *Pseudomonas aeruginosa* (SCHROETER 1872) Migula 1900

Bactérias que pertencem à Família Pseudomonadaceae, são também chamadas de bacilos piocianicos pela capacidade em produzir o pigmento piocianina.

As bactérias dessa espécie têm a forma de bastonetes, são aeróbias, gram-negativas e móveis, com dimensões de 1 a 5µm de comprimento por 0,5 a 1,0µm de largura (GILLIGAN, 1995; TODAR, 1997d; TOLEDO & TRABULSI, 1999; MICROBIONET, 2001b). Não são fermentativas, mas podem crescer na ausência de oxigênio caso haja nitrato disponível, pois ele será o aceptor de elétrons (TODAR, *op. cit.*). A temperatura ideal para crescimento e reprodução é de 37°C, podendo crescer a 42 °C (MICROBIONET, *op. cit.*, TODAR, *op. cit.*) e o pH varia entre 5.6 e 8.0, sendo considerado como ótimo quando entre 6.6 e 7.0 (TODAR, 1997c).

A *Pseudomonas aeruginosa* produz quatro pigmentos, sendo os principais a piocianina, de coloração azul-esverdeada, e a pioverdina, esta, abundantemente produzida em meio com baixa quantidade de ferro. A combinação destes dois pigmentos resulta na cor verde brilhante, característica da espécie (GILLIGAN, *op. cit.*). Os outros dois pigmentos solúveis por ela produzidos são a piorubina, vermelho e piomelanina, marrom. Apenas algumas linhagens provenientes das secreções respiratórias de pacientes com fibrose cística não produzem pigmentos (GILLIGAN, *op. cit.*). O interessante quanto aos pigmentos é que eles podem inibir o crescimento de outras bactérias (TOLEDO & TRABULSI, *op. cit.*).

Encontrada nos mais diversos locais como solos, ambientes aquáticos, frutas e legumes, não é comum à microbiota de indivíduos saudáveis, sendo encontrada em 3% a 5% dos indivíduos sãos, mas é comum em pacientes imunodeprimidos. Na natureza, pode também ser encontrada em biofilmes, ligada a alguma superfície, substrato ou na forma plantônica, movendo-se graças a um flagelo polar (TODAR, *op. cit.*). Em ambientes hospitalares, está presente em uma série de soluções aquosas como: desinfetantes, águas e equipamentos de diálise, aeradores, banhos de hidroterapia, tocas de banho, equipamentos respiratórios terapêuticos, superfícies de frutas e legumes crus. A presença em frutas e legumes é a razão pela qual os pacientes com imunodepressão profunda não podem ingeri-los, para evitar uma bacteremia. Além de fontes hospitalares, pode também ser encontradas em piscinas, soluções de lentes de contato, cosméticos, drogas injetáveis ilícitas e snorkels, além de fezes e esgotos (GILLIGAN, *op. cit.*, MICROBIONET, *op. cit.*).

Estudos mostram a alta incidência de infecções por *Pseudomonas aeruginosa* em hospitais norte-americanos, entre 1985 e 1991, quando ela era o quarto patógeno nosocomial mais frequentemente isolado (10,1% das infecções hospitalares adquiridas). Em 1997 foi realizado um estudo no continente americano, analisando-se 4267 infecções nosocomiais e infecções sanguíneas

adquiridas e constatou-se que ela é a terceira bactéria mais comumente isolada, com 10,6% atrás de *Escherichia coli* (41%) e *Klebsiella* spp. (17,9%).

A *Pseudomonas aeruginosa* possui uma grande versatilidade metabólica, não sendo necessários fatores orgânicos de crescimento e, como exemplo de sua exigência nutricional mínima, tem-se a constatação de seu crescimento em água destilada. A predileção por ambientes úmidos é notada, apesar de sua tolerância a uma ampla variedade de condições físicas, incluindo temperatura, fator este que contribui ao sucesso ecológico da espécie como patógeno oportunista (TODAR, *op. cit.*).

Considerada um patógeno oportunista, pode causar várias doenças e é uma das maiores responsáveis pelos casos de infecção hospitalar, principalmente em infecções no trato respiratório, que podem ser sérias no caso de pacientes entubados (GILLIGAN, *op. cit.*, TOLEDO & TRABULSI, *op. cit.*), em pacientes com queimaduras e àqueles que são submetidos à quimioterapia (GIAMARELLOW, 2000) além de colonizarem mucosas ou a pele de pessoas tratadas com antibióticos de amplo espectro que não estão infectadas com essa bactéria, mas estão apenas colonizadas. No último caso, o antibiótico poderá levar a uma seleção das bactérias mais resistentes (GIAMARELLOW, *op. cit.* GILLIGAN, *op. cit.*). Por outro lado, uma realidade perigosa aos pacientes imunodeprimidos, é a transmissão das bactérias de um paciente a outro pelas mãos dos funcionários do hospital (GIAMARELLOW, *op. cit.*). Há infecções nosocomiais dessas bactérias no trato urinário, infecções de ferimentos e bacteremia. Os pacientes mais vulneráveis são os neutropênicos (com baixa taxa de leucócitos neutrófilos no organismo) e pacientes que estão sob ventilação mecânica. Entre os neutropênicos, a mortalidade de pacientes com bacteremia não tratada em 48 horas excede os noventa por cento (90%), enquanto que naqueles sob ventilação mecânica a mortalidade média é de 69%, sendo *Pseudomonas aeruginosa* responsável por pelo menos trinta e oito por cento (38%) das mortes (GIAMARELLOW, *op. cit.*).

As infecções adquiridas na comunidade tendem a se localizar e a associar-se à água ou soluções contaminadas, sendo a foliculite e a otite as infecções superficiais comunitárias mais comuns, adquiridas em banhos e piscinas (GILLIGAN, *op. cit.*, TODAR, *op. cit.*) Outras infecções causadas por esta bactéria incluem: infecções oculares – normalmente associadas ao uso de lentes de contato, que pode levar à formação de úlceras nas córneas -, osteomielite no calcâneo em crianças e a endocardite. Entre as infecções adquiridas na comunidade, a mais grave é a endocardite, que ocorre em usuários de drogas intravenosas ao injetarem a droga misturada à água contaminada que pode resultar em uma bacteremia. Tal situação poderá levar a uma necessidade da troca da válvula infectada. Aliada a endocardite também pode haver o desenvolvimento de osteomielite em vários ossos (GILLIGAN, *op.cit.*).

Os fatores que contribuem à virulência da espécie são os mais diversos como proteases (enzimas responsáveis pela destruição de tecido e invasão bacteriana), exotoxina A, a mais tóxica,

produzida quando há limitação de ferro, e ataca a síntese de RNA, exoenzima S, fosfolipase P, pigmentos e polissacarídeo capilar e toxinas como leucocidina e hemolisinas – estas destroem o pulmão levando à formação de abscessos e comprometendo a cinética de antibióticos, que levará a uma maior permanência das bactérias no pulmão, ou então, poderão aparecer clones resistentes (GIAMARELLOW, *op. cit.*, MICROBIONET, *op. cit.*, TOLEDO & TRABULSI, *op. cit.*). A bactéria também produz um exopolissacarídeo que oferece proteção aos fatores imunes do hospedeiro (GIAMARELLOW, *op. cit.*).

Para se ligar à célula eucariota, o pili é a principal adesina usada pelas bactérias, e isso foi provado usando-se linhagens de laboratório e mutantes com e sem pili. Como resultado obteve-se que as bactérias que não possuíam pili tiveram uma aderência reduzida, mas ainda existente, sugerindo a presença de uma outra adesina que não o pili (CERVIN *et al.*, 1994).

2.8.3 *Staphylococcus aureus* (ROSENBAACH 1884^{AL})

Integrantes da família Micrococcaceae, as bactérias dessa espécie possuem o formato de cocos, são gram-positivas, anaeróbias facultativas (reduzem nitrato) não formam esporos, não possuem cápsula, ou sua formação é limitada. Os cocos possuem um diâmetro de 0,5 a 1,5µm e podem estar sozinhas, em pares, tétrades, e tendem a formar agrupamentos na forma de cachos de uvas. São catalase positivas, quimiorganotróficos, mas sob condições anaeróbias podem fazê-lo a partir da fermentação do ácido láctico; suas maiores fontes de energia são carboidratos e aminoácidos. A temperatura ótima de crescimento está na faixa de 30 a 37°C e a faixa de pH é de 4.2 a 9.3, com um ótimo variando entre 7.0 e 7.5 (FOSTER, 1997; <<http://www.jarl.cs.uop.edu/~cushiro/2001>>, MARTINS, 1999).

Sua colônia é grande, com um diâmetro superior a 6mm após incubação em meio ágar por 3 dias a 37° C e, em temperatura ambiente, 25°C, por um adicional de 2 dias. O crescimento do *Staphylococcus aureus* é mais lento, necessitando de 24 a 36 horas para que o desenvolvimento das colônias seja detectável (KLOOS & BANNERMAN, 1995).

Microorganismo comensal, ele faz parte da microflora natural do ser humano e de outros mamíferos. É um patógeno oportunista, sendo grande responsável pela morbidade e mortalidade como patógeno nosocomial. (KLOOS & BANNERMAN, 1995). Junto com a *Escherichia coli* é uma das grandes causas de infecções hospitalares (BHAKDI & TRANUMENSEN, 1991). Espécie endêmica em quase todos os hospitais, levando ao óbito 80 a 90% dos casos de infecção.

Agente mais comum de infecções piogênicas, localizadas na pele ou em regiões mais profundas e em pacientes debilitados pode causar doenças mais graves (MARTINS, *op. cit.*). As doenças piogênicas são foliculite, furunculose, carbúnculo e impetigo, o nome varia conforme a

localização e as características. Com relação às doenças mais graves destacam-se bacteremia, endocardite, pneumonia, mastite e osteomielite (MARTINS, *op. cit.*, FOSTER, 1997).

Como intoxicações tem-se a síndrome da pele escaldada (deslocamento da área da epiderme, deixando-a com aspecto semelhante quando banhada por água fervente), e intoxicações que ocorrem na ausência de processos infecciosos como intoxicação alimentar e síndrome do choque tóxico (paciente apresenta febre, pressão baixa, insuficiência renal, diarreia etc havendo uma associação entre dele com o uso de tampões absorventes e presença da bactéria na mucosa vaginal) (MARTINS, *op. cit.*).

Dos locais onde causa infecção, a bactéria pode cair na corrente sanguínea, espalhando-se pelo corpo formando abscessos em vários órgãos, causando septicemias, endocardite e sendo detectável também na urina (BARON *et al.*, 1994b). Pode causar infecções oportunistas quando em condições ideais.

As infecções podem ser causadas por bactérias do próprio indivíduo ou pode ocorrer uma transmissão de outros doentes ou portadores, de maneira direta ou indireta (MARTINS, 1999). As infecções estafilocócias podem se tornar graves em pessoas com doenças como câncer e diabetes (MARTINS, *op. cit.*).

São vários os fatores de virulência desta bactéria como componentes da superfície da célula (cápsula, peptidoglicano, ácidos teicóicos, proteína A e adesinas), substâncias extracelulares (toxinas e enzimas coagulase e estafiloquinase) (MARTINS, *op. cit.*, FOSTER, *op.cit.*). Os efeitos patogênicos são principalmente associados com as toxinas; das toxinas produzidas, a melhor caracterizada é a α -toxina.

Com relação à cápsula, ela está presente na maioria das amostras clínicas, e muitas vezes é denominada microcápsula porque sua visualização é possível apenas no microscópio. A cápsula torna a bactéria mais resistente à fagocitose devido a produção de exopolissacarídeos que podem promover a aderência dos organismos às células (KONEMANN *et al.*, *op. cit.*).

O peptidoglicano é um componente da parede celular que contribui à resposta inflamatória.

Os ácidos teicóicos são importantes componentes da parede celular e parecem estar envolvidos na aderência do microrganismo às células da mucosa.

A proteína A está presente na parede celular de *Staphylococcus aureus* e funciona como um fator de virulência, interferindo na fagocitose. Durante o crescimento celular *in vitro*, ela é liberada para o meio de cultura, o que pode também ocorrer nos processos inflamatórios.

Quanto as adesinas, algumas evidências sugerem que o *Staphylococcus aureus* utiliza-as para se ligar ao colágeno, às fibronectinas e lamininas.

Há uma série de enzimas e toxinas extracelulares que são produzidas pelo microrganismo, atribuindo-se à maioria delas participação na patogênese das infecções causadas por ele e a mais conhecida é a coagulase. A coagulase coagula o plasma quando da transformação da protrombina

em trombina que ativa a formação de fibrina a partir do fibrogênio. Entre as toxinas destacam-se a esfoliatina, as enterotoxinas, hemolisinas e leucocidinas (MARTINS, *op. cit.*).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

Para o estudo do comportamento das bactérias em percolado de um Resíduo Sólido de Serviço de Saúde (RSSS), foi necessário criar um percolado, e isso ocorreu passando diariamente um fluxo de água através de um RSSS.

O resíduo foi montado em laboratório, após levantamento realizado por SILVA (2000) no Hospital Governador Celso Ramos, na cidade de Florianópolis, SC. A autora citada, a equipe de profissionais do Laboratório Central de Saúde Pública de Santa Catarina (LACEN/SC) e do Laboratório de Resíduos Sólidos (LARESO) da UFSC, desenvolveram um resíduo infeccioso padronizado, inoculando o resíduo com cepas das seguintes bactérias: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*, bactérias comumente envolvidas nos casos de infecção hospitalar e também encontradas em resíduos.

O resíduo foi então colocado dentro de um reator de fluxo contínuo e mantido a 25°C em uma estufa do tipo DBO e recebeu um fluxo diário de água, obtendo o percolado que foi coletado em dois momentos: logo após a passagem pela massa de resíduo, aqui chamado de *percolado imediato* e o percolado armazenado em um balão volumétrica, chamado de *percolado acumulado*. Após coleta, ambos percolados foram analisados.

O emprego de um resíduo hospitalar *in natura* não foi possível por duas razões: o Laboratório de Microbiologia não possui as condições de segurança necessárias para utilizar um resíduo hospitalar contaminado, além disso, não seria possível saber até que ponto o comportamento de uma bactéria seria influenciado por outros organismos, porquanto são difíceis a identificação, a quantificação e acompanhamento do comportamento de todos os microrganismos presentes em um resíduo. Dessa maneira, devido a diversidade existente dos mesmos, sejam eles indicadores ou não, poderia resultar em uma análise errônea.

A utilização de um Resíduo Hospitalar Infeccioso (RHI) apresenta a vantagem de possibilitar a reprodução dos experimentos em qualquer local. Além disso, o monitoramento de diversos parâmetros físicos permite averiguar se mudanças no comportamento das bactérias ocorrem devido a oscilações nos parâmetros físicos.

No total foram realizadas 6 séries de ensaios: 3 séries com uma duração média de 30 dias cada, inoculando as três espécies de bactérias e 3 séries, com duração média de 20 dias cada, sendo cada uma com apenas uma espécie de bactéria inoculada. As três séries com uma menor duração tiveram o objetivo de verificar o comportamento da bactéria sozinha, no percolado e, dessa forma, averiguar o comportamento da bactéria em um resíduo que não possui matéria orgânica e tentar entender se há algum tipo de competição entre elas, comparando esses resultados com os das séries com as três bactérias juntas.

As análises microbiológicas tiveram início a partir do momento em que se constatava a formação de percolado suficiente para coleta. A partir desse momento, a coleta do material para as análises microbiológicas ocorreu diariamente, sendo o material coletado sempre no mesmo horário, entre 08:00 e 09:00 horas da manhã. Para quantificação dos microrganismos, a metodologia empregada foi desenvolvida pela equipe do LACEN na etapa anterior (SILVA, 2000), uma adaptação do método “*surface or spread plate*”.

No final das séries também foi realizada a análise microbiológica do resíduo; essas análises foram importantes para saber se a concentração de microrganismos no resíduo após os dias de experimento estava muito baixa ou não, possibilitando o conhecimento se há ou não adesão dos microrganismos no resíduo que, como hipótese, poderiam ser “lavados” com o fluxo de água aplicado.

O método empregado nesse estudo foi o de “*surface or spread place method*” e tem como vantagem que as colônias aparecerão na superfície das placas, o que também facilita quando da necessidade do emprego de meios de cultura não translúcidos, como o Baird Parker Ágar[®] utilizado no trabalho, além de facilitar a contagem de microrganismos, que são mais facilmente observados. A desvantagem do método é que, por utilizar um pequeno volume da amostra (0.1 a 0.5 mL), o método pode ser impreciso para amostras que contêm poucos microrganismos, que podem aderir a tubos e espátulas (APHA, 1992).

Nas séries isoladas de *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa* foram coletados fragmentos do resíduo que passaram por um processo de lavagem com várias substâncias químicas, além de outras etapas para então serem analisados em microscopia eletrônica de transmissão e de varredura, na primeira para visualizar a bactéria e, na segunda, para visualizar as colônias de bactérias sobre o material. As análises em microscopia eletrônica foram realizadas no Centro de Microscopia Eletrônica (CME) da Universidade Federal do Paraná.

Além da temperatura constante foram monitorados alguns parâmetros físicos como: potencial hidrogeniônico (pH), concentração de oxigênio dissolvido (O. D.) e concentração de carbono orgânico total, tentando, dessa maneira, ter um controle da maioria dos parâmetros possíveis, para que, no final, pudesse ser entendido se há influência desses parâmetros no comportamento das bactérias.

Ao final de cada série, o percolado que não seria mais utilizado foi encaminhado para análises de Nitrogênio (Nitrogênio Total, Nitrato, Nitrito) e Fósforo; nem sempre foi possível a realização de todas análises desejadas, devido ao volume final do percolado. Essas análises foram realizadas no Instituto de Pesquisas Ambientais e Tecnológicas da Universidade do Extremo Sul Catarinense (IPAT/UNESC). As amostras foram enviadas refrigeradas; para análise de Nitrato, a amostra foi enviada apenas refrigerada, e, para as outras análises, as amostras foram previamente acidificadas com ácido clorídrico até atingirem um pH inferior a 2,0.

Como um experimento laboratorial, este trabalho não teve como objetivo simular todas as variáveis ambientais, entretanto, por ser um sistema muito bem delimitado e monitorado em diversos aspectos, os resultados em laboratório servirão como ferramentas para auxiliar na interpretação de dados levantados no ambiente.

Todas as análises microbiológicas utilizaram meios de cultura da marca MERCK.

A seguir será feito um detalhamento da metodologia.

3.1 LOCAL E PERÍODO DE ESTUDO

O presente trabalho foi desenvolvido nas dependências do Laboratório de Microbiologia, pertencente ao Laboratório Integrado de Meio Ambiente (LIMA), do Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), localizado no Campus Universitário – Florianópolis/SC. A fase experimental foi conduzida em um reator de fluxo contínuo com entrada diária de um fluxo de água, permitindo assim a formação de percolados, imediato e acumulado e foi realizada entre os meses de Junho e Dezembro de 2001, e algumas análises químicas foram realizadas em Janeiro de 2002.

3.2 REATOR DE FLUXO CONTÍNUO

Os experimentos foram desenvolvidos em um sistema de reator de fluxo contínuo que recebia alimentação de água destilada (previamente esterilizada em autoclave) armazenada em um balão volumétrico por meio de uma bomba peristáltica. O reator constituía-se em uma coluna de vidro transparente com 100mm de diâmetro e 500mm de altura. Na sua parte superior havia uma tampa de vidro isolando o sistema de influências externas, fragmentos ou partículas, que poderiam contaminar o experimento. Nessa tampa havia uma pequena abertura onde foi inserida uma mangueira de silicone com diâmetro interno de 3mm, permitindo a entrada de água no sistema.

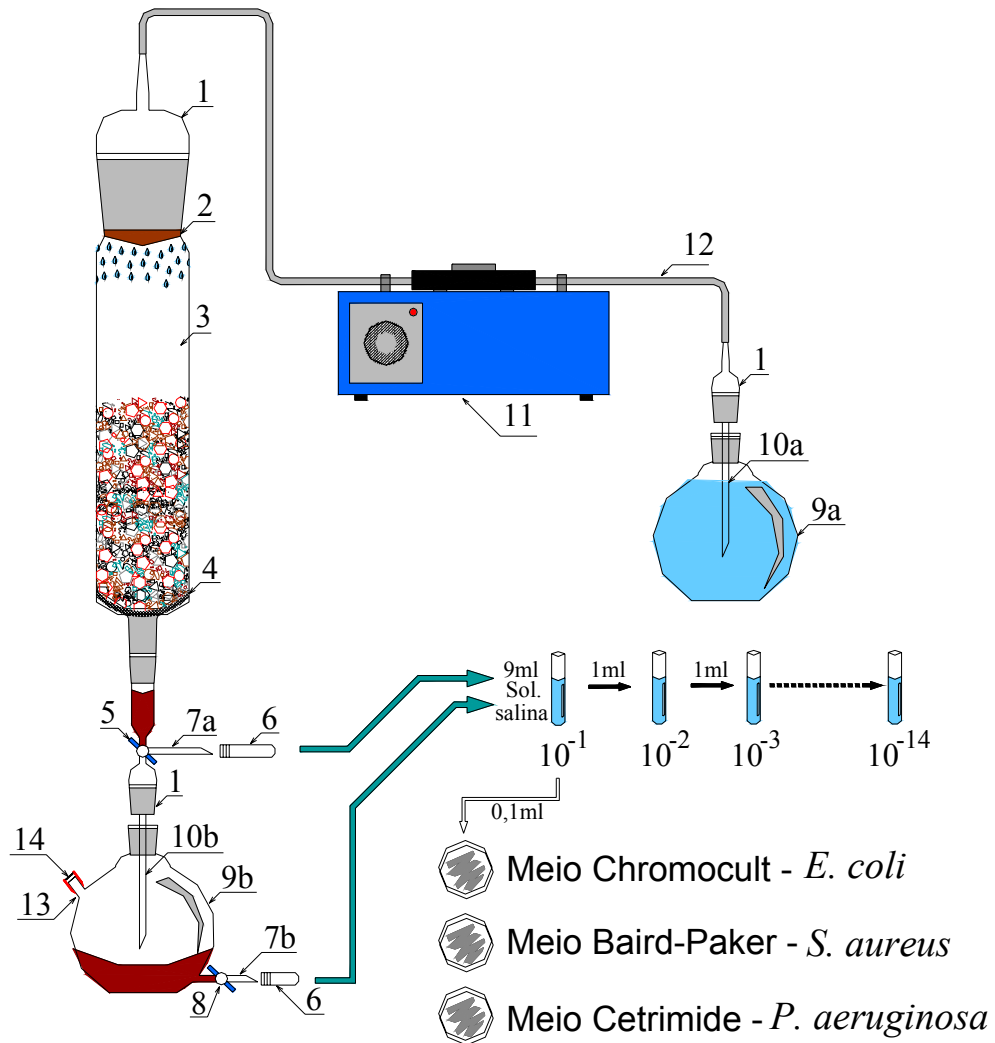
Abaixo da tampa de vidro foi colocado um dispositivo de vidro com aberturas laterais para distribuição homogênea da água no resíduo, que foi disposto na coluna de vidro. Para dar sustentação aos resíduos foi acoplada, na base da coluna, uma tela de malha fina, com uma camada de silicone a sua volta, impedindo que os mesmos obstruíssem a saída do percolado.

A saída do percolado foi conduzida por dois caminhos diferentes, sendo a primeira localizada no sentido perpendicular, ponto de coleta do percolado imediato, e a outra no sentido do fluxo normal, onde o percolado acumulava-se em um balão volumétrico de fundo chato para posterior coleta do percolado acumulado. Nos dois locais de coleta de amostra foram instaladas torneiras de duas vias para facilitar a retirada dos percolados. Na FIGURA 4 pode-se visualizar o esquema do reator de fluxo contínuo.

A partir da segunda série, foi colocado, no interior do balão de fundo chato, um “peixinho” magnético e, abaixo do reator um agitador eletrônico com o objetivo de misturar o percolado acumulado antes de coletá-lo. Isso foi feito após verificarmos na primeira série que o percolado não era armazenado de maneira homogênea. Dessa maneira, o objetivo foi alcançado.

Todas as peças que compõem o reator foram esterilizadas em autoclave vertical (marca Phoenix, modelo SD-137) a 121°C e a 1 atmosfera por 30 minutos, separadamente, com exceção da tela de malha fina que foi esterilizada na capela de fluxo laminar com raio ultravioleta por 30 minutos.

FIGURA 4 – ESQUEMA DO REATOR DE FLUXO CONTÍNUO

**Legenda**

1. Tampas de vidro;
2. Sistema para distribuição homogênea de água;
3. Coluna de vidro transparente, com 100mm de diâmetro e 500mm de altura;
4. Tela de malha fina, para dar suporte aos resíduos;
5. Torneira de 3 vias;
6. Tampa de vidro, para proteger o local de coleta do percolado;
7. Pontos de coleta: a) percolado imediato b) percolado acumulado
8. Torneira de 2 vias;
9. Balão volumétrico com fundo chato de 2L: a) reservatório de água b) reservatório do percolado;
10. Canaliculo de vidro adaptado na tampa: a) para ajudar na saída de água b) para levar o percolado diretamente ao fundo do balão, facilitando, assim, a coleta;
11. Bomba de coleta peristáltica;
12. Mangueira flexível de silicone, com diâmetro: interno – 3mm e externo – 5mm;
13. Tubo de retorno;
14. Tampa de borracha, para que o líquido retorne via injeção.

3.3 RESÍDUO UTILIZADO

O resíduo tipo utilizado na parte experimental foi baseado no levantamento realizado por SILVA (2000) aumentando-se, porém, a quantidade. De 70 g de fração sólida e 30 mL de fração líquida passou-se a utilizar 150 g de fração sólida e 64,29 mL de fração líquida. As devidas proporções entre os componentes das frações sólidas e líquidas foram mantidas de acordo com a composição gravimétrica anteriormente determinada, mantendo-se a umidade em 30%. No caso das séries isoladas, para manutenção da umidade em 30% optou-se por aumentar o volume de soro fisiológico para compensar o volume dos inóculos que não foram utilizados (4,28 mL).

As TABELAS 8, 9 e 10 apresentam a composição das frações sólida e líquida empregadas.

Para a simulação do resíduo tipo, cada componente da fração sólida foi pesado e cortado, separadamente, e, em seguida, colocado em um Becker de 2000 mL. Todos esses componentes foram esterilizados em autoclave a 121°C e a 1 atmosfera durante 30 minutos.

TABELA 8 – COMPOSIÇÃO DA FRAÇÃO SÓLIDA DO RESÍDUO

Material	Quantidade (g)
Algodão	
Gaze	13,89
Algodão hidrófilo	13,89
Látex – Luvas	29,53
Plástico	
Não filme	40,46
Filme	11,81
Papel	
Ofício	24,73
Cartão	1,99
Vidro – pérolas	2,87
Adesivos	
Esparadrapo comum	5,01
Fita crepe	5,01
Alumínio – Papel alumínio	0,49
Outros	
Madeira –Palitos	0,16
Lã de aço	0,16
Total	150,00

TABELA 9 – COMPOSIÇÃO DA FRAÇÃO LÍQUIDA DO RESÍDUO.

Material	Quantidade (mL)
Soro Fisiológico	25,74
Urina humana masculina	10,71
Sangue	10,71
PVPI	10,71
Solução inóculo de <i>E. coli</i>	2,14
Solução inóculo de <i>P. aeruginosa</i>	2,14
Solução inóculo de <i>S. aureus</i>	2,14
Total	64,29

TABELA 10 – COMPOSIÇÃO DA FRAÇÃO LÍQUIDA DO RESÍDUO NAS SÉRIES ISOLADAS

Material	Quantidade (mL)
Soro Fisiológico	30,02
Urina	10,71
Sangue	10,71
PVPI	10,71
Solução inóculo da Bactéria	2,14
Total	64,29

3.4 TESTE DE ESTERILIDADE DA FRAÇÃO LÍQUIDA DO RESÍDUO TIPO.

A esterilização da fração líquida do resíduo tipo alteraria as propriedades dos mesmos, e, apesar do soro fisiológico e do PVP-I virem estéreis de fábrica, e, admitindo-se que o sangue desfibrinado de carneiro e a urina humana masculina são estéreis, todos os componentes foram analisados microbiologicamente: de cada componente foi retirada uma alíquota de 0,1 mL (100 μ L) que foi transferida para placas contendo meio não seletivo – ágar sangue e Meio Ágar Mueller-Hinton[®]. As placas foram incubadas por 24 horas para verificar se o material estava ou não contaminado. A opção por sangue desfibrinado de carneiro foi feita na outra etapa (SILVA, *op. cit.*) pois o sangue não desfibrinado apresentou contaminação microbiológica.

3.5 PREPARO DA SOLUÇÃO INÓCULO

Na solução inóculo foram utilizadas cepas padrão liofilizadas da *American Type Culture Collections* (ATCC), sendo ATCC 25922 para *E. coli*, ATCC 27853 para *P. aeruginosa* e ATCC 25923 para *S. aureus*, adquiridas no Laboratório Laborclin (FIGURA 5).

FIGURA 5 – FOTOGRAFIA DOS FRASCOS CONTENDO AS CEPAS LIOFILIZADAS UTILIZADAS NO EXPERIMENTO



Antes de serem adicionadas ao resíduo, as cepas foram reidratadas com 2 a 3 mL de B.H.I. (Brain Heart Infusion) estéril e incubadas por 18 a 24 horas a 36°C. Após esse período as cepas foram semeadas em meio Mueller Hinton® (não seletivo) e incubadas em estufa bacteriológica por 24 horas a 36°C para obtenção de colônias isoladas, como pode ser observado na FIGURA 6.

FIGURA 6 – FOTOGRAFIA MOSTRANDO ESTRIAS PARA OBTENÇÃO DE COLÔNIAS ISOLADAS EM PLACAS COM MEIO MUELLER HINTON®



Transcorrido esse período retirou-se uma colônia de tamanho médio de cada placa, com o auxílio de uma alça bacteriológica, transferindo-a para tubos contendo 5, 9, 10 e 20 mL de meio B.H.I..

Os tubos foram incubados a 36°C por um período de 18 a 26 horas, conforme o tempo necessário para cada espécie atingir a solução inóculo com concentração desejada, que deveria ser entre 10^7 e 10^8 UFC/mL. Essa concentração foi a escolhida por SILVA (2000) após constatar que, na literatura, os valores da população microbiana no homem, em saneamento e microbiologia do solo estavam nessa ordem.

Como o laboratório não possuía equipamento adequado para inocular uma concentração exata para todas as bactérias, a escolha dos tubos foi feita comparando-se as concentrações visualmente e escolhendo os semelhantes. Após a escolha dos tubos, foi retirado 2,14mL de cada tubo, que foi inoculado no resíduo.

A escolha de tubos por semelhança em seu aspecto mostrou-se satisfatória e isso foi possível constatar verificando a concentração de microrganismos. Para tanto se inoculou 0,1mL (100 μ L) de cada tubo em meio seletivo adequado para cada bactéria, incubando em estufa bacteriológica a 36°C. Após 24 horas contou-se o número de unidade formadora de colônias em cada placa. Em todas as séries, as três espécies tiveram a concentração entre 10^7 e 10^9 . A TABELA 11 apresenta o período de incubação de cada cepa bacteriana.

TABELA 11 - MICRORGANISMOS UTILIZADOS E PERÍODO DE INCUBAÇÃO DOS MESMOS

Microrganismos	Cepas	Período de incubação
Escherichia coli	ATCC 25922	22 horas
Staphylococcus aureus	ATCC 25923	24 horas
Pseudomonas aeruginosa	ATCC 27853	26 horas

3.6 MONTAGEM DO RESÍDUO NO REATOR

Com a fração sólida estéril, adicionou-se, um a um, cada elemento da fração líquida, bem como os inóculos de cada cepa bacteriana no béquer de 2000mL. Com auxílio de um bastão de vidro e de uma pinça misturou-se bem todo o conteúdo. A seguir, utilizando-se a pinça, o resíduo foi colocado na coluna de vidro do reator. A FIGURA 7 mostra o resíduo disposto na coluna do reator. Todos esses procedimentos foram realizados dentro da cabine de biossegurança classe II (fluxo laminar), da LABCONCO, modelo 36212, para garantir que o processo fosse realizado de forma estéril.

FIGURA 7 – FOTOGRAFIA DA DISPOSIÇÃO DO RESÍDUO PADRÃO NO REATOR E DETALHE DO DISPOSITIVO DE VIDRO PARA DISTRIBUIÇÃO HOMOGÊNEA DE ÁGUA



3.7 CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS

Após a preparação do resíduo tipo e a montagem do reator, este foi mantido em temperatura controlada, na estufa BOD (marca Nova Ética, modelo 411/D) a 25°C, durante todo o período de experimentação, não sendo retirado da estufa no momento da coleta dos percolados (FIGURA 8).

No início de cada série, aplicou-se um volume diário de 50 mL de água destilada até que houvesse a formação de percolado. A partir deste momento o volume diário passou a ser de 37 mL. A escolha do volume 37 mL foi feita baseada em dados pluviométricos, dividindo a precipitação anual pelos 365 dias do ano. Isso porque, a princípio, o objetivo era atrelar o trabalho a dados de precipitação reais, entretanto, após consultarmos o Professor Pércles do Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental foi-nos explicado que não se podia fazer tal relação, pois as chuvas não são constantes, e, nesse caso o ideal seria passar a água pelo resíduo somente nesses dias. Como isso não possibilitaria a formação de percolado em quantidade suficiente no tempo do

experimento, optou-se por empregar esse volume sem condicioná-lo a situação real, mas sim apenas utilizando a água para fins de formação de percolado.

A alimentação do reator com água destilada estéril, armazenada em um balão volumétrico acoplado ao sistema (FIGURA 4, item 9a), foi feita por meio de uma bomba peristáltica, ligada diariamente no mesmo horário, antes da coleta dos percolados.

Preparo de placas com o meio de cultura.

Para análise das bactérias foi necessário o preparo das placas de Petri descartáveis contendo os meios de cultura.

Cada meio de cultura foi preparado conforme indicação do fabricante, descrito anexo. Colocando as placas e o balão volumétrico contendo o meio de cultura próximas a dois bicos de Bunsen, verteu-se aproximadamente 20 mL de meio em cada placa de Petri que, após secarem foram estocadas em geladeira.

Para serem utilizadas, a cada dia retirava-se a quantidade necessária de placas para as diluições a serem feitas, incubando-as em estufa bacteriológica a 36°C por 16 a 18 horas antes de utilizá-las, para que pudessem ficar secas.

Antes da coleta e plaqueamento dos percolados, as placas foram limpas com álcool 70% e marcadas, na parte inferior, a diluição que seria feita naquela placa. Todos os materiais utilizados no procedimento foram desinfetados com álcool antes de serem levados para a capela de biosegurança.

Coleta dos percolados

As coletas dos percolados foram realizadas em dois pontos: o **imediato** foi coletado em uma saída lateral localizada logo abaixo da coluna de vidro do reator (conforme a FIGURA 9), enquanto que o **acumulado** foi coletado no balão de fundo chato, posicionado na base do reator, que também pode ser visualizado na mesma figura. O objetivo da coleta do percolado em dois momentos foi saber a concentração de microrganismos presentes logo após a passagem através do resíduo e quando fica armazenado em um local, sendo possível a comparação.

A coleta dos percolados imediato e acumulado teve início a partir do momento que foi detectada a formação de percolado em um volume suficiente para ser coletado e analisado. O percolado acumulado demorou um tempo maior para ser formado que o imediato, pois além do volume formado ser inicialmente utilizado para análise de percolado imediato, é possível perceber, na FIGURA 4, que a torneira de duas vias para coleta do percolado acumulado não ficava na base do balão volumétrico, mas um pouco acima. Assim, foi necessário um volume mínimo a ser acumulado até possibilitar a coleta, e este era o objetivo, pois possibilitou o armazenamento do percolado antes de ser analisado. As coletas das amostras foram realizadas sempre pela manhã,

com o objetivo de padronizar o horário de coleta (entre 8:00 e 9:00 horas). Para coleta, utilizou-se tubo de ensaio longo para cada um dos percolados, e, no momento da coleta, um isqueiro foi aceso e colocado próximo do ponto de coleta a fim de se evitar a contaminação dos percolados e do experimento com algum agente externo.

FIGURA 8 – FOTOGRAFIA DA DISPOSIÇÃO DO REATOR DENTRO DA ESTUFA DBO.



Diluições e plaqueamento.

Após a coleta do percolado, foram realizadas diluições sucessivas a partir de cada percolado, imediato e acumulado. No caso dos resíduos de serviços de saúde utilizou-se o método “*surface ou spread plate*”, que consiste no plaqueamento por distribuição na superfície, adaptado do *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods* (APHA, 1992), uma vez que não foi encontrada na literatura consultada metodologia específica para esse tipo de análise. Este método permite melhor visualização das colônias a serem contadas.

FIGURA 9 – COLETA DO PERCOLADO IMEDIATO



A um tubo de ensaio contendo 9 mL de solução salina peptonada (0,1%) foi adicionado 1 mL do percolado coletado, obtendo-se uma diluição 10^{-1} . A seguir, o tubo foi agitado no "vórtex" por aproximadamente 20 segundos. Deste tubo foi retirado 1 mL e adicionado a outro tubo contendo 9 mL da solução salina, novamente agitando-o em "vórtex". Esse procedimento foi repetido sucessivamente até a obtenção de 10 tubos de ensaio, com diluições de 10^1 a 10^{10} . A FIGURA 10 mostra a preparação para a diluição dos percolados dentro da cabine de biossegurança classe II e a FIGURA 11 o percolado com suas diluições.

FIGURA 10 – FOTOGRAFIA DA PREPARAÇÃO PARA REALIZAÇÃO DAS DILUIÇÕES DOS PERCOLADOS



De cada uma das diluições, utilizando-se micropipetadores de 0-200 μL , foi transferido 100 μL ou 0,1 mL para as placas com os meios seletivos, específicos para cada espécie: meio Chromocult® para *E. coli*, Baird-Parker® para *S. aureus* e Cetrimide Agar® para *P. aeruginosa*. Esses

meios permitem o crescimento e posterior quantificação dos microrganismos desejados. O volume transferido foi espalhado com o auxílio de alças de Drigalsky até sua completa absorção, sendo a transferência realizada sempre da maior para a menor diluição. Para as placas com crescimento estimado de 30-300 colônias foram realizadas duplicatas de cada espécie bacteriana, para obter-se resultados finais mais confiáveis. Essa estimativa baseou-se nos resultados dos dias anteriores.

As placas foram mantidas em estufa bacteriológica (marca Quimis, modelo Q316-B) a 35-37°C por 24 horas, conforme a FIGURA 12.

FIGURA 11 – FOTOGRAFIA DO TUBO DE ENSAIO COM PERCOLADO E DILUIÇÕES



Na primeira série de experimentação, o volume de percolado excedente retornava ao balão de fundo chato por meio de um tubo de retorno (FIGURA 4, itens 9b e 13), mas a partir da segunda série, os percolados foram utilizados para análise diária de pH e o oxigênio dissolvido. Na primeira série de experimentação, o volume de percolado excedente retornava ao balão de fundo chato por meio de um tubo de retorno (FIGURA 4, itens 9b e 13), mas a partir da segunda série, os percolados foram utilizados para análise diária de pH e o oxigênio dissolvido.

FIGURA 12 – FOTOGRAFIA DA ESTUFA BACTERIOLÓGICA COM PLACAS INCUBADAS



Análise da concentração dos microrganismos no resíduo.

No final de cada série, analisou-se também a concentração de microrganismos, ainda presentes na fração sólida do resíduo. Para isso retirou-se 100 gramas do resíduo tipo e transferiu-o para um balão de fundo chato, com capacidade para 2000 mL, onde se adicionou 900 mL de solução salina peptonada bacteriológica a 0,1%, obtendo-se uma diluição de 10^{-1} . O balão foi agitado manualmente durante 2 minutos para homogeneizar a solução, sendo então transferida uma alíquota de 1mL para um tubo contendo 9mL de solução salina peptonada (10^{-2}). A seguir, o tubo em ensaio foi agitado em "vórtex" por 20 segundos, aproximadamente. Tal procedimento foi repetido sucessivamente, transferindo-se sempre 1mL de um tubo ao tubo seguinte, obtendo-se, ao final, várias diluições. Cada uma das diluições foi semeada em meios seletivos e após 24 horas realizou-se a contagem das placas. Esta parte foi realizada em duplicata na série I e série isolada da bactéria *P. aeruginosa* e em triplicata nas séries II, III e nas séries isoladas de *E. coli* e *S. aureus*.

Séries isoladas

Os microrganismos foram analisados separadamente, em um total de 03 séries de cerca de 20 dias a fim de se comparar o comportamento individual e na presença das outras espécies. O objetivo foi detectar a influência de uma bactéria sobre as outras, que poderia ocorrer tanto pela inibição devido a presença de substâncias inibidoras quanto pela competição local, alimento, etc.

A concentração inicial variou de uma série para outra, mas o importante, no caso, é a avaliação da flutuação no número de Unidade Formadora de Colônias (UFC) e não o número exato.

As frações sólidas das séries isoladas com *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa* tiveram retiradas um fragmento de plástico não filme, um fragmento de gaze e um fragmento de esparadrapo cada uma para análise em Microscopia Eletrônica de Varredura e Absorção a fim de demonstrar a adesão das bactérias em tais componentes. O preparo do material foi realizado no Laboratório de Microbiologia e as etapas de ponto crítico, metalização e as fotos foram realizadas no Centro de Microscopia Eletrônica do Centro Politécnico da Universidade Federal do Paraná. Infelizmente, quando o contato com a UFPR foi estabelecido já tinha sido realizada a série de *Staphylococcus aureus*, razão pela qual o material não foi fotografado.

3.8 CONTAGEM BACTERIANA

Após 24 horas de incubação em estufa bacteriológica, foram realizadas as contagens das placas, escolhendo-se aquelas que apresentaram contagens entre 30 e 300 colônias, isso porque, se há um número superior a 300 colônias, haverá uma sobreposição de células e formação muito densa de colônias, impossibilitando a contagem, além da possibilidade de não desenvolvimento de colônias. No caso das diluições realizadas em duplicata e que continham entre 30 e 300 colônias, foram realizadas médias entre as duas placas e considerou-se esse valor (APHA, 1992; PELCZAR *et al.*, 1996; CAPPUCCINO e SHERMAN, 1996). Os resultados foram expressos em UFC/mL. A FIGURA 13 demonstra as placas após as 24 horas de incubação, com todas as diluições.

A partir do número de unidades formadoras de colônias (UFC) é possível fazer uma relação com o número de colônias existentes na placa, mas não do número de células que formam as colônias, que podem ser constituídas tanto por células individuais como agrupamentos característicos de certos microrganismos, como pares, tétrades, cachos, cadeias etc (SILVA, JUNQUEIRA E SILVEIRA, 1997). A UFC pode ser expressa por grama, quando se parte de um meio sólido, ou por mL partindo-se de um meio líquido.

FIGURA 13 – FOTOGRAFIA DAS COLÔNIAS OBTIDAS APÓS 24 HORAS DE INCUBAÇÃO A 36 °C EM MEIO DE CULTURA SELETIVO



Placas de *Escherichia coli* em meio seletivo Chromocult®



Placas de *Pseudomonas aeruginosa* em meio seletivo Cetrimide Agar®



Placas de *Staphylococcus aureus* em meio seletivo Baird-Parker®

3.9 ANÁLISES REALIZADAS

Durante a realização desta pesquisa foram realizadas seis séries seqüenciais de experimentação. As três séries com os três microrganismos presentes tiveram uma duração aproximada de 30 dias, e as três séries com as bactérias isoladas, uma duração aproximada de 20 dias. A TABELA 12 apresenta o período, a duração e as condições experimentais de cada série.

TABELA 12 – PERÍODO, DURAÇÃO E AS CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS DE CADA SÉRIE

Condições	Ensaio Experimentais		
	Experimentais	Série I	Série II
Série Resíduo Tipo			
Período dos experimentos	22/06 a 23/07	01/08 a 03/09	06/09 a 08/10
Duração dos experimentos	31 dias	33 dias	32 dias
Concentração do inóculo de E.coli (UFC/mL)	1,01 X 10 ⁹	1,28 X 10 ⁹	7,90 X 10 ⁸
Concentração do inóculo de S. aureus (UFC/mL)	1,02 X 10 ⁹	2,29 X 10 ⁹	2,27 X 10 ⁹
Concentração do inóculo de P. aeruginosa (UFC/mL)	5,3 X 10 ⁸	4,2 X 10 ⁷	2,77 X 10 ⁷
Vazão média diária aplicada (mL/min.)	8,58 ± 1,2	6,53 ± 1,06	7,97 ± 1,14
Séries Isoladas			
Período dos experimentos (Isolados)	07/11 a 27/11	11/10 a 31/10	29/11 a 17/12
Duração dos experimentos	20 dias	20 dias	18 dias
Concentração do inóculo de E.coli (UFC/mL)	1,85 X 10 ⁹		
Concentração do inóculo de S. aureus (UFC/mL)		1,31 X 10 ⁹	
Concentração do inóculo de P. aeruginosa (UFC/mL)			2,74 X 10 ⁸
Vazão média diária aplicada (mL/min.)	8,99 ± 1,1	9,61 ± 0,77	10,05 ± 0,98
Temperatura constante – BOD	25°C	25°C	25°C
Período de incubação das placas	24 horas	24 horas	24 horas
Temperatura de incubação das placas	36 ± 1°C	36 ± 1°C	36 ± 1°C

3.10 PROCEDIMENTOS ANALÍTICOS

A TABELA 13 sintetiza o acompanhamento analítico da parte experimental, indicando os parâmetros analisados, a frequência analítica e a preservação das amostras.

TABELA 13 – VARIÁVEIS ANALISADAS E FREQUÊNCIA ANALÍTICA

Variáveis analisadas	Preservação das amostras	Frequência das análises					
		Série I	Série II	Série III	E. coli	S. aureus	P. aeruginosa
[] E.coli	Análise após a coleta	D.	D.	D.	D.	D.	D.
[] S. aureus	Análise após a coleta	D.	D.	D.	D.	D.	D.
[] P. eruginosa	Análise após a coleta	D.	D.	D.	D.	D.	D.
Vazão	Análise in situ	D.	D.	D.	D.	D.	D.
pH – Imediato	Análise após a coleta	03 x /sem.	D.	D.	D.	D.	D.
pH - Acumulado	Análise após a coleta	03 x /sem.	D.	D.	D.	D.	D.
OD– Imed.	Análise após a coleta	03 x /sem.	D.	D.	D.	D.	D.
OD– Acum.	Análise após a coleta	03 x /sem.	D.	D.	D.	D.	D.

Legenda: OD = Oxigênio Dissolvido; D = Diária; 03 x /sem.= 03 vezes por semana; Imed. = Imediato; Acum. = Acumulado.

3.10.1 Oxigênio Dissolvido, pH e Carbono Orgânico Total

A leitura do pH foi realizada com um pHmetro microprocessado, marca QUIMIS e modelo Q-400M. O oxigênio dissolvido (OD) foi analisado com o oxímetro, marca SOLAR e modelo SL – 510. As análises de COT foram realizadas no aparelho TOC 8500 da Shimatzu.

3.10.2 Análises Químicas de Nitrogênio e Fósforo.

Essas análises foram realizadas nos laboratórios da Universidade do Extremo Sul Catarinense e tiveram o objetivo de saber a quantidade dos nutrientes presentes em uma amostra sem as bactérias e no final das séries.

3.10.3 Vazão

A vazão significa a passagem de um volume medido em um determinado tempo e espaço. A mesma foi determinada utilizando-se uma proveta acoplada ao reator e um cronômetro digital, marca SUPERATIC.

A vazão diária aplicada foi determinada pela seguinte fórmula:

$$Q = \frac{V}{t}$$

Em que:

Q = vazão, expressa em mL/min.

V = volume, expresso em mL

t = tempo decorrido da passagem de um volume determinado, da proveta acoplada ao reator até a chegada no resíduo.

3.10.4 Concentração dos Microrganismos

A concentração de cada bactéria em estudo foi determinada utilizando-se o método “*surface* ou *spread plate*”, que consiste no plaqueamento por distribuição na superfície, adaptado do *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods* (APHA, *op. cit.*). Este método permite melhor visualização das colônias a serem contadas, possibilitando, assim, determinar as concentrações bacterianas.

Uma maneira comum de expressar a concentração de bactérias é em termos de Unidade Formadora de Colônia por mL (UFC/mL), a qual é calculada pela seguinte fórmula:

$$C = \frac{\left(\frac{UFC}{f}\right)}{d} \text{ em que,}$$

C = Concentração das bactérias (UFC/mL)

UFC = Unidade Formadora de Colônia

f = Fator de diluição (0,1)

d = Diluição do tubo de ensaio.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Na TABELA 14 são apresentados os valores médios, desvio padrão, e os intervalos mínimos e máximos para as variáveis analisadas durante a fase de experimentação.

4.1 pH E OXIGÊNIO DISSOLVIDO

Os parâmetros monitorados foram pH, Oxigênio Dissolvido, Carbono Orgânico Total e temperatura. A temperatura permaneceu constante, 25° C, e os valores de pH e oxigênio dissolvido tiveram uma variação, entretanto, que não foi suficiente para interferir no crescimento. No caso do pH, o valor médio ficou entre os valores ótimo e máximo para as bactérias utilizadas. O pH só superou o limite máximo para *Pseudomonas aeruginosa* no percolado acumulado do resíduo tipo, e mesmo nos experimentos das bactérias isoladas, ele ficou bem próximo ao valor máximo para esta bactéria, que é de 8.0.

Esse resultado pode ser uma explicação ao fato de ter sido observado um menor tamanho das colônias no experimento isolado, quando comparada com as outras séries. Dessa maneira percebe-se que os valores de pH não tiveram grande interferência sobre os microrganismos, corroborando com as informações retiradas da literatura, que afirmam que o microrganismo é capaz de manter um pH intracelular ao redor de 7,5, não importando o valor do pH externo, só sendo afetado quando as mudanças no pH externo são muito drásticas (PELCZAR, 1996b).

Quanto ao oxigênio dissolvido, a taxa nunca foi nula porque o experimento não foi realizado em condições anaeróbias, e aparentemente, não influenciou os microrganismos, que são anaeróbios facultativos (*E. coli* e *S. aureus*) e aeróbio (*P. aeruginosa*). Uma das maneiras para comprovar isso é a constância no comportamento de *Pseudomonas aeruginosa*, que, por ser uma bactéria aeróbia nesse caso pode ser empregada como indicador de oxigênio, pois qualquer diminuição na concentração de oxigênio que pudesse afetá-la com certeza refletiria em uma diminuição na sua concentração. Isso não ocorreu nem no experimento das bactérias nas séries com presença das três bactérias nem na série com ela isolada.

As FIGURAS 14 a 21 mostram os valores de pH e oxigênio dissolvido (OD) dos percolados imediato e acumulado de resíduo hospitalar infeccioso padrão.

FIGURA 14 – GRÁFICO COM VALORES DE pH DO PERCOLADO IMEDIATO DAS SÉRIES ISOLADAS

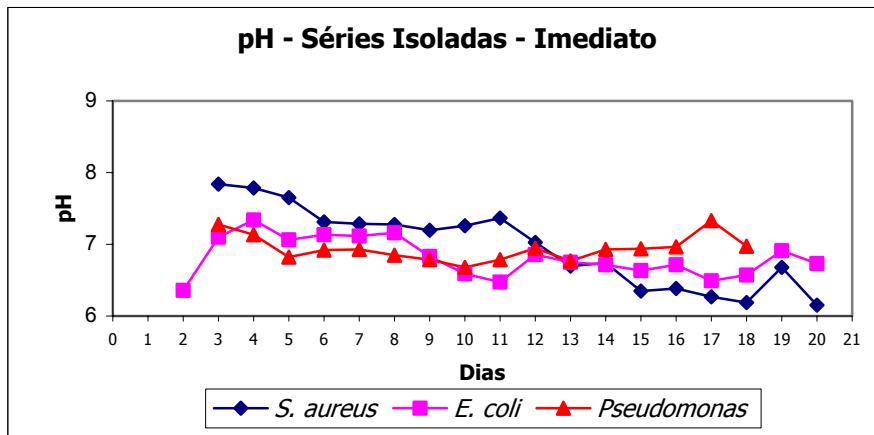


FIGURA 15- GRÁFICO COM VALORES DE pH DO PERCOLADO IMEDIATO DAS SÉRIES I A III

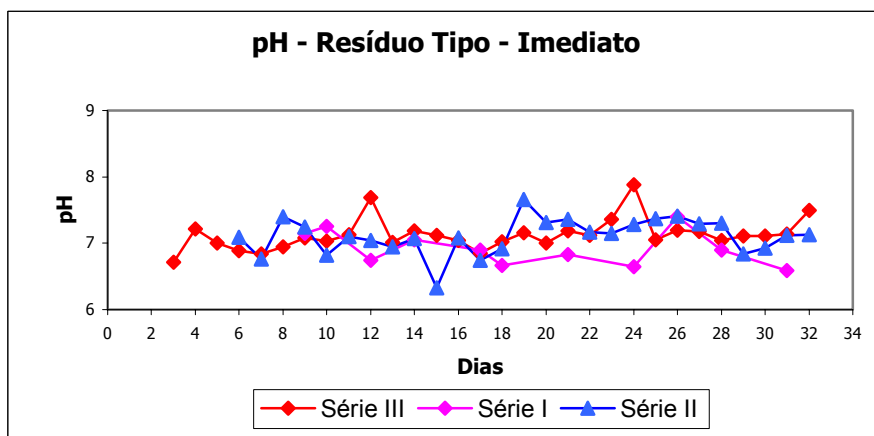


TABELA 14 – VALORES MÍNIMO E MÁXIMO, MÉDIA ± DESVIO PADRÃO DAS VARIÁVEIS ANALISADAS

Variáveis	Mínimo			Média ± Desvio Padrão			Máximo		
	Série I	Série II	Série III	Série I	Série II	Série III	Série I	Série II	Série III
Séries Isoladas	S. aureus	E. coli	P. aeruginosa	S. aureus	E. coli	P. aeruginosa	S. aureus	E. coli	P. aeruginosa
pH – Imediato	6,15	6,36	6,68	6,97±0,55	6,82±0,27	6,94±0,18	7,84	7,34	7,33
pH – Acumulado	7,03	7,21	7,2	7,64±0,46	7,65±0,23	7,41±0,18	8,26	8,1	7,78
OD – Imediato (mg/L)	2,7	2,3	1,9	5,33±1,10	3,76±0,97	2,88±0,71	6,8	5,8	4,3
OD - Acumulado (mg/L)	4,5	2,2	2,24	5,54±0,64	2,99±0,65	2,24±0,64	6,5	4,2	3,4
Vazão (mL/min.)	8,17	7,20	8,05	9,61±0,77	8,99±1,10	10,05±0,99	10,97	11,00	11,66
Imediato									
[] S. aureus (UFC/mL)	3,0E+01			7,57E+06±1,96E+7			7,7E+07		
[] E.coli (UFC/mL)		1,55E+06			2,05E+08±3,31E+08			1,2E+09	
[] P.aeruginosa (UFC/mL)			1,33E+07			5,6E+08±5,58E+08			1,85E+09
Acumulado									
[] S. aureus (UFC/mL)	2,41E+3			2,47E+5±4,69E+5			1,5E+06		
[] E.coli (UFC/mL)		1,56E+7			1,88E+8±1,71E+8			5E+08	
[] P. aeruginosa (UFC/mL)			1,31E+8			2,03E+9±1,47E+9			4,6E+09
Séries - Resíduo Tipo	Série I	Série II	Série III	Série I	Série II	Série III	Série I	Série II	Série III
pH – Imediato	6,59	6,33	6,71	6,92 ± 0,26	7,10 ± 0,27	7,13 ± 0,23	7,4	7,66	7,88
pH - Acumulado	7,53	7,19	6,32	7,81 ± 0,22	7,79 ± 0,33	7,68 ± 0,32	8,12	8,58	8,10
OD – Imediato (mg/L)	3,4	4,7	2,9	4,38 ± 0,83	5,9 ± 0,64	5,91 ± 1,12	6,0	7,0	7,2
OD – Acumulado (mg/L)	1,1	4,0	2,8	3,57 ± 1,31	5,85 ± 0,92	5,42 ± 1,19	5,4	7,3	6,8
Vazão (mL/min.)	5,15	4,79	5,52	8,58 ± 1,24	6,53 ± 1,06	7,97 ± 1,14	10,44	9,26	11,66
Imediato									
[] P. aeruginosa (UFC/mL)	1,05E+06	2,45E+05	1,02E+05	8,83E+6±1,57E+7	1,74E+06±3,83E+06	7,67E+06±2,55E+07	5,7E+07	2,20E+07	1,34E+08
[] E.coli (UFC/mL)	1,80E+04	5,60E+02	1,29E+03	1,45E+7±4,91E+7	3,53E+06±1,25E+07	7,69E+06±1,01E+08	2,66E+08	6,70E+07	5,40E+08
[] S. aureus (UFC/mL)	4,00E+01	4,00E+01	1,58E+03	5,12E+5±1,45E+6	6,40E+04±1,28E+05	2,69E+05±3,29E+05	7,96E+06	5,70E+05	1,19E+06
Acumulado									
[] P. aeruginosa (UFC/mL)	1,09E+05	2,01E+05	2,85E+05	2,67E+6±3,75E+6	2,56E+06±4,09E+06	7,39E+06±4,09E+06	1,44E+07	1,48E+07	1,49E+07
[] E.coli (UFC/mL)	2,10E+02	1,00E+01	6,00E+01	3,52E+5±7,33E+5	7,44E+04±2,12E+05	1,76E+06±4,07E+06	1,86E+06	9,90E+05	1,53E+07
[] S. aureus (UFC/mL)	6,00E+01	4,00E+01	5,60E+03	1,60E+6±1,76E+6	1,64E+05±2,86E+05	9,53E+05±9,78E+05	6,40E+06	1,14E+06	3,42E+06

FIGURA 16 - GRÁFICO COM VALORES DE pH DO PERCOLADO ACUMULADO NAS SÉRIES ISOLADAS

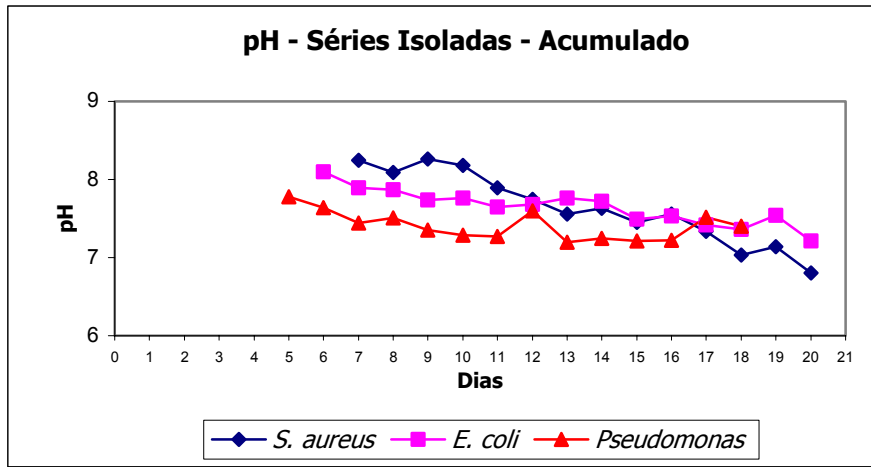


FIGURA 17 – GRÁFICO COM VALORES DE pH DO PERCOLADO ACUMULADO NAS SÉRIES I A III

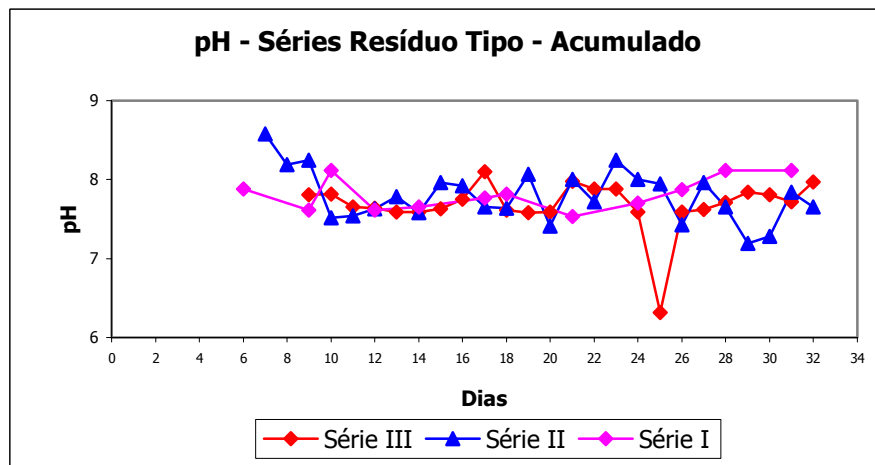


FIGURA 18 – GRÁFICO COM VALORES DE OXIGÊNIO DISSOLVIDO (OD) DO PERCOLADO IMEDIATO NAS SÉRIES ISOLADAS

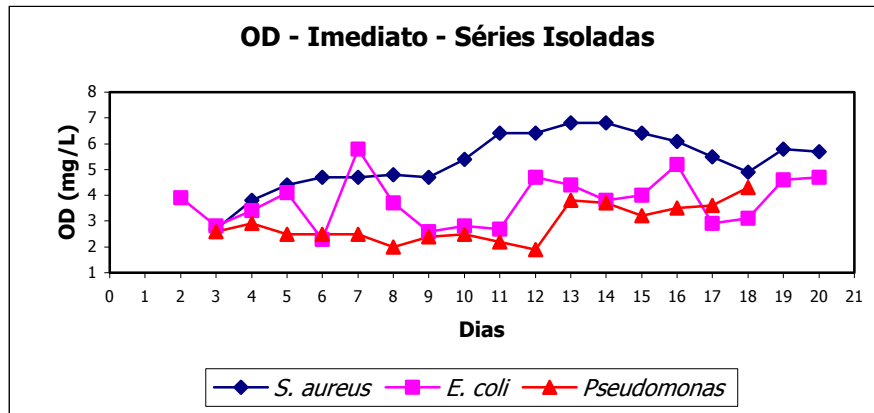


FIGURA 19 – GRÁFICO COM VALORES DE OXIGÊNIO DISSOLVIDO (OD) DO PERCOLADO IMEDIATO NAS SÉRIES I A III

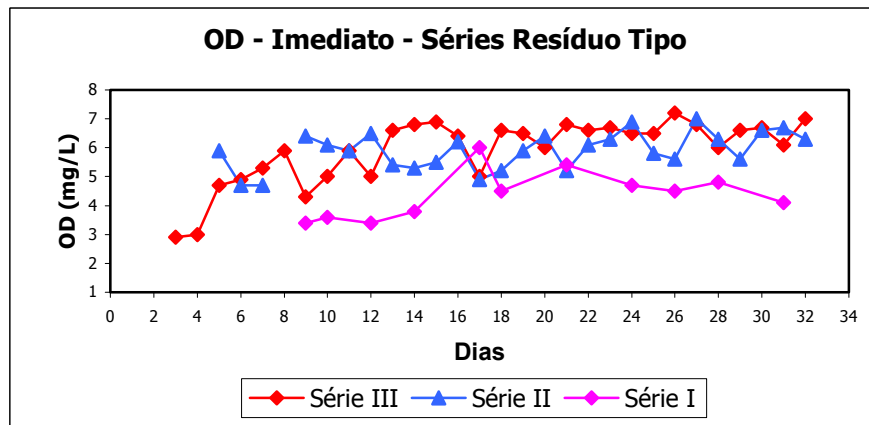


FIGURA 20 - GRÁFICO COM VALORES DE OXIGÊNIO DISSOLVIDO (OD) DO PERCOLADO ACUMULADOS NAS SÉRIES ISOLADAS

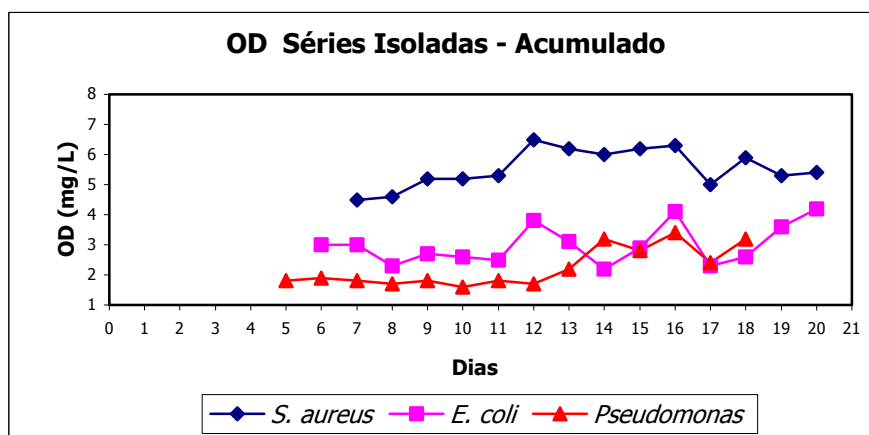
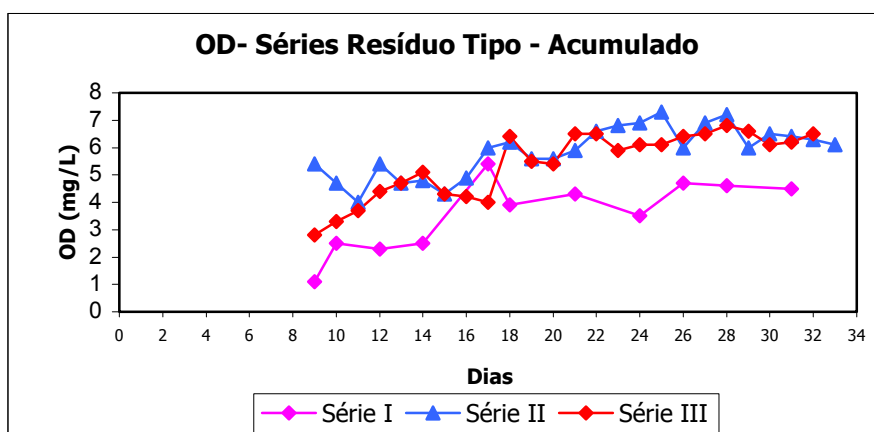


FIGURA 21 - GRÁFICO COM VALORES DE OXIGÊNIO DISSOLVIDO (OD) DO PERCOLADO ACUMULADO DAS SÉRIES I A III



4.2 CARBONO ORGÂNICO TOTAL

As análises de Carbono Orgânico Total foram realizadas no aparelho TOC 8500 da marca SHIMATZU. Infelizmente a concentração de Carbono esteve acima de 1000mg/L na maior parte das amostras das séries I a III e em todas as séries isoladas, que fica além do espectro de medida do aparelho. Ele indicou os valores, mas a sensibilidade do aparelho não foi a mesma. Foi um erro não ter optado por diluir a amostra. Sobre esse parâmetro, pode-se apenas indicar que a tendência foi a queda no valor do carbono orgânico com o tempo, em ambos os percolados. Entretanto, não é possível fazer uma análise do que vem a ser o carbono proveniente do resíduo e aquele proveniente da massa de microrganismos presentes. Assim, o método empregado para análise de Carbono Orgânico não se mostrou eficiente quanto aos objetivos.

4.3 ANÁLISES DE NITROGÊNIO E FÓSFORO.

A partir da segunda série foram realizadas análises de Nitrogênio e, quando possível, fósforo. Infelizmente, devido ao pequeno volume de amostra disponível, não foram realizadas outras análises. Para comparação, foi realizada uma análise da amostra sem os inóculos, ou seja, o experimento foi montado, mas as bactérias não foram inoculadas. Nesse resíduo foi passado um fluxo de água a fim de formar um percolado para análise de Nitrogênio nas formas NTK, Amoniacal, Nitrato, além do Fósforo. Dessa maneira foi possível verificar a quantidade dos elementos que são utilizados como nutrientes pelas bactérias.

Os resultados permitiram concluir que no início do experimento, há uma maior quantidade desses elementos do que após 20 e 30 dias, demonstrando que há um consumo dos mesmos pelas bactérias, tendendo a diminuir com o passar do tempo, pois os valores das séries isoladas (percolado analisado após 20 dias, em média, do início) são superiores aos das séries com as três bactérias juntas (percolado analisado após 30 dias, em média, do início). Na Tabela 15 são mostrados os valores obtidos pelas análises.

TABELA 15 – RESULTADOS DAS ANÁLISES QUÍMICAS REALIZADAS NO PERCOLADO NA AUSÊNCIA DE BACTÉRIAS E AO FIM DE CASA SÉRIE

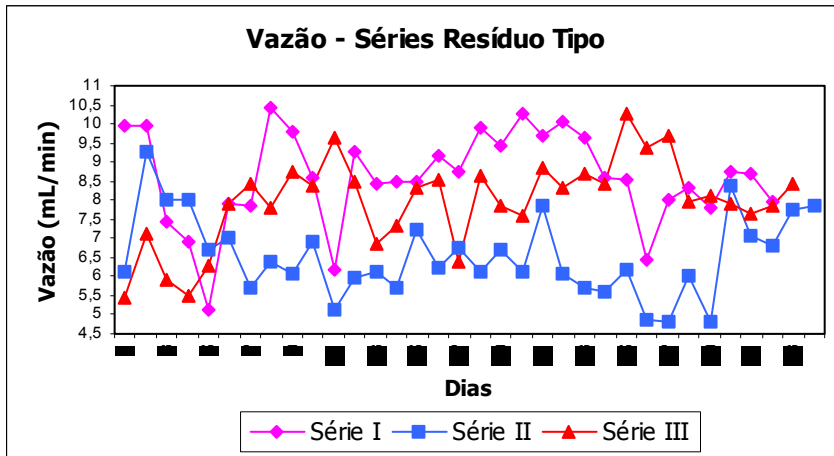
	Nitrogênio NTK (mg/L ⁻¹)	Nitrogênio Amoniacal (mg/L ⁻¹)	Nitrato (mg/L ⁻¹)	Fósforo Total (mg/L ⁻¹)
Percolado sem Bactérias	635,00	111,2	2578,0	40,65
Série I	-	-	-	-
Série II	94,00	-	-	-
Série III	151,1	51,5	369,6	0,26
Série E. coli	237,6	17,5	708,4	-
Série P. aeruginosa	263,0	74,5	269,0	-
Série S. aureus	195,8	-	-	-

4.4 VAZÃO APLICADA

Diariamente, foi aplicado um volume constante de água destilada estéril, para possibilitar a formação do percolado. No início das séries passava-se um maior volume de água através do resíduo, de 50 mL, até a formação do percolado, e então o volume aplicado passou a ser de 37 mL até o final da série. A FIGURA 22 mostra as variações nas vazões das séries do resíduo tipo e a FIGURA 23 mostra as variações nas vazões das séries isoladas.

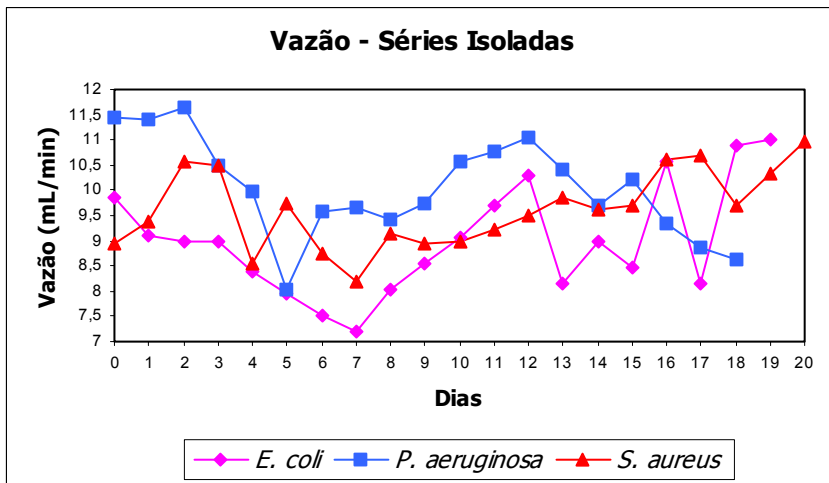
A vazão média obtida em cada série não foi a mesma, devido às oscilações da bomba peristáltica que alimentava o sistema. Os valores médios obtidos das vazões, como pode ser observado na TABELA 14 foram: 8,58 mL/min. (série I), 6,53 mL/min. (série II) e 7,97 mL/min. (série III), 9,61 mL/min (*S. aureus*), 8,99 mL/min (*E. coli*) e 10,05 (*P. aeruginosa*).

FIGURA 22 – GRÁFICO DA VAZÃO DIÁRIA APLICADA DURANTE AS SÉRIES I A III DO RESÍDUO TIPO.



Durante a série I aplicou-se o volume de 50 mL por 2 dias, até a formação do percolado imediato, e então o volume aplicado diariamente dos dois primeiros dias, na série I, quando se aplicou 50 mL ao invés dos usuais 37 mL. Durante a série II foi necessário manter por 4 dias o volume de 50 mL e na série III por 3 dias.

FIGURA 23 - GRÁFICOS DAS VAZÕES DIÁRIAS APLICADAS DURANTE AS SÉRIES ISOLADAS



A vazão média obtida nas séries isoladas também variou, sendo 9,61 mL/min na série com *Staphylococcus aureus*, 8,99 mL/min na série com *Escherichia coli* e 10,05 mL/min na série com *Pseudomonas aeruginosa*. Do mesmo modo nas séries I a III, também aplicou-se um volume de 50 mL, até a formação do percolado, que foi de 4 dias em *Staphylococcus aureus* e três dias para *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*.

4.5 AVALIAÇÃO DO CRESCIMENTO DE MICRORGANISMOS PATOGENICOS NOS PERCOLADOS

A contagem de colônias de microrganismos parte do pressuposto de que cada célula microbiana, em uma amostra, irá formar colônias visíveis e separadas, quando misturadas com ágar ou outro meio sólido (SILVA, JUNQUEIRA E SILVEIRA, *op. cit.*). Entretanto, a contagem microbiológica em meios de cultura deve sempre ser encarada como uma estimativa e não como contagem absoluta. Os meios e condições ideais para o crescimento podem variar de um material para outro.

Em todas as figuras referentes ao percolado imediato, o tempo 0 representa a concentração de cada bactéria inoculada no resíduo padrão, e a primeira amostra coletada representa a “concentração inicial”.

Na série I, a primeira amostra foi coletada 24 horas (1 dia) após a inoculação e nas séries II e III, 72 horas (3 dias) após. Esse intervalo entre a inoculação e a análise da concentração inicial consiste no tempo necessário para início da produção do percolado, uma vez que o resíduo não foi pré-saturado. Essa escolha foi baseada no fato de que a saturação poderia carrear demasiadamente as bactérias no início do experimento.

Os resultados obtidos com o reator de fluxo contínuo são apresentados por série, tanto para o percolado imediato como para o acumulado, e as concentrações dos três microrganismos foram apresentadas para cada seqüência de experimento. O **percolado imediato** é coletado logo após a passagem da água pelo resíduo, refletindo a concentração e o comportamento dos microrganismos no chorume, ao passo que o **percolado acumulado** representa o comportamento dos mesmos em tanque de acumulação ou uma lagoa de estabilização, por exemplo. Também foi analisada a concentração dos microrganismos no resíduo sólido ao final de cada série.

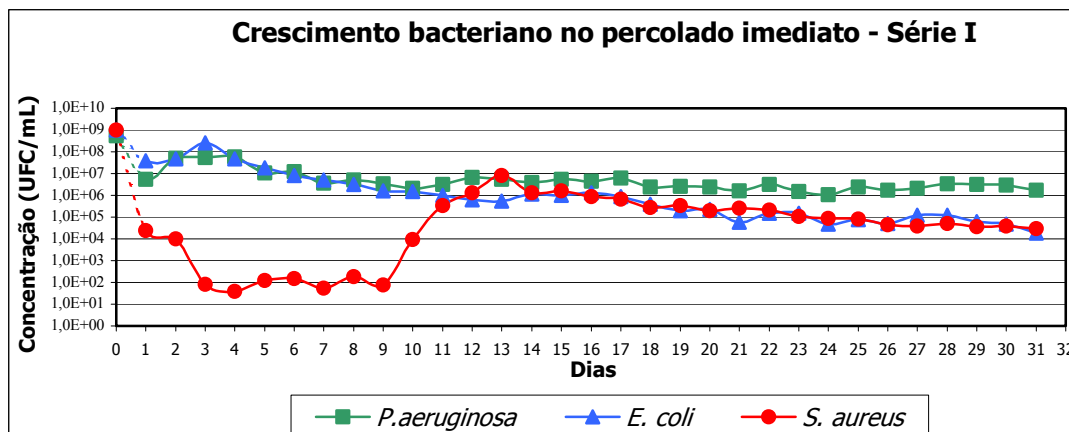
4.5.1 Série I

Nesta série, as concentrações de *E. coli* e *P. aeruginosa* não tiveram uma variação significativa no percolado imediato, ao passo que *S. aureus* só teve sua concentração estabilizada a partir do décimo dia de experimento tendo uma leve queda até o final (FIGURA 26). Em nenhum momento a concentração aproximou-se de zero. Por outro lado, *S. aureus* teve um aumento real de concentração, ou seja, momento em que a concentração ultrapassa a concentração inicial. É interessante notar que *S. aureus* com uma concentração inicial inferior às outras bactérias, teve um grande aumento em sua concentração, estabilizando-se em valores próximos as outras duas.

A *P. aeruginosa* foi a bactéria que apresentou a maior concentração, seguida por *E. coli* e *S. aureus* e o crescimento mais constante durante todo o experimento. É interessante observar que, apesar de ser citado em literatura que o crescimento de *E. coli* e *S. aureus* em cultura mista demonstrar uma diminuição da concentração da segunda devido à maior

velocidade de crescimento da primeira, observa-se que, no caso desse experimento isso não ocorreu, em nenhuma das três séries. A explicação para isso é que a *E. coli* estava em "desvantagem" com relação às outras bactérias por ser uma bactéria entérica e, no resíduo, não haver matéria orgânica.

FIGURA 24- GRÁFICO COM CRESCIMENTO BACTERIANO NO PERCOLADO IMEDIATO DURANTE A SÉRIE I



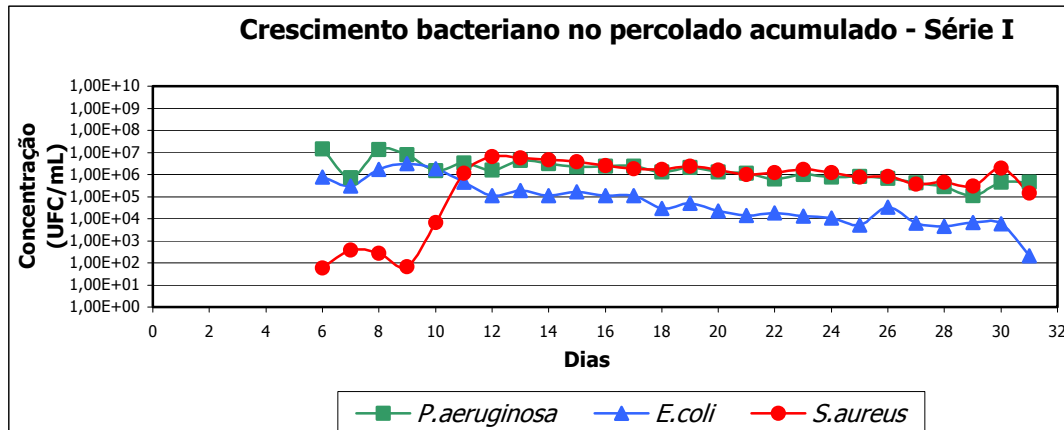
A coleta do percolado acumulado teve início no sexto dia de experimento.

A exemplo do que já foi comentado para o percolado imediato, *P. aeruginosa* também apresentou um crescimento superior aos demais microrganismos no percolado acumulado, com exceção de alguns momentos quando *S. aureus* também teve um crescimento elevado, chegando a superar *P. aeruginosa* em alguns dias, como pode ser visualizado na FIGURA 25.

A concentração de *P. aeruginosa* teve um valor abaixo do percolado imediato, entretanto, sua concentração também se manteve constante, enquanto que *E. coli* teve um comportamento um pouco diferenciado, onde sua concentração teve um declínio mais acentuado do que no percolado imediato. Já *S. aureus* do mesmo modo do que no imediato, teve um grande crescimento a partir do nono dia, estabilizando-se em valores próximos, e algumas vezes superiores, ao de *P. aeruginosa*.

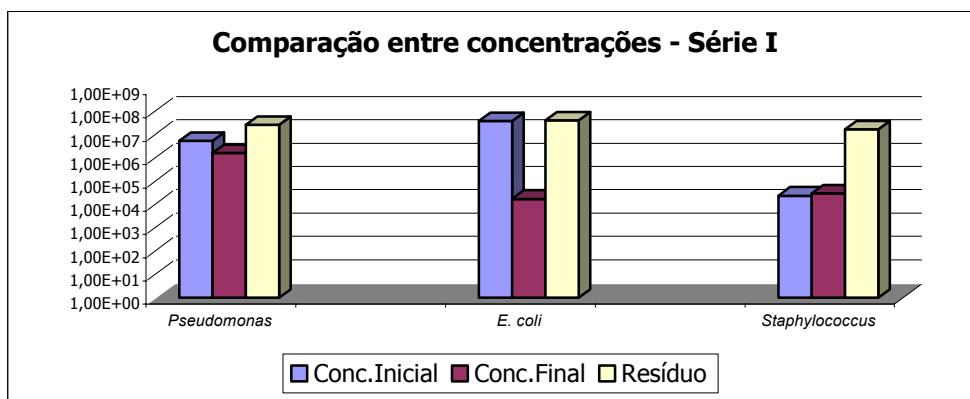
Ao confrontar os dados do comportamento microbiológico com os valores de pH e Oxigênio Dissolvido, não é possível notar nenhuma relação entre as oscilações nas concentrações das bactérias com as dos valores de pH e OD, tanto no percolado imediato quanto acumulado.

FIGURA 25 - GRÁFICO COM CRESCIMENTO BACTERIANO NO PERCOLADO ACUMULADO DURANTE A SÉRIE I



Ao se fazer uma comparação entre as concentrações inicial e final (no percolado imediato) e no resíduo, substrato sólido, (FIGURA 26), nas três bactérias a concentração de microrganismos presentes no resíduo após 31 dias foi superior ao da coletada no ultimo dia do experimento e maior até que a concentração inicial (primeiro percolado). Isto demonstra que as bactérias ficam aderidas ao resíduo, tendo condições de se reproduzir. Finalmente, pode-se concluir que o volume de água não foi suficiente para "lavar" o resíduo. Especial atenção pode ser dada à *S. aureus*, pois a concentração no resíduo ficou superior às concentrações inicial e final do percolado, o que é um indicador da alta capacidade de adesão desta espécie ao resíduo. Entretanto, nenhuma das bactérias teve uma concentração final, no resíduo, superior à inoculada, que foi da ordem de 10^9 para as três espécies.

FIGURA 26 – GRÁFICO DE COMPARAÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES DO PERCOLADO IMEDIATO COM O RESÍDUO

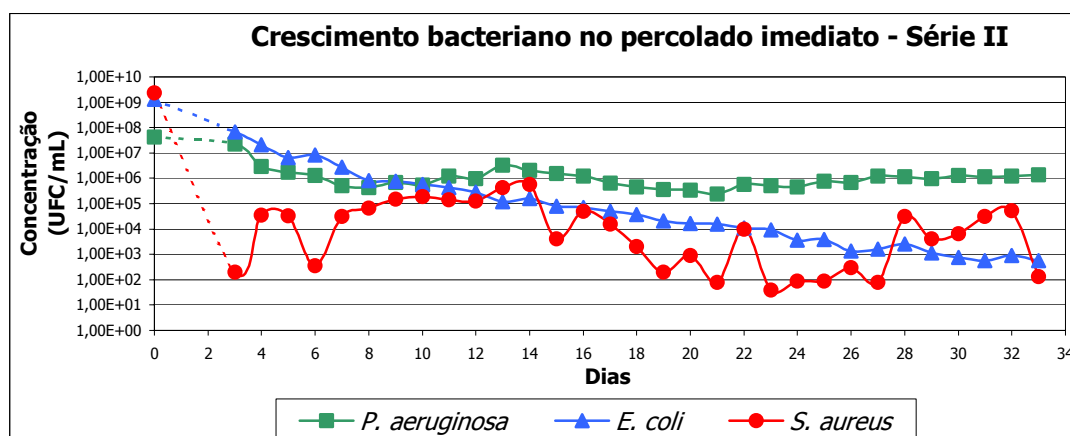


4.5.2 - Série II

A FIGURA 27 apresenta a concentração dos microrganismos no percolado imediato da série II, tendo uma duração de 33 dias. É possível observar que, apesar da concentração inicial de *P. aeruginosa* ter sido inferior ao de *E. coli*, ela manteve-se superior aos demais microrganismos, mantendo-se constante, mas nunca tendo crescimento real, ao passo que a tendência de *E. coli* foi de declínio de concentração.

O *S. aureus* teve um comportamento diferenciado das outras bactérias, tendo um crescimento real e oscilando durante toda a série, nunca se estabilizando, e, na última coleta, a sua concentração estava próxima ao valor da concentração inicial.

FIGURA 27 - GRÁFICO COM CRESCIMENTO BACTERIANO NO PERCOLADO IMEDIATO DURANTE A SÉRIE II



A coleta do percolado acumulado teve início no quinto dia de experimento; *Pseudomonas aeruginosa* e a *Escherichia coli*, tiveram um comportamento semelhante ao do percolado imediato apenas com os valores das concentrações um pouco menores, como pode ser visto na FIGURA 28. É possível notar que o valor da concentração de *E. coli* chegou a $2,0 \times 10^1$ UFC/mL no final do experimento, demonstrando que sua sobrevivência no percolado acumulado é limitada. Esse comportamento não ocorreu com *S. aureus*, pois o valor dele, em geral, manteve-se superior em comparação ao percolado imediato e, da mesma maneira que no percolado imediato, ele não se estabilizou em nem um momento.

Da mesma maneira que na série I, na série II não foi possível fazer uma relação entre oscilações na concentração de microrganismos com as oscilações de pH e OD, tanto no percolado imediato quanto no acumulado. Em alguns momentos, como no dia 6, ocorreu diminuição no pH do percolado imediato e na concentração de *S. aureus*, entretanto esses fatos

não devem ter relação pois no 15º dia, houve uma diminuição ainda maior no pH e não teve efeito sobre a concentração da bactéria. O mesmo pode ser dito sobre as oscilações de OD.

FIGURA 28 - GRÁFICO COM CRESCIMENTO BACTERIANO NO PERCOLADO ACUMULADO DURANTE A SÉRIE II

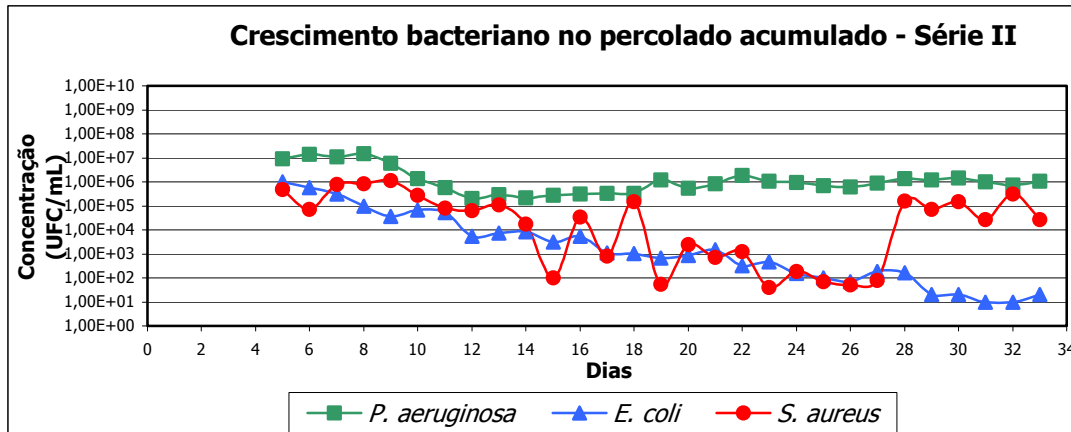
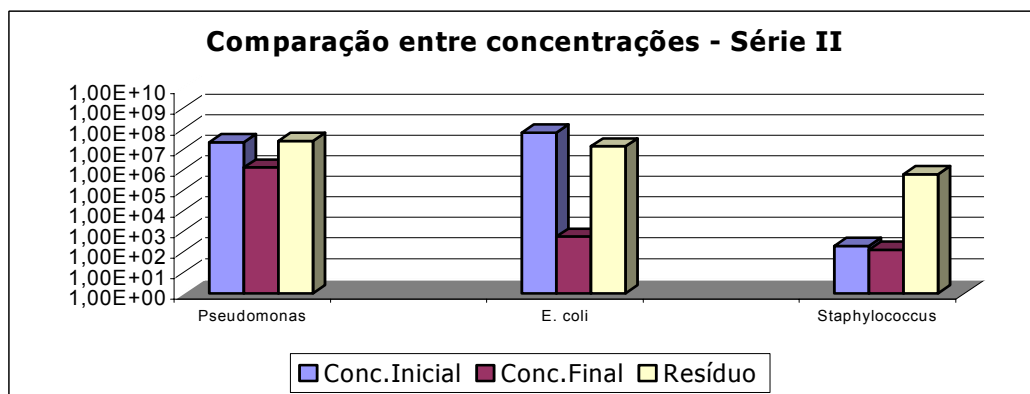


FIGURA 29 - GRÁFICO DE COMPARAÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES DO PERCOLADO IMEDIATO COM O RESÍDUO



Ao se fazer uma comparação entre as concentrações inicial e final do percolado imediato e a concentração de microrganismos presentes no resíduo, FIGURA 29, tem-se que a concentração de *P. aeruginosa* e *S. aureus* presentes no resíduo após 33 dias estava superior ao da coletada no ultimo dia do experimento e maior até que a concentração inicial (primeiro percolado), como ocorrido na série I.

Já a *E. coli* teve sua concentração no resíduo bastante superior a concentração final do percolado, mas inferior a sua concentração inicial, isso demonstra de maneira mais clara que a *E. coli* consegue sobreviver num resíduo com ausência de alimentos e fezes, porém, isso não ocorre no percolado, o que fica mais claro ao se comparar o gráfico acima (FIGURA 29) com a concentração final do percolado acumulado demonstrado na FIGURA 28; ou seja, o percolado

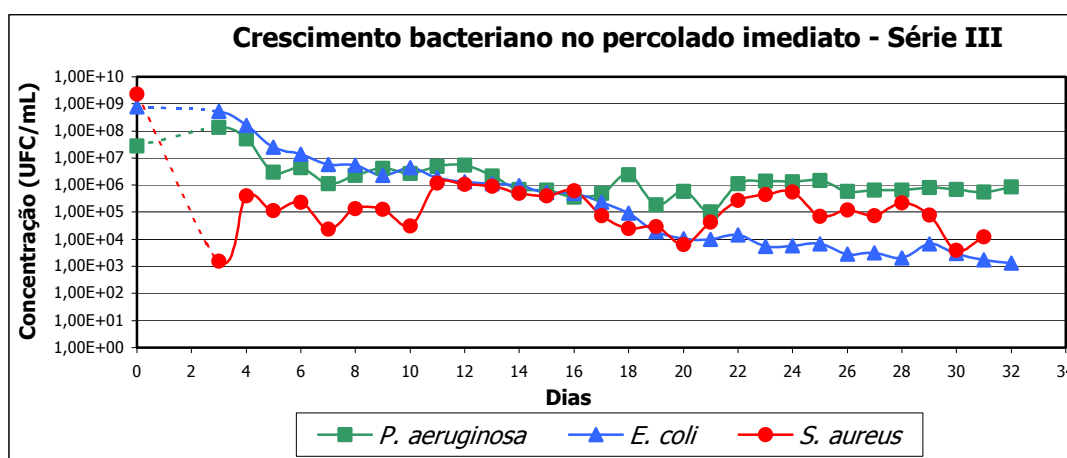
possuía uma menor quantidade de nutrientes necessários à sua sobrevivência, além da possibilidade de adesão ao material sólido por meio do glicocálice.

4.5.3 - Série III

A terceira série do experimento teve duração de 32 dias, com o início de coleta do percolado imediato no terceiro dia de experimento e, a coleta do percolado acumulado, iniciou-se no nono dia de experimento.

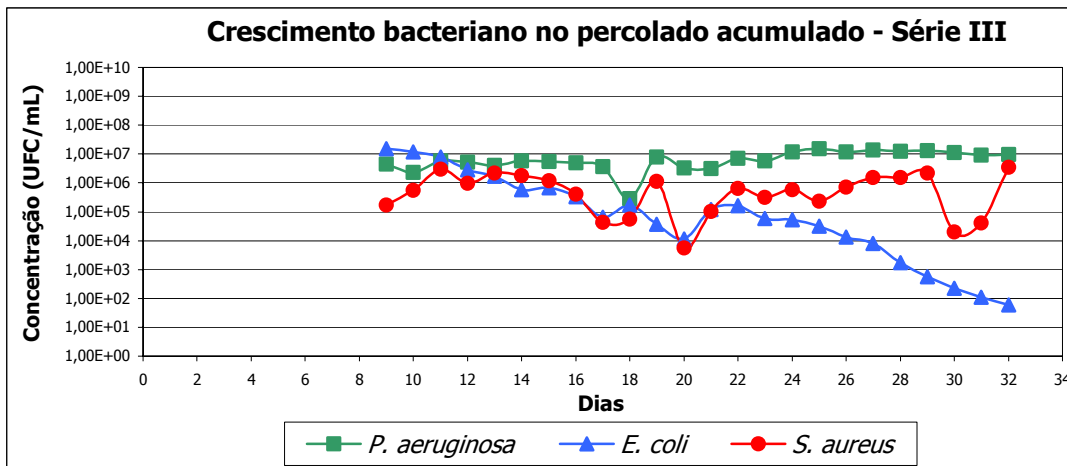
Analisando-se a FIGURA 30, observa-se que *P. aeruginosa* e *E. coli* não tiveram crescimento real, mas o *S. aureus* teve. A *P. aeruginosa* apresentou um leve decaimento da concentração frente a inicial, mais de maneira geral estabilizou-se até o final do experimento. A *E. coli* apresentou durante o experimento um decaimento contínuo. Da mesma maneira que nas outras séries o *S. aureus* não se estabilizou, mas apresentou um comportamento um pouco mais estável comparado às outras séries, apresentando sua concentração final superior a concentração inicial.

FIGURA 30- GRÁFICO COM CRESCIMENTO BACTERIANO NO PERCOLADO IMEDIATO DURANTE A SÉRIE III



Analisando a FIGURA 31 em que são apresentadas as concentrações dos microrganismos do percolado acumulado, observa-se que apenas *S. aureus* teve um crescimento real, entretanto apresentou pouca oscilação quando comparada com as séries I e II. A concentração de *P. aeruginosa* manteve-se estável durante toda a série, apresentando um leve crescimento. *E. coli* não teve sua concentração estabilizada, mas apresentou um constante declínio.

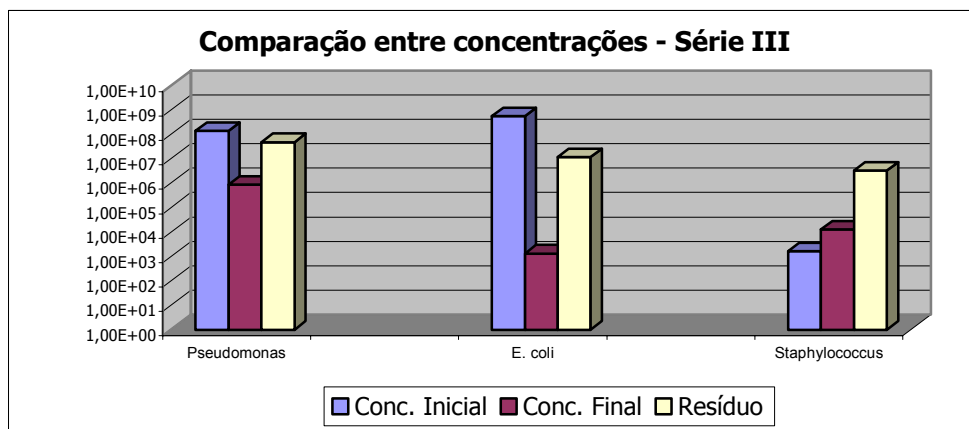
FIGURA 31 - GRÁFICO COM CRESCIMENTO BACTERIANO NO PERCOLADO ACUMULADO DURANTE A SÉRIE III



Segundo o que foi observado nas séries I e II, as oscilações que ocorreram nas concentrações dos microrganismos novamente parecem não ter relação com as oscilações de pH e OD, tanto para o percolado imediato quanto acumulado. Por exemplo, no percolado acumulado, a concentração de *S. aureus* aumentou no início da coleta, da mesma maneira que verifica-se um aumento na concentração de OD, entretanto, entre os dias 29 e 31, onde a concentração apresentou uma queda, a concentração de oxigênio dissolvido manteve-se constante.

Na FIGURA 32 é possível observar que apenas o *S. aureus* apresentou uma concentração no resíduo superior a inicial e ao percolado coletado no último dia do experimento. Já a *E. coli* e *P. aeruginosa* tiveram sua concentração no resíduo superior a concentração final do percolado, mas inferior a sua concentração inicial, ou seja, também nesta série a concentração de microrganismos presentes no resíduo, após 32 dias de experimento foi superior aquela obtida no percolado coletado no último dia.

FIGURA 32 - GRÁFICO DE COMPARAÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES DO PERCOLADO IMEDIATO COM O RESÍDUO



Dos microrganismos em estudo, *Pseudomonas aeruginosa* apresentou a maior concentração de todos os microrganismos pesquisados. Esse crescimento diferenciado de *P. aeruginosa* pode estar relacionado a sua grande versatilidade metabólica, não sendo necessários fatores orgânicos específicos de crescimento, podendo usar mais de 30 compostos orgânicos para o seu desenvolvimento. Uma evidência de sua baixa necessidade nutricional é que este microrganismo freqüentemente cresce em água destilada (TODAR, 2000). Outra razão é a facilidade que essa espécie tem em se aderir ao biofilmes, ou seja, fica aderida ao biofilme na superfície do percolado acumulado. Embora *Pseudomonas aeruginosa* tenha apresentado uma concentração mais elevada, não foi constatado crescimento real nas séries II e III do percolado imediato e na série II do percolado acumulado.

Além das razões citadas anteriormente, pode ter ocorrido uma competição interespecífica devido à produção dos pigmentos *piocianina* e *pioverdina*, produzidos por grande parte das variedades de *P. aeruginosa*. Esses pigmentos retardam o crescimento de algumas bactérias, podendo, desta maneira, facilitar a colonização de *P. aeruginosa*. (GILLIGAN, 1995; KONEMAN *et al.*, 1997; TODAR, 1997c; TOLEDO e TRABULSI, 1999). Este comportamento diferenciado de *P. aeruginosa* reflete sua condição de organismo de vida livre, resistente a agressões do meio e com necessidades nutricionais mínimas, inclusive alimentando-se de produtos oriundos do metabolismo das demais espécies. Estes fatores podem justificar o crescimento menor de *S. aureus* e principalmente *E. coli*, que não são encontrados no meio ambiente, mas sim são habitantes da flora bacteriana de seres vivos. A *E. coli* necessita de um habitat mais específico, por ser encontrada na flora intestinal de animais de sangue quente, podendo justificar o constante declínio em ambos os percolados, mais notadamente no percolado acumulado. Os trabalhos apresentados por GERBA (1996), apresentaram uma alta concentração de coliformes mesmo após anos de acompanhamento por ser realizado em aterro doméstico, com alta concentração de fraldas e, conseqüentemente, matéria fecal, que fornece condições para sobrevivência e reprodução dessa espécie.

Os trabalhos anteriores publicados por SOARES *et al.* (2001) confirmam o desenvolvimento mais acentuado de *P. aeruginosa* em relação aos demais microrganismos, para os ensaios com o percolado acumulado. Entretanto, os resultados divergem para as concentrações de *S. aureus*, quando os autores registraram índices bem inferiores aos apresentados neste trabalho.

Ao comparar os resultados obtidos para os percolados imediato e acumulado, constata-se semelhanças no comportamento das bactérias em todas as séries, sendo as mais acentuadas aquelas observadas entre as séries I para *S. aureus* e entre as séries II e III para *E. coli* e *P. aeruginosa*. É importante salientar que independente do modelo de crescimento apresentado pelas espécies bacterianas nos experimentos realizados, todas as três espécies permaneceram viáveis durante o período de experimentação, para as condições testadas, ou seja, temperatura de 25°C e pH na faixa de 6,3 a 8,5.

Analisando o gráfico da FIGURA 31 fica visível que *Escherichia coli* teve uma evolução similar ao longo do tempo em todas as séries, o que se evidencia ainda mais nas séries II e III do percolado imediato. Verifica-se, ainda, um crescimento discreto no início da série I, porém ao final das séries a concentração de *E. coli* sempre decai. Ao comparar este comportamento com a série isolada, tem-se que elas foram semelhantes variando apenas o valor da concentração. A mesma tendência de comportamento pode ser observada no percolado acumulado, FIGURA 30, apesar de não tão similar quanto no imediato.

Nos resultados apresentados por SOARES *et al.* (2001), também, pode-se constatar um decaimento na concentração de *E. coli* ao longo do tempo. Uma possível explicação para a baixa concentração de *E. coli* ao final dos experimentos está ligada ao fato deste microrganismo pertencer a microbiota endógena de animais de sangue quente, o que em condições ambientais, quando o meio não é o mais favorável, acaba interferindo no seu desenvolvimento.

4.5.4 Comparação do Comportamento de Cada Espécie nas Séries.

A seguir é realizada uma análise do comportamento de cada microrganismo em todas as séries. Dessa maneira, as FIGURAS 33 e 34 mostram o comportamento de *Escherichia coli* nas séries I, II, III e na série isolada, do percolado imediato e acumulado, respectivamente; as FIGURAS 37 e 38 referem-se à *Pseudomonas aeruginosa* e as FIGURAS 39 e 40 referem-se à *Staphylococcus aureus*.

As FIGURAS 33 e 34 mostram claramente que *Escherichia coli* seguiu um padrão em todas as séries, apesar da variação na concentração de unidades formadoras de colônias e, em ambos os percolados, há uma queda mais lenta na concentração quando a bactéria está sozinha, demonstrando que as outras bactérias afetam seu comportamento, ou seja, ela leva desvantagem na competição. Na FIGURA 33, que se refere ao percolado imediato, fica clara a tendência de diminuição constante até o final do experimento. A diferença na concentração da bactéria na série isolada com as outras séries é visível, principalmente em relação à série II e, considerando-se que foram realizadas sob as mesmas condições, é possível que essa diferença seja devido à competição com as outras espécies, entretanto, também é claro que, a diminuição na concentração ao longo do tempo é devido às características da bactéria, pois foi a tendência em todas as séries.

Na FIGURA 34 observa-se que a queda na concentração na série isolada estava ocorrendo mais lentamente do que nas séries I a III e ela se manteve numa concentração superior, da ordem de 10^7 , enquanto, no vigésimo dia de experimento, nas outras séries, a concentração estava bem mais baixa, da ordem de 10^3 a 10^4 UFC/mL. Isto demonstra que quando o percolado é armazenado, como em uma lagoa de estabilização, *E. coli* não tem o mesmo desempenho, seja pela competição, seja pela facilidade que as outras bactérias têm em absorver os nutrientes necessários ao desenvolvimento.

Pelo fato dessa bactéria viver normalmente em um pH entre 4.4 e 9.0, com um pH ótimo entre 6,0 e 7,0 não é provável que os valores de pH, que ficaram entre 6,0 e 8,0 tenham afetado o seu comportamento, bem como a temperatura que está dentro de sua faixa ideal, e mesmo o oxigênio, posto que são anaeróbios facultativos. Dessa maneira, foi possível excluirmos os parâmetros físicos como tendo influência sobre seu comportamento.

Assim, o ambiente tem como desvantagem a baixa oferta de matéria-orgânica, o fato dela estar no meio ambiente e a presença de outras bactérias que estão acostumadas a viver externamente ao corpo humano, no caso de *Pseudomonas aeruginosa*, que não tem necessidade de uma grande variedade de nutrientes para sua manutenção e reprodução. Entretanto, é importante frisar que, apesar da queda na concentração, após os cerca de 31 dias de experimento das séries I a III, ela não caiu a zero.

FIGURA 33 - GRÁFICO COM CONCENTRAÇÕES DE *Escherichia coli* DO PERCOLADO IMEDIATO

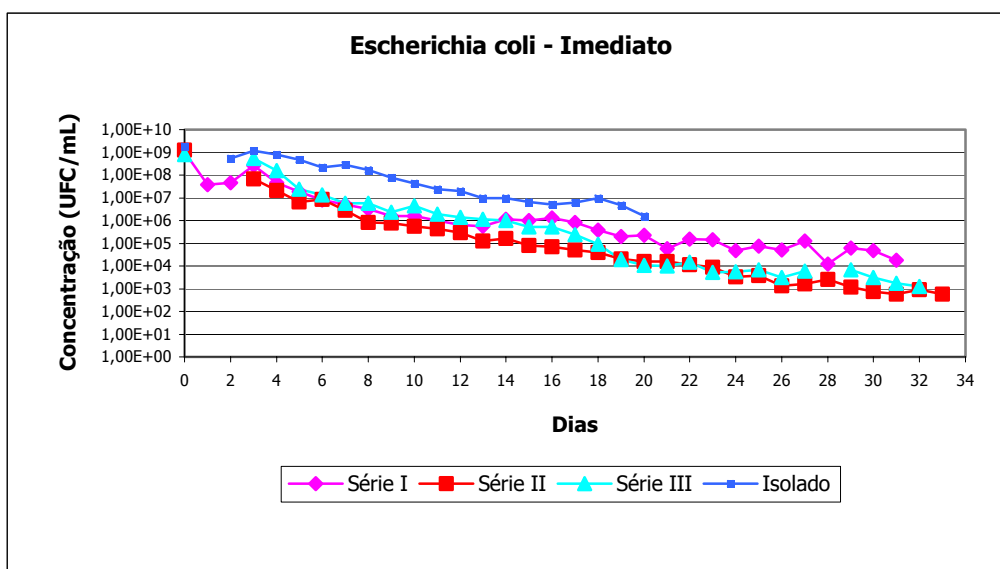
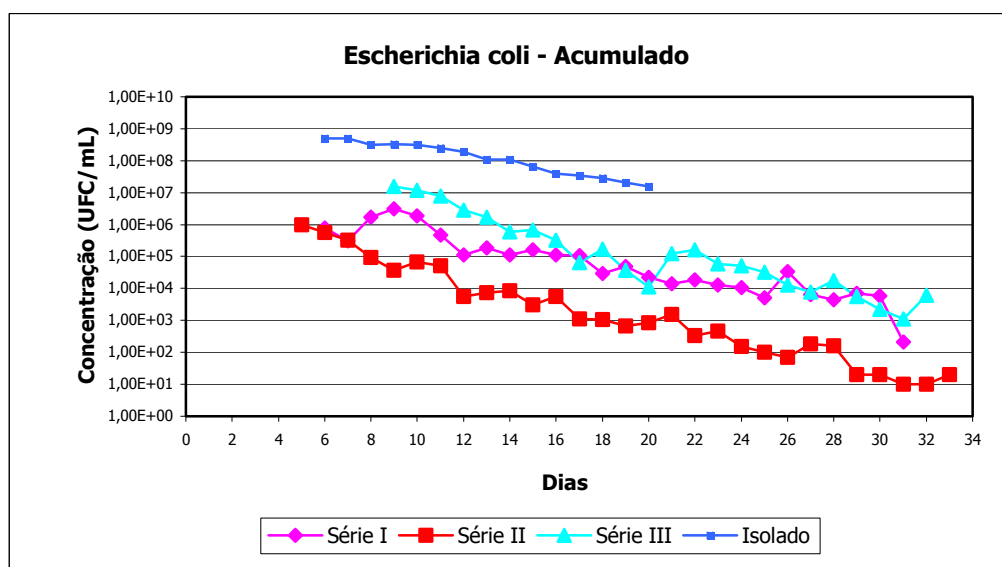


FIGURA 34 – GRÁFICO COM CONCENTRAÇÕES DE *Escherichia coli* DO PERCOLADO ACUMULADO



O comportamento nas três séries de *P. aeruginosa* no percolado imediato (FIGURA 35) foi idêntico, mantendo-se estável durante todo o experimento. Ao comparar a série isolada com as demais se tem um comportamento semelhante, entretanto, o crescimento foi superior, indicando a possibilidade de uma interferência no seu crescimento pelas outras bactérias.

A mesma tendência pode ser observada no percolado acumulado (FIGURA 36), onde a concentração manteve-se estável durante todo o experimento. O comportamento da série isolada foi semelhante ao da série I, diferindo apenas o valor das concentrações, superior na série isolada. Uma das justificativas para a alta concentração da bactéria, principalmente na série isolada, é a sua baixa necessidade nutricional além de poderem sobreviver em ambiente úmido e aquático.

Da mesma maneira que nas séries isoladas, não é provável que os valores de pH, que ficaram entre 6,7 e 7,28 no percolado imediato e 7,2 e 7,78 no percolado acumulado tenham afetado o seu comportamento, bem como a temperatura que está dentro de sua faixa ideal, e mesmo o oxigênio, posto que são anaeróbios facultativos. Dessa maneira, foi possível excluirmos os parâmetros físicos como tendo influência sobre seu comportamento.

FIGURA 35 - GRÁFICO COM CONCENTRAÇÕES DA *Pseudomonas aeruginosa* DO PERCOLADO IMEDIATO

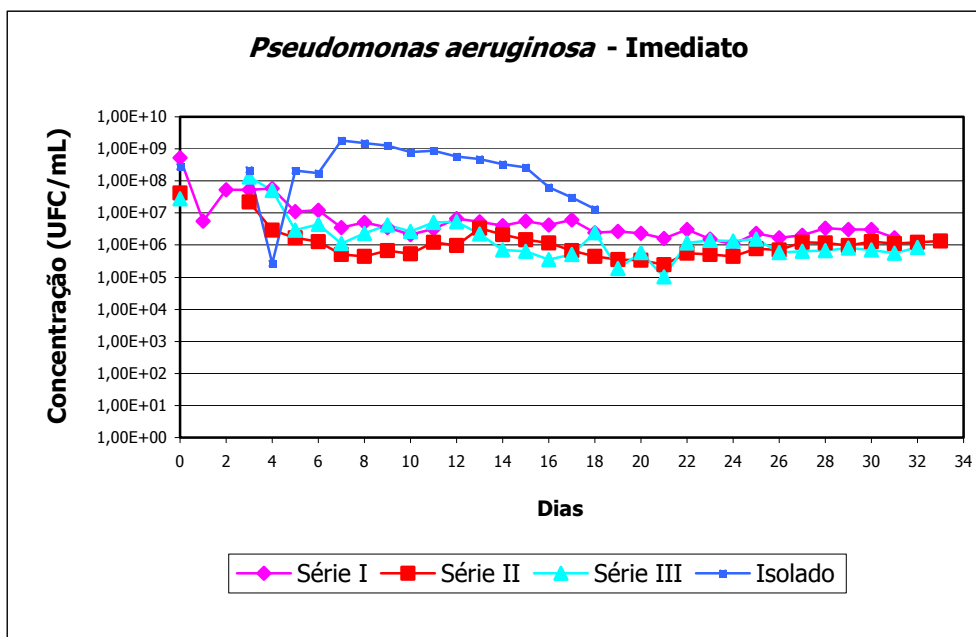
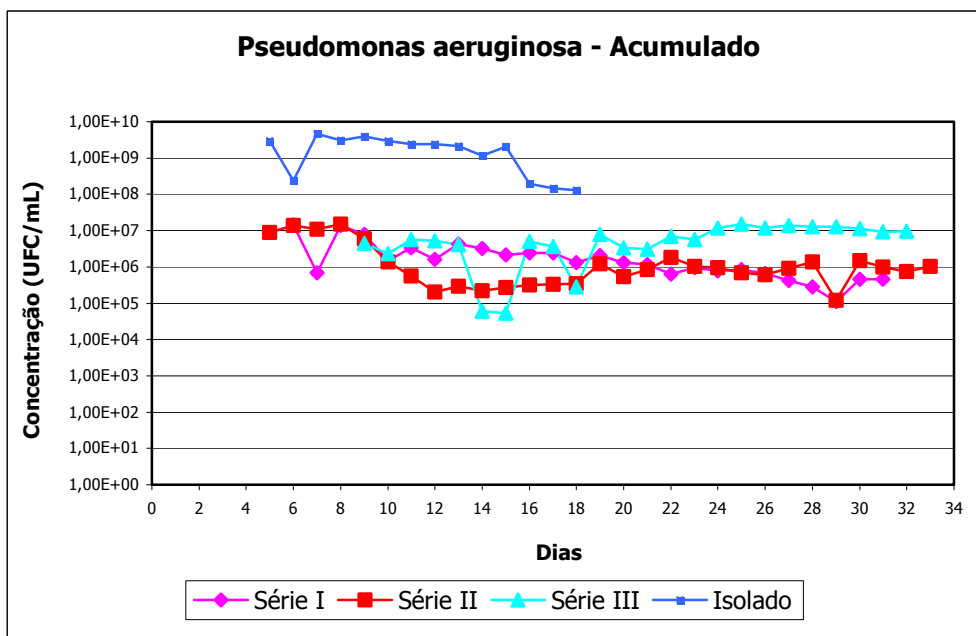


FIGURA 36 – GRÁFICO COM CONCENTRAÇÕES DA *Pseudomonas aeruginosa* DO PERCOLADO ACUMULADO



Ao fazer uma análise do resultado obtido na FIGURA 37, verifica-se que a concentração final de *Staphylococcus aureus* foi sempre superior a inicial para todas as séries do percolado imediato, com exceção da série isolada, que apresentou um declínio acentuado durante os 20 dias de experimento. Constata-se, ainda, que a concentração desse microrganismo manteve-se superior a inicial durante toda a série III e, em praticamente quase toda a série II.

Os resultados obtidos no percolado acumulado, FIGURA 38, foram semelhantes apesar do valor das concentrações estarem superiores aos do percolado imediato, e verificou-se também que a série isolada apresentou a mesma linha de tendência da série II, durante os 20 dias em que foi realizado o experimento.

A oscilação no comportamento de *S. aureus* nas séries I a III é explicada devido a estrutura das colônias. Isso porque a bactéria, em formato de coco, tende a formar agrupamentos, principalmente no formato de cachos de uva. Assim, ao espalhar o percolado sobre o meio de cultura, possivelmente essas colônias foram quebradas das mais diferentes maneiras. Uma maneira de evitar essa oscilação seria padronizar os segundos em que o tubo de ensaio é agitado no vórtex e o tempo que o percolado é distribuído na placa.

Comparando-se esses resultados aos obtidos por SILVA (2000), verifica-se similaridade em apenas uma série de experimentação, quando a concentração final de *S. aureus* também superou a inicial. Entretanto, isso não ocorreu nos outros experimentos realizados pelo autor. SILVA (2000) analisou o crescimento bacteriano no resíduo hospitalar infeccioso padrão e não no percolado.

Os resultados obtidos para *S. aureus* também divergem dos encontrados por SOARES *et al.* (2001) nas séries I, II e III, que constataram um decréscimo na concentração de *S. aureus* do início ao fim dos experimentos. Esses autores, também, analisaram o percolado de resíduo hospitalar infeccioso padrão, porém os seus ensaios tiveram uma duração menor e eles optaram pela saturação do resíduo, o que certamente ocasionou essa diferença nos resultados. Um resultado semelhante só foi obtido com a série em que a *S. aureus* esteve isolado. A série isolada causou surpresa pois este não era o resultado imaginado, mas, infelizmente não houve tempo suficiente para realização de outra série isolada de *S. aureus* para sabermos se esse comportamento se repetiria.

FIGURA 37 - GRÁFICO COM CONCENTRAÇÕES DE *Staphylococcus aureus* DO PERCOLADO IMEDIATO

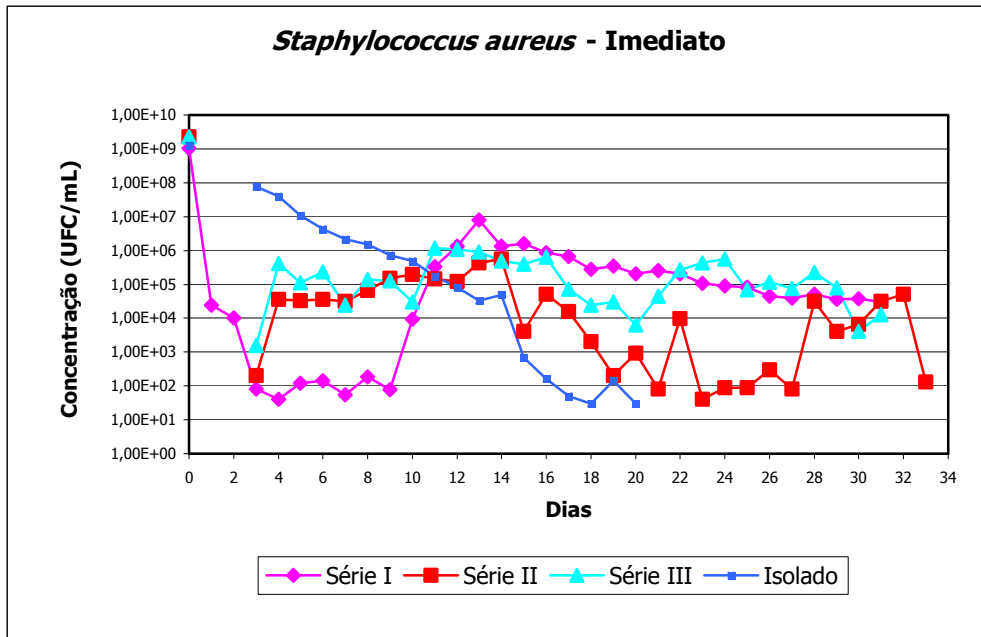


FIGURA 38 - GRÁFICO COM CONCENTRAÇÕES DE *Staphylococcus aureus* DO PERCOLADO ACUMULADO

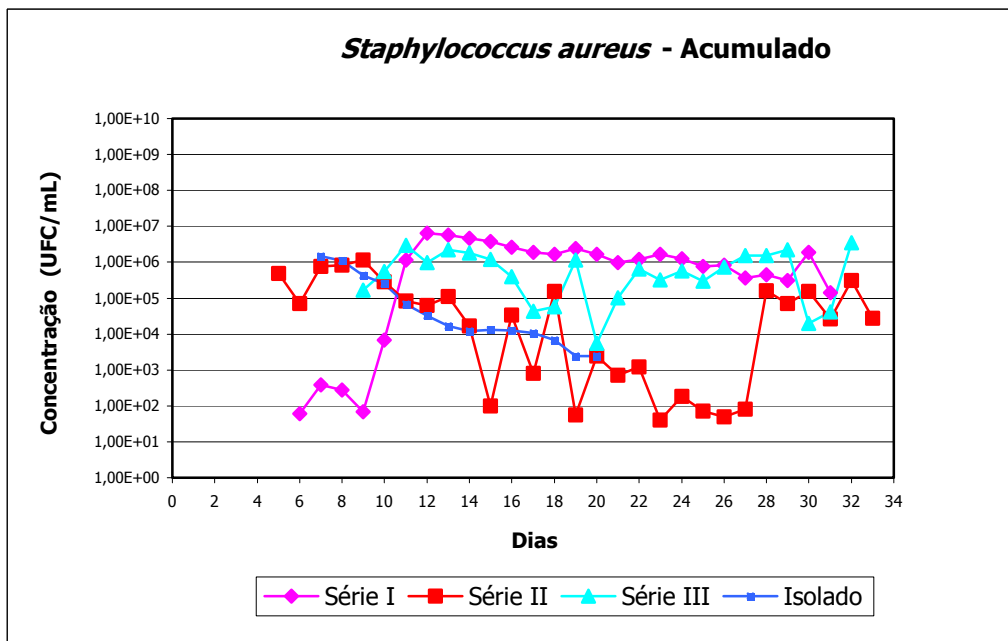
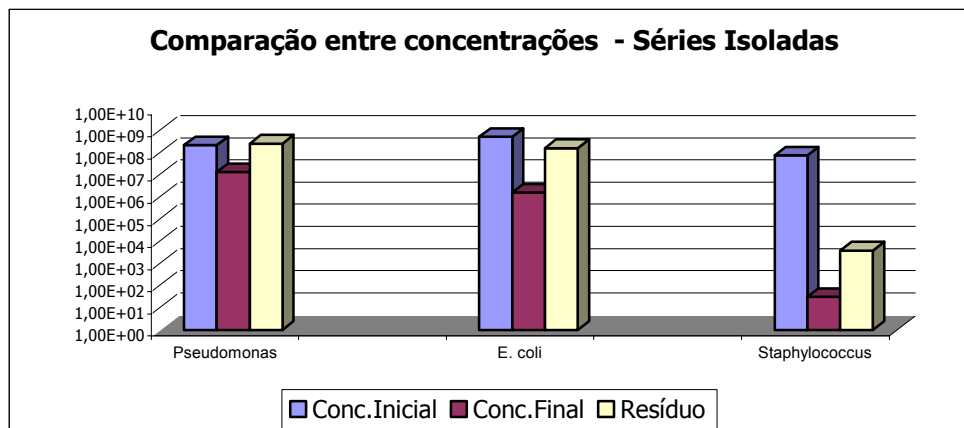


FIGURA 39 - GRÁFICO DE COMPARAÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES DO PERCOLADO IMEDIATO DAS SÉRIES ISOLADAS COM O RESÍDUO



Da mesma maneira que nas outras séries, as oscilações de pH e OD não podem ser relacionadas às concentrações de *S. aureus* durante a fase isolada.

Ao se fazer uma comparação entre as concentrações inicial e final e no resíduo das séries isoladas, as concentrações de *P. aeruginosa* e *E. coli* no resíduo foram praticamente idênticas à concentração inicial e superior a concentração final do percolado (FIGURA 39).

Na série com *S. aureus* observa-se que a concentração inicial foi superior à concentração do resíduo, e esta foi superior a concentração final. Isso demonstra que a capacidade de adesão das bactérias ao resíduo é bastante alta. Em todas as séries a concentração desta bactéria no resíduo foi superior à encontrada no percolado na última coleta, demonstrando a sua capacidade de adesão ao resíduo.

4.5.5 Adesão dos Microrganismos ao Resíduo Infeccioso Padronizado

Com o emprego da Microscopia Eletrônica de Varredura foi possível conferir a adesão de *E. coli* e *P. aeruginosa* às frações do resíduo. Infelizmente, quando foi realizado o contato com a Universidade Federal do Paraná, em Curitiba, a série com *S. aureus* já tinha sido realizada e não foi possível conferir.

As fotos a seguir demonstram a adesão das bactérias aos componentes do resíduo, no caso esparadrapo, gaze e plástico não filme.

As FIGURAS 40 e 41 apresentam *E. coli* e as FIGURAS 42 e 43 apresentam *P. aeruginosa*, respectivamente, quando fotografadas em Microscopia Eletrônica de Transmissão.

À primeira vista pode-se pensar que as fotos de *E. coli* não estão bem definidas, entretanto, essa "falta de nitidez" ocorre pela presença do glicocálice, já descrito no levantamento bibliográfico (item 2.4.1), que pode ser notado em ambas fotografias, 40 e 41.

FIGURA 40– FOTOGRAFIA DE MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO MOSTRANDO A BACTÉRIA *E. coli*, PROVENIENTE DE RESÍDUO HOSPITALAR INFECCIOSO PADRONIZADO



Foto realizada no Centro de Microscopia Eletrônica (CME), UFPR. Técnica de Parlódio.

FIGURA 41 – FOTOGRAFIA DE MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO COM DUAS BACTÉRIAS *E. coli* PROVENIENTES DE RESÍDUO HOSPITALAR INFECCIOSO PADRONIZADO



Foto realizada no Centro de Microscopia Eletrônica (CME), UFPR. Técnica de Parlódio.

As FIGURAS 42 e 43 mostram indivíduos de *P. aeruginosa*. Notar que a FIGURA 42 mostra o momento final da divisão celular.

FIGURA 42 – FOTOGRAFIA DE MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO MOSTRANDO *Pseudomonas aeruginosa* PROVENIENTE DE RESÍDUO HOSPITALAR INFECCIOSO PADRONIZADO



Foto realizada no Centro de Microscopia Eletrônica (CME), UFPR. Técnica de Parlódio.

FIGURA 43 – FOTOGRAFIA DE MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO MOSTRANDO TRÊS BACTÉRIAS *Pseudomonas aeruginosa* PROVENIENTES DE RESÍDUO HOSPITALAR INFECCIOSO PADRONIZADO



Foto realizada no Centro de Microscopia Eletrônica (CME), UFPR. Técnica de Parlódio.

A adesão dos microrganismos ao resíduo pode ser verificada pelas figuras a seguir: tanto *E. coli* quanto *P. aeruginosa* estavam presentes em pequenos fragmentos do resíduo

retirados, e *P. aeruginosa* estava em concentração superior que a de *E. coli*, tanto no material analisado em microscopia, quanto no resíduo, como foi demonstrado na FIGURA 39. A aderência de *P. aeruginosa* ao resíduo deve-se, possivelmente, às estruturas extracelulares como o pili, além da capacidade que a espécie tem de se manter sobre biofilmes, mesmo após as várias lavagens com substâncias sofridas que os materiais sofreram para serem analisados.

No caso de *E. coli*, pelas fotos fica claro o formato de bacilo. A FIGURA 44 mostra as bactérias sobre o esparadrapo; as FIGURAS 45 e 46 mostram diversos indivíduos sobre uma fibra de gaze, vistos em microscopia eletrônica de varredura (M.E.V.). É interessante observar que elas tendem a se concentrar em uma dada área, ou seja, formando colônias; a concentração muda conforme o local, não havendo uma alta concentração, como vista na FIGURA 45 em todo o material. Em muitos locais a concentração estava como na primeira fibra, de baixo para cima, da FIGURA 46. Dos materiais analisados, a menor concentração sobre o material foi a encontrada no plástico, que é um material mais liso, o que pode dificultar a adesão das bactérias ao material. As FIGURAS 47 e 48 mostram bem essa realidade. Notar que na FIGURA 48 a concentração das bactérias não é tão alta quanto nos outros materiais analisados

FIGURA 44 – FOTOGRAFIA DE *Escherichia coli* SOBRE UM FRAGMENTO DE ESPARADRAPO PROVENIENTE DE RESÍDUO SÓLIDO HOSPITALAR INFECCIOSO PADRONIZADO VISTAS EM M.E.V.. AUMENTO DE 1853X



Foto realizada no Centro de Microscopia Eletrônica (CME), UFPR.

FIGURA 45 – FOTOGRAFIA COM BACTÉRIAS *Escherichia coli* SOBRE UM FRAGMENTO DE GAZE PROVENIENTE DE RESÍDUO HOSPITALAR INFECCIOSO PADRONIZADO, VISTAS EM M.E.V. AUMENTO DE 1010X



Foto realizada no Centro de Microscopia Eletrônica (CME), UFPR.

FIGURA 46 – FOTOGRAFIA COM BACTÉRIAS *Escherichia coli* SOBRE UM FRAGMENTO DE GAZE PROVENIENTE DE RESÍDUO HOSPITALAR INFECCIOSO PADRONIZADO, VISTAS EM M.E.V.. AUMENTO DE 1262X.

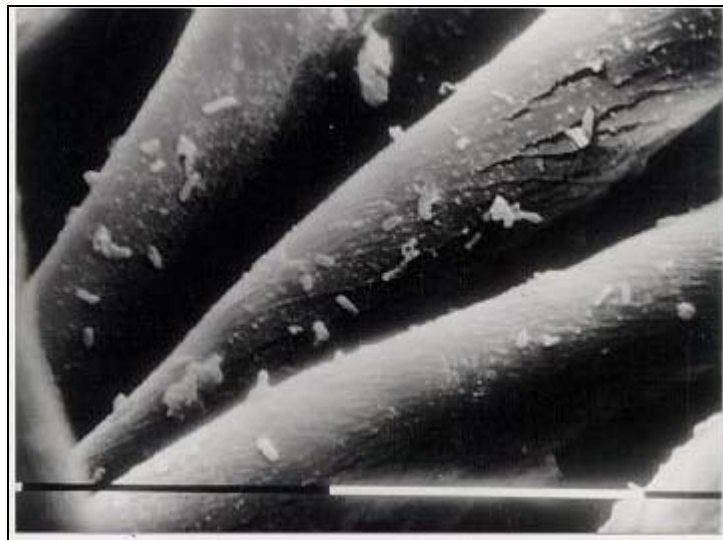


Foto realizada no Centro de Microscopia Eletrônica (CME), UFPR.

FIGURA 47 – FOTOGRAFIA COM BACTÉRIAS *Escherichia coli* SOBRE UM FRAGMENTO DE PLÁSTICO PROVENIENTE DE RESÍDUO HOSPITALAR INFECCIOSO PADRONIZADO, VISTAS EM M.E.V.. AUMENTO DE 1853X.



Foto realizada no Centro de Microscopia Eletrônica (CME), UFPR.

FIGURA 48 – FOTOGRAFIA COM BACTÉRIAS *Escherichia coli* SOBRE UM FRAGMENTO DE PLÁSTICO, PROVENIENTE DE RESÍDUO HOSPITALAR INFECCIOSO PADRONIZADO, VISTA EM M.E.V.. AUMENTO DE 1853X.

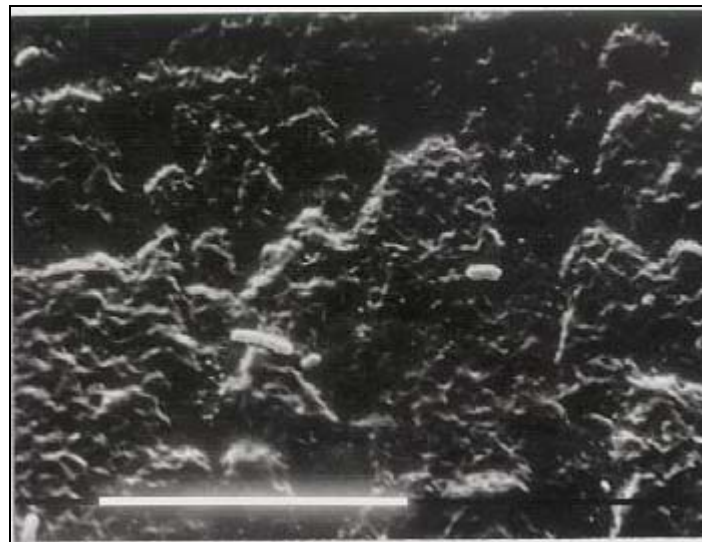


Foto realizada no Centro de Microscopia Eletrônica (CME), UFPR.

As FIGURAS 49 a 54 mostram a disposição de *Pseudomonas aeruginosa* sobre o resíduo analisado. Primeiramente, nessas fotos fica claro o formato de bastonetes da bactéria e, é interessante observar que, em tais materiais, sua adesão é superior a de *Escherichia coli*. Dos materiais analisados, a menor concentração das bactérias foi sobre a gaze, FIGURA 51; entretanto o material estava bastante fragilizado antes da análise e só foi revelada uma das

fotos tiradas, e, quando o feixe de luz passava através do material, as fibras se rompiam, não sendo possível fotografar outras áreas do material, e, para evitar o rompimento das fibras, optou-se por observar usando aumento menor (1704x). As FIGURAS 49, 50 e 51 são das bactérias sobre o esparadrapo; apesar da baixa concentração na FIGURA 49, nas outras duas fotos a concentração estava bastante alta e, principalmente na 51 fica claro como elas estão concentradas em um determinado local, formando as colônias. Essa diferença entre as 3 fotos, quanto a concentração é para demonstrar que a disposição delas sobre o material difere conforme a área. A FIGURA 52 mostra bactérias sobre um fragmento de gaze, e é possível que esse material estava bastante fragilizado, pois se rompeu facilmente quando ocorreu a passagem do feixe de elétrons sobre ele. As FIGURAS 53 e 54 mostram a existência de colônias inclusive no plástico, o que não foi detectado em tão alta concentração no material com *E. coli*. Notar, na FIGURA 56, a concentração maior de bactérias em uma área do material.

FIGURA 49 – FOTOGRAFIA COM BACTÉRIAS *Pseudomonas aeruginosa* SOBRE UM FRAGMENTO DE ESPARADRAPO, PROVENIENTE DE RESÍDUO HOSPITALAR INFECCIOSO PADRONIZADO, VISTA EM M.E.V.. AUMENTO DE 1568X

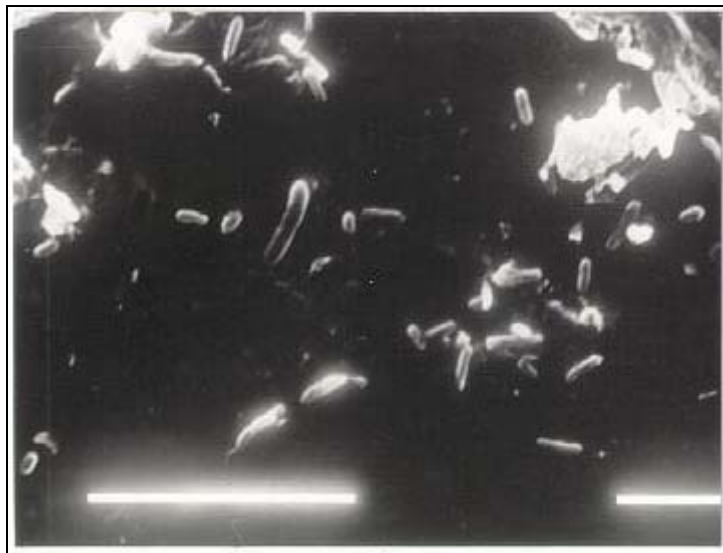


Foto realizada no Centro de Microscopia Eletrônica (CME), UFPR.

FIGURA 50 – FOTOGRAFIA COM *P. aeruginosa* SOBRE UM FRAGMENTO DE ESPARADRAPO, PROVENIENTE DE RESÍDUO HOSPITALAR INFECCIOSO PADRONIZADO, VISTAS EM M.E.V., AUMENTO DE 1853 VEZES

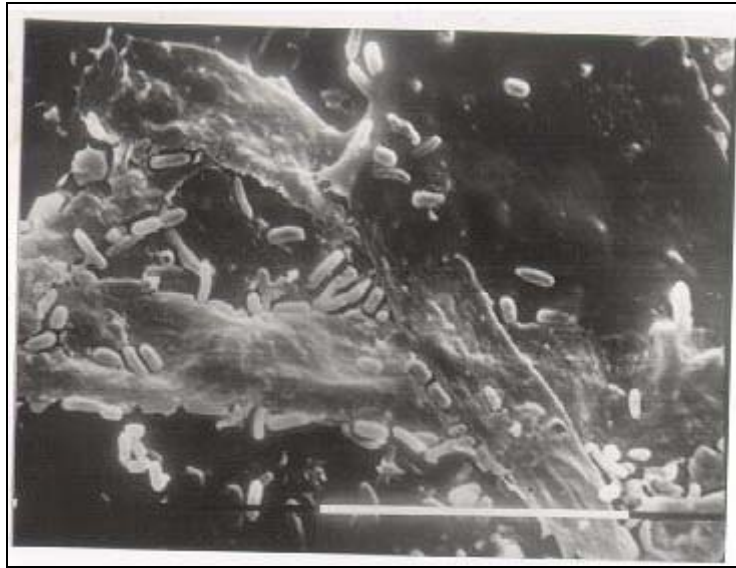


Foto realizada no Centro de Microscopia Eletrônica (CME), UFPR.

FIGURA 51 – FOTOGRAFIA MOSTRANDO *P. aeruginosa* SOBRE UM FRAGMENTO DE ESPARADRAPO, PROVENIENTE DE RESÍDUO HOSPITALAR INFECCIOSO PADRONIZADO, VISTAS EM M.E.V.. AUMENTO DE 1853X



Foto realizada no Centro de Microscopia Eletrônica (CME), UFPR.

FIGURA 52 – FOTOGRAFIA MOSTRANDO *P. aeruginosa* SOBRE UM FRAGMENTO DE GAZE, PROVENIENTE DE RESÍDUO HOSPITALAR INFECCIOSO PADRONIZADO, VISTAS EM M.E.V.. AUMENTO DE 1704X. NOTAR QUE MATERIAL ESTÁ BASTANTE FRAGILIZADO



Foto realizada no Centro de Microscopia Eletrônica (CME), UFPR.

FIGURA 53 – FOTOGRAFIA MOSTRANDO *P. aeruginosa* SOBRE UM FRAGMENTO DE PLÁSTICO, PROVENIENTE DE RESÍDUO HOSPITALAR INFECCIOSO PADRONIZADO, VISTA EM M.E.V.. AUMENTO DE 1782X

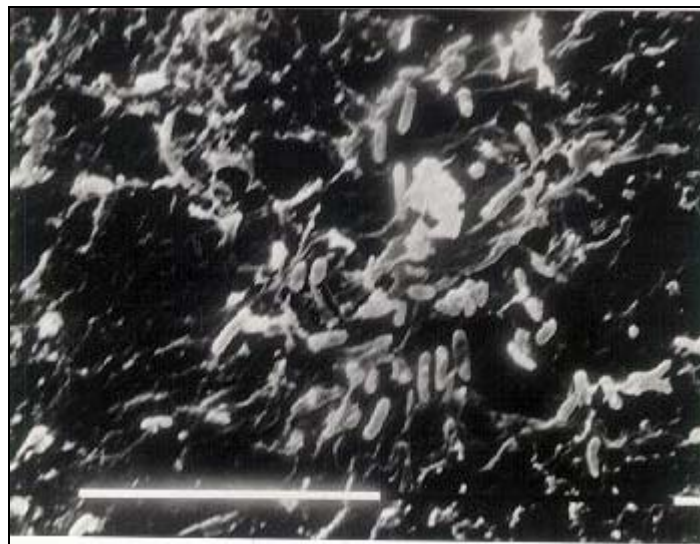


Foto realizada no Centro de Microscopia Eletrônica (CME), UFPR.

FIGURA 54 – FOTOGRAFIA DE *P. aeruginosa* SOBRE UM FRAGMENTO DE PLÁSTICO, PROVENIENTE DE RESÍDUO HOSPITALAR INFECCIOSO PADRONIZADO, VISTAS EM M.E.V.. AUMENTO DE 1853X.

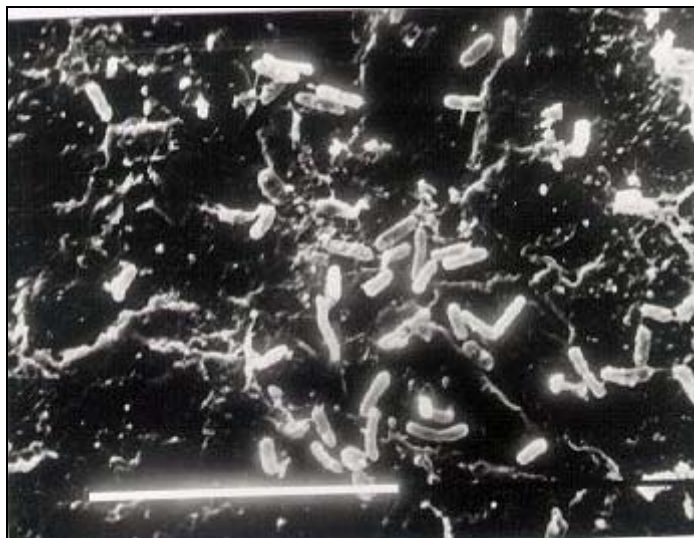


Foto realizada no Centro de Microscopia Eletrônica (CME), UFPR.

Apesar do experimento ter sido realizado em laboratório, com as séries utilizando a mesma composição de resíduo e a mesma metodologia, cada série teve seu próprio comportamento, tanto devido aos valores de concentração inicial como também o fato das bactérias não serem as mesmas, apesar de serem originadas da mesma cepa padronizada. A diferença quanto ao dias necessários para formação do percolado possivelmente ocorreu por uma distribuição um pouco diferenciada da água no resíduo, além de uma diferença na maneira como o resíduo foi colocado no reator, por vezes, podendo ser um pouco mais compactado que outras. Assim, é possível traçar as linhas gerais de comportamento das espécies durante o trabalho.

Nas condições já descritas, com parâmetros monitorados diariamente é possível perceber que um resíduo, mesmo na ausência de alimentos e fezes tem sua população microbiana mantida, tanto no resíduo quanto no percolado formado. Isto pode servir de alerta para que se atente à disposição deste tipo de resíduo a céu aberto, em conjunto com outros resíduos, pois apesar de não ter sido verificado uma explosão populacional, a concentração se manteve constante, mesmo quando não há matéria orgânica presente no resíduo. As fotos em microscopia eletrônica de varredura mostraram que os microrganismos *E. coli* e *P. aeruginosa* possuem alta capacidade de adesão ao resíduo, inclusive a materiais como o plástico não filme utilizado, que, macroscopicamente, tem uma aparência lisa e a adesão de tantas bactérias nele causou surpresa a todos. Nos outros materiais já se esperava uma adesão, mesmo assim, surpreendeu, tendo em vista que se tratam de cepas provenientes de laboratório e não cepas de estabelecimentos de saúde, que possuem uma maior capacidade de sobrevivência no meio. Trabalhos como este não podem ser extrapolados como reprodução fiel do que ocorre no meio ambiente, por ser um sistema muito bem delimitado, mas pode servir de base para outros

estudos realizados no meio ambiente, que são bastante escassos, principalmente no Brasil, onde, como já dito diversas vezes durante o trabalho, 89% de todo resíduo produzido é disposto a céu aberto. A afirmação de que, em aterro, a temperatura média alcançada de 60°C destrói os microrganismos é válida para aterros sanitários, que são locais adequados para disposição de resíduo, com sistema de coleta de chorume, saída para gases formados, cobertura da massa de resíduo que evita proliferação de vetores de doenças, mas que, infelizmente, corresponde a poucos casos no Brasil.

5 CONCLUSÕES

Os dados levantados em literatura demonstram que o assunto Resíduos Sólidos de Serviços de Saúde engloba várias questões e necessita do empenho de profissionais de diversas áreas do conhecimento, sendo poucos trabalhos realizados sobre o comportamento dos microrganismos, tanto na massa do resíduo quanto no chorume. A dificuldade ocorre inclusive em encontrar a definição de uma metodologia a ser empregada, razão pela qual foi necessário o desenvolvimento de uma metodologia, em etapa anterior a este trabalho, realizada pela equipe LARESO/LACEN, que se mostrou bastante satisfatória.

Considerando os objetivos propostos e os resultados obtidos, é possível concluir que os mesmos foram atingidos, apenas não sendo possível verificar o tempo de viabilidade dos microrganismos no resíduo, entretanto, é possível afirmar que é superior a 30 dias.

O acompanhamento do comportamento das bactérias por um período superior a 30 dias, além do acompanhamento das bactérias nas séries isoladas permite concluir que:

Das espécies estudadas, a *Escherichia coli* foi a que apresentou um decaimento em relação à concentração inicial do percolado, provavelmente pelo fato de ser uma bactéria endógena, o resíduo infeccioso padronizado não oferece condições adequadas à reprodução e aumento de sua população, pois, mesmo quando observada isoladamente, ela apresenta uma queda em sua concentração, apenas um pouco mais lenta, demonstrando que há competição entre as espécies, entretanto, a competição não é a única razão pelo seu comportamento.

A *Pseudomonas aeruginosa* teve um crescimento superior às demais bactérias em todas as séries, tanto no percolado imediato quanto acumulado, devido a sua grande versatilidade metabólica e exigência nutricional mínima, além da possibilidade de ter inibido o crescimento das outras espécies graças a produção de pigmentos, como a piocianina.

O *Staphylococcus aureus* apresentou um crescimento real em 2 das 3 séries, entretanto a baixa concentração, quando comparada à encontrada no resíduo pode ser devido à alta capacidade de adesão do microrganismo ao resíduo, além da possibilidade de ser prejudicada pela competição com os outros. Infelizmente, não foi possível verificar a adesão dessas bactérias ao resíduo em microscopia eletrônica de varredura.

Em todas as séries, a concentração de *S. aureus* no resíduo foi superior às concentrações inicial e final do percolado imediato. A opção pela não saturação do resíduo, como realizado no trabalho anterior, proporcionou um comportamento diferenciado de *S. aureus*, que sempre esteve em constante queda, mas neste trabalho não foi observado isso, a não ser na série isolada, que teve um comportamento diferenciado.

A análise final do resíduo, outro objetivo plenamente atingido, apresentou concentrações elevadas para todas as bactérias pesquisadas, inclusive *P. aeruginosa* e *S. aureus* apresentaram uma concentração no resíduo superior à concentração inicial do percolado imediato. Apenas *E. coli* ficou com a concentração no resíduo inferior à do percolado inicial em duas das três séries. Com relação à concentração no resíduo das bactérias cultivadas

isoladamente, apenas *S. aureus* teve uma concentração no resíduo inferior à inicial, entretanto, o comportamento, repetindo mais uma vez, foi totalmente adverso neste série. As análises realizadas em microscopia eletrônica de varredura no resíduo das séries isoladas de *E. coli* e *P. aeruginosa* ilustraram muito bem a adesão delas ao resíduo.

Com relação aos parâmetros monitorados, o objetivo era verificar se as mudanças nas concentrações de pH e de Oxigênio Dissolvido eram seguidas por oscilações na concentrações das bactérias, e, durante o trabalho foi possível verificar que as variações destes parâmetros monitorados parecem não ter relação com as oscilações das concentrações das bactérias.

Independente do modelo de crescimento apresentado, todas as três espécies de bactérias provenientes de cepas de laboratório permaneceram viáveis durante todo o período de experimentação, para as condições testadas, ou seja, temperatura de 25°C e pH na faixa de 6,3 a 8,5.

Portanto, tanto o resíduo como os percolados apresentam condições de sobrevivência e reprodução aos microrganismos estudados, sendo necessários cuidados na manipulação do RSSS, desde a coleta interna até a destinação final do resíduo, com os devidos cuidados para não entrar água nos sacos branco leitosos para evitar a formação de percolado, além da coleta do chorume produzido no local de destinação final, pois, mesmo sem matéria orgânica, as bactérias podem se manter viáveis e *podem* vir a causar problemas à saúde caso entrem em contato com seres vivos ou mesmo se atingirem corpos d'água, sendo necessário estudos epidemiológicos nessa área.

Como recomendações para trabalhos futuros, há algumas possibilidades bastante interessantes:

- a) Utilização de cepas provenientes de hospitais, que pode resultar em comportamento diferenciado por possuírem resistência;
- b) Utilização da mesma metodologia, mas com bactérias diferentes, que estão presentes no resíduo de serviço de saúde, que aos poucos formaria um banco de dados para depois, realizar um trabalho com o resíduo *in natura* e comparar as diferenças;
- c) Utilização de resíduo *in natura*, monitorando-o por um período superior e verificar o comportamento de uma maior gama de microrganismos, com os devidos cuidados de biossegurança.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALTERTHUM, F.; CARVALHAL, M. L. Crescimento bacteriano in TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F.; GOMPERTZ, O. F.; CANDEIAS, J.A.N. **Microbiologia**. 3^a. ed. São Paulo:Atheneu. p..25-30. 1999. 585p.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (Comp.). **Compendium of methods for the microbiological examination of food**. 3rd ed., Washington, DC., 1992, 1219 p.

ANDRADE, J.B.L. **Análise do Fluxo e das Características Físicas, Químicas e Microbiológicas dos Resíduos de Serviços de Saúde: Proposta de Metodologia para o Gerenciamento em Unidades Hospitalares**. Tese (Doutorado). Escola de Engenharia de São Carlos. São Carlos:Universidade de São Paulo, 1997, 208p.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL. **Catálogo Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental**. 18ed. Rio de Janeiro, 1998. 637p.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL Nós não somos abutres in **Bio Revista Brasileira de Saneamento e Meio Ambiente**. Ano 10 n°11, p. 20-23. 1999.

AZEVEDO, M.A.; HELLER, L.; SCHALCH, V. Avaliação dos Impactos Ocasionados pela Disposição Ambiental dos Resíduos Sólidos. In **Anais do 21º Congresso de Engenharia Sanitária e Ambiental**. 16 a 21 de setembro de 2001. João Pessoa, PB. 2001.

BARBOSA, H.R., TORRES, B.B. Nutrição e Crescimento Bacterianos in TRABULSI, L. R., ALTERTHUM, F., GOMPERTZ, O. F., CANDEIAS, J.A.N. **Microbiologia**. 3^a. ed. São Paulo:Atheneu. p..25-30. 1999. 585p.

BARON, E.J.; PETERSON, L.R.; FINEGOLD, S.M. (eds) Pathogenic Bacteriology in **Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology** Moseby: Year Book. 1994. Disponível em <http://www.vet.vga.erc/webfiles/sgrnegrd.htm>., acessado em 16/10/2001.

_____. *Staphylococcus aureus* in **Bailey and Scott's diagnostic microbiology**. 9th. Moseby-year Book In. 1994b. Disponível em: <http://www.vet.uga.edu/erc/webfiles/textile/aureus.htm>. Acessado em 20/10/2001.

BHAKDI, S & JENSEN, J.T. Alphatoxin of *Staphylococcus aureus* in **Microbiology Reviews**, Dec 1991, p. 733-751.T

BIDONE, F.R. (coord.) **Resíduos Sólidos Provenientes de Coletas Especiais. Tratamento e Valorização.** Rio de Janeiro:ABES. 2001. 218p.

BRASIL - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **Resíduos de Serviços de Saúde – terminologia: NBR12807.** Rio de Janeiro, 1993f.

BRASIL - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **Resíduos sólidos – classificação: NBR 10004.** Rio de Janeiro, 1987.

____. **Resíduos de Serviços de Saúde – terminologia: NBR 12807.** Rio de Janeiro, 1993.

____. **Resíduos de Serviços de Saúde – classificação: NBR12808.** Rio de Janeiro, 1993b.

____. **Coleta dos Resíduos de Serviços de Saúde: Procedimento. NBR 12810.** São Paulo (SP), 1993c.

____. **Envelope para Transporte de Produtos Perigosos – Características e Dimensões: Padronização. NBR 7504.** Rio de Janeiro (RJ), 1993d.

____. **Especificação dos Sacos Plásticos para Acondicionamento de Lixo. NBR 9191.** São Paulo (SP), 1993e.

____. **Ficha de Emergência para o Transporte de Produtos Perigosos – Características e Dimensões: Padronização. NBR 7503.** Rio de Janeiro (RJ), 1992.

____. **Manuseio de Resíduos de Serviços de Saúde: Procedimento. NBR 12809.** São Paulo (SP), 1993f.

____. **Sacos plásticos para acondicionamento de lixo – classificação: NBR9190.** São Paulo, 1985.

____. **Símbolos de risco e manuseio para o transporte e armazenagem de materiais – simbologia: NBR 7500.** Rio de Janeiro, 1994.

____. **Transporte de resíduos: Procedimento. NBR 13221.** Rio de Janeiro (RJ), 1994b.

BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC nº 48 de 2 de Junho de 2000.**

BRASIL, MINISTÉRIO DAS MINAS E ENERGIA (MME) **Glossário de Engenharia Ambiental.** Rio de Janeiro, 1987. Pag. 120.

_____. , Presidência da República. Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA. **Resolução nº5 de 5 de agosto de 1993**. Define as normas mínimas para tratamento de resíduos sólidos oriundos de serviços de saúde, portos e aeroportos, bem como a necessidade de estender tais exigências aos terminais ferroviários e rodoviários. *Diário Oficial da União*, Brasília, 31 ago. 1993. Seção 1, p. 12997.

BROOKS, G. F. *et al.*. **Jawetz, Melnick e Adelberg Microbiologia Médica**. 20. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.1998b. 524p. Cap. 09.

_____. Patogenia da Infecção Bacteriana. In: **Jawetz, Melnick e Adelberg Microbiologia Médica**. 20. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.1998a. 524p. Cap. 09.

CALDERONI, S. **Os Bilhões Perdidos no Lixo**. 2^a ed. São Paulo:Humanitas Editora/FFLCH/USP. 1998; 348 p.

CAPPUCCINO, J.G.; SHERMAN, N. **Microbiology: a laboratory manual**. Menlo Park: The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc., 1996. 477 p.

CENTRO PAN-AMERICANO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E CIÊNCIAS DO MEIO AMBIENTE. **Guia para Manejo Interno de Resíduos Sólidos em Estabelecimentos de Saúde**. Tradução de Carol Castillo Argüello. Brasília, D.F.: Organização Pan-Americana da Saúde. 1997. 60p.

CERVIN, M.A.; SIMPSON, D.A.; SMITH, A.L., LORY, S. Differences in eucaryotic cell binding of *Pseudomonas* in **Microbial Pathogenesis** 1994; **17**:291-299.

COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL - CETESB . **Resíduos Sólidos**. 1978. São Paulo. Folheto.

DESCARPACK – DESCARTÁVEIS DO BRASIL LTDA. – **Resíduos de Serviço de Saúde: Manual de Leis, Decreto, Normas, Subsídios e Regras para o Estado de São Paulo**. São Paulo (SP), 1997. 50p.

ENGELBRECHT, R.S.; AMIHOR, P. **Inactivation of Enteric Bactéria and Viruses in Sanitary Landfill Leachate, NIIS PB0252973/as Springfield VA: National Technical Information Service**, 1975 apud COLLINS, H.; KENNEDY, D.A. The Microbiological Hazards of Municipal and Clinical Wastes. *Journal of Applied Bacteriology*, **27**, 1-6, 1992.

FINLEY, B.B.; FALKOW, S. Common themes in Microbial Pathogenicity. In: **Microbiological Reviews**, [S.l.],Vol. 53, n. 02, p. 210-230, June 1989.

FOSTER, T. *Staphylococcus aureus* in **Baron's Medical Microbiology on-line version**. 1997. Disponível em <<http://gsbs.utmb.edu/microbook/ch012.htm>>. Acessado em 07/01/2001.

FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE - FUNASA. Saneamento Ambiental in **Manual de Saneamento**. 1998. Disponível em <http://www.funasa.gov.br/pub/manusane/mansan01.pdf>. Acessado em 05/03/2001.

GERBA, C. Microbial Pathogens in Municipal Solid Wastes. In PALMISANO, A.C.; BARLAZ, M.A. (ed) **Microbiology of Solid Waste**. Florida.:CRC Press. Chapter 5.

GIAMARELLO, H. Therapeutic guidelines for *Pseudomonas aeruginosa* infections. In: **International Journal of Antimicrobial Agents** **16** (2000) 103-106.

GILLIGAN, P.H. **Pseudomonas and Burkholderia** in: MURRAY, P.R. *et al.* **Manual of Clinical Microbiology**. 6th ed. Washington, D.C.: ASM Press. 1995. p. 509-511.

GLOTZBECKER, R.A.; NOVELLO, A.L. Poliovirus and bacterial indicators of fecal pollution in landfill leachates. News of Environmental Research in GERBA, C. Microbial Pathogens in Municipal Solid Wastes. In PALMISANO, A.C.; BARLAZ, M.A. (ed) **Microbiology of Solid Waste**. Florida.:CRC Press. Chapter 5.

GRAY, L.D. Escherichia, Salmonella, Shigella e Yersinia. In: MURRAY, P.R. *et al.* **Manual of Clinical Microbiology**. 6th ed. Washington D.C.: ASM Press 1995. Cap. 33.

GREJSPEERDT, K. & VANROLLEGHEM, P. Estimating the Parameters of the Baranyi Model for bacterial growth in **Food Microbiology** (1999) **16**, 593-605

GUIMARÃES, F. A.; BARROS, R. T. de V. Avaliação de Geração, em Termos Quantitativos, de Resíduos Sólidos de Serviços de Saúde. In **Anais do 21º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental**. 16 a 21 de setembro de 2001. João Pessoa, PB. 2001.

HERWALDT, L. A.; WENZEL, R.P. Dynamics of Hospital-Acquired Infection in MURRAY, P.R. *et al.* **Manual of Clinical Microbiology**. 6th ed. Washington D.C.: ASM Press 1995. Cap. 15.

HILST, B.P. & WRIGHT, K.M. A New Model for Bacterial Growth in Heterogeneous Systems in **Journal of Theoretical Biology** (1994) **168**, 31-41. Elsevier Science.

INSTITUTO DE PESQUISAS TECNOLÓGICAS. **Recipiente para Resíduos de Serviços de Saúde, perfurantes ou cortantes: IPT – NEA 55**. São Paulo, 1996.

JAGER, E.; XANDER, L.; RÜDEN, H. Medizinische Abfälle 2. Mitteilung: Vergleichende Untersuchungen über die mikrobielle Kontamination von Abfällen aus Arztpraxen verschiedener

Disziplinen sowie von Haushaltsabfällen. **In Zentralblatt für Hygiene und Umweltmedizin. (190/1-2)**, 188-206. 1990.

KALNOWSKI, G.; WIEGAND, H.; RÜDEN, H. Über die Microbielle Kontamination von Abfällen aus dem Krankenhaus. **Zentralblatt für Bakteriologie, Mikrobiologie und Hygiene. Abt. Orig. B 178**, 364-379, 1983.

KENNEDY, M. E. (ed.) **Review of Health Impacts from Microbiological Hazards in Health-Care Wastes**. Department of Blood Safety and Clinical Technology and Department of Protection of the Human Environment. GENEVA: WHO. 2001.

KLOOS, W.E.; BANNERMAN, T. L., *Staphylococcus* and *Micrococcus*. In: MURRAY, P.R. *et al. Manual of Clinical Microbiology*. 6a ed. Washington, D.C.: ASM Press. 1995. p. 282-298.

KONEMANN, E.M.; ALLEN, S. D.; JANDA, W.M., SCHRECKENBERGER, P.C., WINN, W.C. Jr. **Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology**. 5a. ed., Philadelphia: Lippincott. 1997.

KOONTZ, F. P. Trends in Post-operative Infections by Gram-positive Bacteria. **In International Journal of Antimicrobial Agents 16** S35-S37. 2000.

LIBERTI, L.; TURSI, A.; COSTANTINO, N.; FERRARA, L.; NUZZO, G. Optimization of Infectious Hospital Waste Management in Italy: Part I – Wastes Production and Characterization Study. **In Waste Management & Research (1994) 12**, 373-385.

_____. Optimization of Infectious Hospital Waste Management in Italy: Part II – Waste Characterization by Origin. **In Waste Management & Research (1996) 14**, 417-431.

LOPES, W.S.; LEITE, V.D.; PRASAD, S. Avaliação dos Impactos Ambientais Causados por Lixões: Um Estudo de **Caso in Anais do XXVII Congresso Interamericano de Engenharia Sanitária e Ambiental**. Porto Alegre, 3 a 8 de Dezembro de 2000.

MACHADO, N. L.; MORAES, L.R.S. Sistemas de Tratamento e Destino Final de Resíduos Sólidos de Serviços de Saúde. **In Anais do 21º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental**. 16 a 21 de setembro de 2001. João Pessoa, PB. 2001.

MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J.M.; PARKER, J. Host-Parasite Relationships. In: _____ **Brock Biology of Microorganisms**. 8th ed. Upper Saddle River: Prentice Hall. 1997a. 986p. Cap. 19.

MAGALHÃES, T. "Quem cuida... Quem sustenta?". **In Bio, Revista Brasileira de Saneamento e Meio Ambiente**. Ano XI, nº16. Outubro/Dezembro 2000. Rio de Janeiro: ABES. 66-70.

MARTINS, L.T. *Staphylococcus*. TRABULSI, L.R., ALTHERTHUM, F., GOMPERTZ, O.F., CANDEIAS, J.A.N. (eds). **Microbiologia** 3.ed. São Paulo:Atheneu. 1999. 585p. Cap. 18.

MATO, R.R.A M.; KASEVA, M.E. Critical Review of Industrial and Medical Waste Practices in Dar es Salaam City In: **Resources, Conservation and Recycling** 25 (271-287). 1999.

MATO, R.R.A.M.; KASSENKA, G.K. A study on problems of management of medical solid wastes in Dar es Salaam and their remedial measures. In: **J. Resources Conserv. Recycl.**, Elsevier, Amsterdam. 1997; **21**:1-16.

MATO, R.R.A.M.; KASSENKA, G., CHRISTOPHER, H., SHUMA, R. Study on medical waste management in small hospitals and dispensaries in Dar es Salaam. A Consultancy Report Submitted to the National Environment Management Council (NEMC), 1995. Unpublished.

MATTOSO, V.D.B. **Classificação, Quantificação e Análise Microbiológica dos Resíduos de Serviços de Saúde da Santa Casa de Misericórdia de São Carlos**. Dissertação (Mestrado). Escola de Engenharia de São Carlos. São Carlos: Universidade de São Paulo. 1996. 89p.

MICROBIONET. **Escherichia** – Sciencenet Multimedia. 2001. Disponível em: <http://www.sciencenet.com.au/escherichia.htm>. Acessado em 03/08/2001.

_____. *Pseudomonas aeruginosa*. 2001b. In: <http://www.sciencenet.com.au/paeruginosa.htm>. Acessado em 03/08/2001.

_____. MOREL, M. M. O; BERTUSSI FILHO, L.A. Resíduos de Serviços de Saúde. In: RODRIGUES, E.A.C.; MENDONÇA, J.S.; AMARANTE, J.M.B.; ALVES FILHO, M.B.; GRINBAUM, R. S.; RICHTMANN, R. **Infecções hospitalares** – prevenção e controle. São Paulo: Sarvier, 1997. p.519-534.

NÓBREGA, C.C.; PAES, R. F. C.; FLORES NETO, J. P.; LIMA, J. D.; SILVA, J. S. Um Levantamento sobre o Gerenciamento dos Resíduos Sólidos de Serviços de Saúde Provenientes de Hospitais e Centros de Saúde do Município de João Pessoa/PB. In **Anais do 21º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental**. 16 a 21 de setembro de 2001. João Pessoa, PB. 2001a.

NÓBREGA, C.C.; SILVA, J.S.; FLORES NETO; J.P., LIMA, J.D.; PAES, R.F.C. Resíduos Sólidos de Serviços de Saúde oriundos de Clínicas Odontológicas, Clínicas Veterinárias e Laboratórios da Cidade de João Pessoa/PB. In **Anais do 21º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental**. 16 a 21 de setembro de 2001. João Pessoa, PB. 2001.

NYSTRÖM, T. Starvation, cessation of growth and bacterial aging. In **Current Opinion in Microbiology** (1999) **2**:214-219.

PALMISANO, A. C.; BARLAZ, M. A. Introduction to Solid Waste Decomposition. *In* PALMISANO, A.C.; BARLAZ, M.A. (ed) **Microbiology of Solid Waste**. Florida.:CRC Press. Chapter 5.

PELCZAR Jr.; M.J., CHAN, E.C.S.; KRIEG, N.R. Cultivo e Crescimento de Microrganismos. *In* **Microbiologia: Conceitos e Aplicações**. Vol. 1. 2ª ed. São Paulo:Makron Books. 1996b. 524p. Cap. 06.

____. Estrutura das Células Procarióticas e Eucarióticas. *In* **Microbiologia: Conceitos e Aplicações**. Vol. 1. 2ª ed. São Paulo:Makron Books. 1996. 524p. Cap. 06.

____. Exigências Nutricionais e Cultivo. **In Microbiologia: Conceitos e Aplicações**. Vol. 1. 2ª ed. São Paulo:Makron Books. 1996c. 524p. Cap. 05.

PRÜSS, A.; GIROULT, E.; RUSHBROOK, P. (ed.). Health Impacts of Health-Care Waste *in* **Safe Management of Wastes from Health-Care Activities**, Geneva, 1999e. p. 28. Disponível em: http://www.who.int/water_sanitation_health/Documents/Healthcare_waste/Manual/020to030.pdf >. Acesso em 19 de fevereiro de 2001.

____. Application of Treatment and Disposal Methods to Health-care Waste Categories. *in* **Safe Management of Wastes from Health-Care Activities**. Cap. 16. Geneva: WHO. 1999c. Disponível em: http://www.who.int/water_sanitations_health/Documents/Healthcare_waste/Manual/113to129.pdf>. Acessado em 15/02/2002.

____. Definition and Characterization of Health-Care Waste *in* **Safe Management of Wastes from Health-Care Activities**. Cap. 2. Geneva: WHO. 1999b . Disponível em: http://www.who.int/water_sanitations_health/Environmental_sanit/MHCWhandbook4.htm>. Acessado em Março de 2001.

____. Minimal Programmes for Health-Care Waste Management. *in* **Safe Management of Wastes from Health-Care Activities**. Cap. 16. Geneva: WHO. 1999. Disponível em: http://www.who.int/water_sanitations_health/Documents/Healthcare_waste/Manual/167to180.pdf >. Acessado em 15/02/2002.

____. Treatment and Disposal Technologies for Health-Care Waste. *in* **Safe Management of Wastes from Health-Care Activities**. Cap. 16. Geneva: WHO. 1999d. Disponível em: http://www.who.int/water_sanitations_health/Documents/Healthcare_waste/Manual/77to112.pdf >. Acessado em 15/02/2002.

RODRIGUES, E.C. Lixo Hospitalar. *In* **Engenharia Sanitária**, 27 (3): 184-188. 1998.

ROJO, D.; PINEDO, A.; CLAVIJO, E.; RODRIGUEZ-GARCÍA, A.; GARCÍA, V. Analysis of risk factors associated with nosocomial bacteremias. **Journal of Hospital Infection (1999). 42:** 135-141.

SANTOS, N. Q. **Infecção Hospitalar, Uma Reflexão histórico-crítica**. Florianópolis:UFSC. Florianópolis, 1997. 144p.

SCHNEIDER, V.E.; CALDART, V.; GASTALDELLO, M.E.T. A Caracterização de Resíduos de Serviços de Saúde como Ferramenta para o Monitoramento de Sistemas de Gestão destes Resíduos em Estabelecimentos Hospitalares. **In 27º Interamericano de Engenharia Sanitária e Ambiental**. 03 a 08 de dezembro de 2000. Porto Alegre, RS. 2000.

SCHNEIDER, V.E.; RÊGO, R.C.E.; CALDART, V.; ORLANDIN, S.M. **Manual de Gerenciamento de Resíduos Sólidos de Serviços de Saúde**. São Paulo: CLR Balieiro. 2001. 173p.

SECRETARIA DE ESTADO DE MEIO AMBIENTE **A cidade e o lixo**. São Paulo:SMA:CETESB. p.10-16.1998. 100p.

SECRETARIA DE ESTADO DO DESENVOLVIMENTO URBANO - **Levantamento de Dados sobre Resíduos Sólidos Municipais no Estado de Santa Catarina** – SDM: Florianópolis:Governo de Santa Catarina.

SEGATO, L.M.; SILVA, C.L. Caracterização do Chorume do Aterro Sanitário de Bauru. . **In 27º Interamericano de Engenharia Sanitária e Ambiental**. 03 a 08 de dezembro de 2000. Porto Alegre, RS. 2000.

Sem autor, **Staphylococcus aureus**. 2001. Disponível em <http://www.jarl.cs.uop.edu/~coshiro>. Acessado em outubro de 2001.

SILVA, M.M.A.C. **Avaliação do Crescimento Microbiológico em Resíduos Hospitalares Infecciosos**. Dissertação (Mestrado). Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental. Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina. 2000. 145pp.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.; SILVEIRA, N.F.A. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos**. São Paulo: Varela, 1997. 295 p.

SOARES, S.R.; BENETTI, L. B.; OLIVEIRA, C.; MIRANDA, A. R.; BARRELLA, K.M.; ALVES, K.C.G. Avaliação Microbiológica do Percolado nos Resíduos Hospitalares Infecciosos . **In Anais do 21º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental**. 16 a 21 de setembro de 2001. João Pessoa, PB. 2001.

SOARES, S.R.; CASTILHOS Jr., A.B.; MACEDO, M.C. Diagnóstico da Produção de Resíduos de Serviços de Saúde. Estudo de Caso: Hospital Universitário, Florianópolis. **Anais do 19º Congresso de Engenharia Sanitária e Ambiental**. Foz do Iguaçu, PR. 1997.

SOARES, S.R.; CASTILHOS JR. A.B. Levantamento Qualitativo e Quantitativo de Resíduos de Serviços de Saúde. *In* **Ação Ambiental**. Número 1. Viçosa, 1998. pp 21-23.

____. Levantamento Qualitativo e Quantitativo de Resíduos de Serviços de Saúde. *In* **Ação Ambiental**. Número 1. Viçosa, 1998. pp 21-23.

SOARES. S.R.; BENETTI, L.B.; OLIVEIRA, C.M.M.; MIRANDA, A.R.; BARRELLA, K.M. e ALVES, K.C.G. Avaliação microbiológica do percolado nos resíduos hospitalares infecciosos. In: **CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL**, 21, João Pessoa, 2001. CD-ROM.

SWAI, C.A.L.; MTALO, J. **Quantitative and qualitative investigation on medical solid waste management in dar es saalam city health facilities. a consultancy report**. Submitted to the Dar es Salaam Urban Health Project (DVHP), 1996. Unpublished.

TODAR, K Constitutive Defenses Part 1. **Baron's Medical Microbiology**. Madison. 2000b. Disponível em <<http://www.bact.wisc.edu/microtextbook/disease/contdef1.html>>. Acesso em fevereiro de 2001.

____. The Bactéria: Background Informations for Studentes Enrolled in Bacteriology 330. **In: Bacteriology 330**. Disponível em <<http://www.bact.wisc.edu/bact330>> 1998b. Acessado em 13/08/01.

____. Bacterian Nutrition and Grow in **Baron's manual of bacteriology**. <<<http://www.bact.wis.edu/bact303/nutritionandgrowth>>. Wiscosin. 1997b

____. Bacteriology 330 Lecture Topics: Pathogenic *E. coli*. 1997c. In: **Bacteriology 330**. Disponível em: <<<http://www.bact.wisc.edu/bact330/lectureecoli>>. Acessado em 22/10/2001.

____. Mechanisms of Bacterial Pathogenicity. In: **Baron's Medical Microbiology**. Madison. 1998a. Disponível em <<<http://www.bact.wisc.edu/Bact303/Bact303pathogenesis>>. Acesso em fevereiro de 2001.

____. Nutrition and bacterian growth. In: **Baron's Medical Microbiology**. Madison. 2000a. Disponível em: <<http://www.bact.wisc.edu/Bact303/NutritionandGrowth>>. Acesso em fevereiro de 2000.

____. *Pseudomonas aeruginosa* in **Bacteriology 330**. Disponível em: <http://www.bact.wisc.edu/bact330/lecturepseudomonas>. 1997d. Acessado em 13/08/2001.

____. The Inducible Defenses in **Baron's Medical Microbiology** 2000c. Disponível em <http://www.bact.wisc.edu/microtextbook/disease/indefense.html>. Acesso em fevereiro de 2001.

TOLEDO, M.R.F.; TRABULSI, L.R. **Pseudomonas** in TRABULSI, L.R., ALTERTHUM, F.; GOMPertz, O.F., CANDEIAS, J.A.N. (ed) **Microbiologia** 3ª ed. São Paulo: Atheneu; 585p. 1999. p.269-270.

TRABULSI, L.R.; CAMPOS, L.C. *Escherichia* in **Microbiologia** TRABULSI, L.R., ALTERTHUM, F., GOMPertz, O.F., CANDEIAS, J.A.N., 3ª ed. São Paulo:Atheneu. 586p. 1999a. Cap. 28.

____. Generalidades sobre Enterobactérias in **Microbiologia** TRABULSI, L.R., ALTERTHUM, F., GOMPertz, O.F., CANDEIAS, J.A.N., 3ª ed. São Paulo:Atheneu. 586p. 1999b. Cap. 27

WORLD HEALTH ORGANIZATION, WHO. Wastes from Health-Care Activities. **In Fact Sheet nº253**. Oct.2000. Disponível em: <http://www.who.int/inf-fs/en/fact253.html>. Acessado em Abril de 2001.

ZANON, U. A Epidemiologia dos Resíduos Sólidos Hospitalares in **Arquivos Brasileiros de Medicina**, v. 65. nº5a, p. 89S-92S. outubro de 1991.

ZANON, U.; MORAES, N. L. A. Epidemiologia Hospitalar. In ZANON, U.; NEVES, J. (ed.), **Infecções Hospitalares, Prevenção, Diagnóstico e Tratamento**. Cap. 5. Rio de Janeiro:Medsi, 1987.