

V SIMPÓSIO DE BIOQUÍMICA E BIOTECNOLOGIA

05 a 07 de agosto de 2015, Londrina – PR

Resíduos de Lodo de Esgoto: Avaliação de Risco Potencial Ambiental e para a Saúde

Márcia Regina Terra¹, Larissa Botura da Silva¹, Jaqueline Ribeiro Imbirani¹, Barbara Aduan Silveira¹, Márcia Cristina Furlaneto² e Luciana Furlaneto-Maia¹

¹Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR – CÂMPUS LONDRINA

² Universidade Estadual de Londrina (UEL) – Paraná, Brasil

Avenida dos Pioneiros, 3131 CEP 86036-370 - Londrina - PR – Brasil – Telefone Geral +55 (43) 3315-6100
E-mail: (marciarterra@hotmail.com)

RESUMO

Tem-se buscado alternativas para o destino final de lodo de esgoto e uma alternativa é a utilização de lodo de esgoto na agricultura. Contudo, para ser realizada de forma segura, deve passar por processos que visam a diminuição de microrganismos patogênicos. Com o objetivo de isolar *Escherichia coli* e *Enterococcus spp.* do lodo de esgoto, avaliar o perfil de suscetibilidade a antimicrobianos e avaliar aspectos físico-químicos do lodo de esgoto foram realizadas 4 coletas de lodo de esgoto da ETE Norte de Londrina – PR, foi determinado o perfil fenotípico *Enterococcus spp.* e *Escherichia coli* e analisado aspectos físico-químicos do solo. Obtivemos o isolamento de *Enterococcus spp.* e *E. coli* em todas as coletas que apresentam multirresistência a antimicrobianos como a vancomicina. O pH básico e a alta umidade podem ter sido fatores preponderantes para o desenvolvimento microbiano. O tratamento adequado é importante para a para que o lodo possa ser utilizado.

Palavras-chave: lodo de esgoto, *Enterococcus*, *Escherichia coli*.

INTRODUÇÃO

O destino final dos resíduos produzidos nos sistemas de tratamento de água e esgotos é uma preocupação mundial. Mais de 90% do lodo produzido no mundo tem sua disposição final por meio de três processos: incineração, disposição em aterros e uso agrícola, sendo o uso agrícola predominante, adotado para aproximadamente 55,5% do lodo produzido nos Estados Unidos (EPA, 1999), pois representa uma alternativa às regiões com agricultura intensiva e com extensas áreas de solos depauperados e baixos níveis de matéria orgânica (PROSAB, 1999).

Para tanto, o lodo de esgoto deve ser tratado, envolvendo processos físicos, biológicos e/ou químicos visando a remoção do material orgânico e a redução de microrganismos patogênicos. Posteriormente, a contaminação microbiológica do lodo deve ser analisada, para que o lodo seja utilizado com segurança, caso contrário pode representar ameaça à saúde pública, pois no lodo de esgoto são encontrados vários microrganismos como as bactérias onde algumas são consideradas patogênicas à saúde humana (PROSAB, 1999). A contaminação microbiológica do lodo é originada principalmente do material fecal contido no esgoto, onde nas fezes humanas há aproximadamente 10^5 a 10^9 de bactérias e no esgoto bruto dos Estados Unidos a média é de Coliformes totais e Coliformes termotolerantes é de 10^5 a 10^6 e 10^4 a 10^5 , respectivamente (SCHWARTZBROD, 1996). Além do grupo dos coliformes, no ambiente também podemos

V SIMPÓSIO DE BIOQUÍMICA E BIOTECNOLOGIA

05 a 07 de agosto de 2015, Londrina – PR

encontrar *Escherichia coli* e *Enterococcus* spp. que fazem parte da microbiota intestinal de animais, inclusive seres humanos, estando presente em altas concentrações nas fezes expelidas ao ambiente (RINCE et al., 2000). Ambas, estão envolvidas em intoxicação alimentar (GARDINI et al., 2001) e na disseminação de genes de resistência a antimicrobianos por meio da cadeia alimentar (GIRAFFA, 2002). Em vista da problemática exposta o presente estudo objetiva-se a isolrar *Escherichia coli* e *Enterococcus* spp, observar sua suscetibilidade a antimicrobianos e avaliar aspectos físico-químicos do solo.

MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo foi realizado na Estação de Tratamento de Esgoto (ETE) no município de Londrina – PR Norte, sendo escolhida a ETE- Norte que atende a 45,3% da população, é a maior estações e está localizada na sub-bacia do ribeirão Lindóia. Foram realizadas 4 coletas no período de setembro a dezembro de 2014 autorizadas pela Sanepar (Companhia de Saneamento do Paraná) empresa responsável pela coleta e tratamento de esgoto sanitário do estado. O leito de secagem foi escolhido aleatoriamente, a área do leito foi dividida em 10 quadrículas imaginárias (NBR 10007/1997), cada amostra foi coletada com pá e acondicionadas em sacos plásticos estéril. As amostras foram acondicionadas em caixa isotérmica até a analise.

Para a analise 25 gramas do lodo foi adicionado em 225 mL de salina a 0,85% estéril e homogeneizado por 15 minutos a 120 rpm e sedimentação por 5 minutos. Posteriormente, 100 mL da mistura foi filtrada pela técnica de membrana filtrante e a membrana foi transferida para placas contendo os meios Kanamycin Esculin Azide ágar (KEA) para o isolamento de *Enterococcus* spp e os meios MFC e M-ENDO LES para coliformes. Após 24 horas de incubação a 37°C foram isoladas e cultivadas colônias características de cada placa em meio Brain Heart Infusion caldo (BHI caldo). Os isolados foram estocados em BHI caldo acrescido de 20% de glicerol e armazenadas em freezer a -80.

A identificação fenotípica dos isolados foi realizada empregando-se os seguintes testes: coloração de Gram, observação da morfologia e arranjo celular, para os isolados provenientes do crescimento em meio KEA também foi realizado o teste de catalase e para os isolados provenientes do meio ágar M-ENDO LES e ágar M-FC foi realizado o cultivo em Eosina Azul de Metileno (EMB) e em ágar Citrato de Simmons. Para analise da suscetibilidade dos isolados foi realizada a técnica de disco-difusão em ágar frente aos antimicrobianos Teicoplanina (30µg), Norfloxacina (10µg), Estreptomicina (10µg), Cloranfenicol (30µg), Ampicilina (10µg), Gentamicina (10µg), Vancomicina (30 µg), Ciprofloxacina (5µg) e Penicilina G (10 µg) conforme estabelecido pelo CLSI (2011). Para a analise dos parâmetros físico-químicos foi estabelecido o pH, condutividade elétrica, umidade, sólidos totais e sólidos voláteis totais.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Como resultado dos testes fenotípicos foram obtidas e analisadas 45 colônias negras provenientes do crescimento em meio KEA presuntivo para *Enterococcus* spp. Destas, 26,67% foram classificadas como pertencente ao gênero *Enterococcus* spp pois apresentaram como característica células em forma de cocos Gram-positivos, dispostos isoladamente ou em curtas cadeias e catalase negativa (Fisher e Phillipis, 2009). Segundo Correa (2009) a presença deste

V SIMPÓSIO DE BIOQUÍMICA E BIOTECNOLOGIA

05 a 07 de agosto de 2015, Londrina – PR

gênero no lodo é devido à grande concentração de nutrientes presentes lodo além das relações ambientais com local como, por exemplo, a maior ou menor incidência de radiação solar e área susceptível a grandes mudanças climáticas. Além disso, *Enterococcus spp.* é reconhecido por sua capacidade de sobreviver em ambientes adversos e por fazer parte da microbiota normal de humanos e animais sendo encontrado nas fezes (GIRAFFA, 2002).

Já em meio ágar M-ENDO LES foi observado o crescimento de 52 colônias vermelhas com brilho e em ágar M-FC colônias azul claro, sendo presuntivo para coliformes totais e coliformes fecais, respectivamente. Das 52 colônias inoculadas em meio EMB, em Citrato de Simmons e submetidas a coloração de Gram observamos que 57,69% apresentaram crescimento de colônias com brilho metálico verde característico de enterobactérias lactose-positivos, foram Citrato de Simmons negativo indicando que a bactéria não utiliza o citrato como fonte de carbono e Gram-negativo em forma de bacilos, tais características são encontradas em *Escherichia coli* (BARNES et al., 1997).

Em relação a suscetibilidade a antimicrobianos 40% dos *Enterococcus spp.* foram resistentes aos antimicrobianos Eritromicina, Teicoplanina e Vancomicina e 20% foram resistentes à Penicilina e Cloranfenicol, sendo considerados multirresistentes. Para os demais antimicrobianos, os isolados foram sensíveis. Já para *E.coli* 100% dos isolados foram resistentes a Imipenem, 20% das amostras foram resistentes a Teicoplanina, Norfloxacin, Estreptomicina, Ampicilina, Vancomicina, Ciprofloxacina e Penicilina G sendo consideradas multirresistentes e 100% dos isolados foram sensíveis à Amicacina, a Cloranfenicol e à Gentamicina. Depizzol (2006) demonstrou que a prevalência de microrganismos resistentes a antimicrobianos em esgoto depende de fatores como, por exemplo, o sistema de tratamento do esgoto analisado, da bactéria objeto de estudo e do antimicrobiano. A presença de bactérias multirresistentes em lodo utilizado na agricultura é preocupante, pois podem ser ingeridas via cadeia alimentar e ao causarem doenças podem ter difícil terapêutica (FISHER e PHILLIPIS, 2009).

Quanto a análise dos aspectos físico-químicos do lodo foi observado que o pH variou de ácido a básico, sendo a média de 5,4. Valores baixos de pH se deve ao fato da não utilização da cal durante o processamento; o objetivo de se adicionar a cal no lodo é a elevação do pH com o intuito de reduzir a densidade de microrganismos patogênicos (GONÇALVES & LUDOVICE, 2000). Bettoli e Fernandes (2004) obtiveram resultados semelhantes a este estudo. Os valores de umidade também foram variáveis, chegando a 70%; estes valores são decorrentes do período em que o lodo se encontrava no leito de secagem; a atividade microbiológica é inibida quando o teor de umidade de uma mistura é inferior a 40%, assim a alta umidade encontrada neste período pode ter facilitado o desenvolvimento bacteriano. Os valores de condutividade elétrica variaram de 878 a 2954 µS/cm, valores altos de condutividade elétrica se deve à possível presença de concentrações elevadas de sal presente no lodo, o que leva ao aporte de N-NO₃ (nitrogênio mineral) (BETTIOL E FERNANDES, 2004).

CONCLUSÕES

A presença de *Enterococcus* e *E. coli* é esperada, haja visto que estas podem ser encontradas nas fezes de animais. Desta forma, podemos concluir que o tratamento adequado do lodo de esgoto tem importância fundamental para que este possa ser manuseado e utilizado com

V SIMPÓSIO DE BIOQUÍMICA E BIOTECNOLOGIA

05 a 07 de agosto de 2015, Londrina – PR

segurança na agricultura, caso contrário poderá contaminar o solo e também os cultivares afetando mamíferos via cadeia alimentar implicando na saúde.

Agências de Fomento: Capes, CNPq, Fundação Araucária

REFERÊNCIAS

- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NB 570/1990:** Projeto de Estações de Tratamento de Esgoto Sanitário. Rio de Janeiro, 1990.
- BARNES, H.J., VAILLANTCOURT, J-P., GROSS, W.B. Colibacilose. In: **Diseases of Poultry.** ed.10, editora Cannek, B.D.Ames:University Press, 1997, pg. 631-634. 1231.
- CLSI-Clinical and Laboratory Standards Institute. **Performance standards for antimicrobial susceptibility testing;** Twenty-First Informational Supplement Approved standard M100-S21, v. 31, 2011.
- CORREIA, J. E. **Caracterização Físico-Química e Microbiológica do Lodo Gerado na Estação de Tratamento de Esgoto Contorno, Feira de Santana, Ba.** 2009. 94 f. Dissertação (Mestrado em Ciências em Engenharia Civil e Ambiental) – Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, 2009.
- DEPIZZOL, F. **Avaliação da resistência a antibióticos em isolados de Escherichia coli provenientes de esgoto hospitalar e sanitário.** 2006. 144 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) – Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2006. do Rio Grande do Norte, Açu, Brasil, 1999.
- ESTADOS UNIDOS. Environmental Protection Agency. (1999). **Biosolids generation, use, and disposal in The United States.** (EPA 530-R-99-009).
- FISHER, K., PHILLIPS, C. **The ecology, epidemiology and virulence of Enterococcus.** Microbiology 155, 1749–1757, 2009.
- GARDINI, F., MARTUSCELLI, M., CARUSO, M.C., GALGANO, F., CRUDELE, M.A., FAVATI, F., GUERZONI, M.E., SUZZI, G. **Effects of pH, temperature and NaCl concentration on growth kinetics, proteolytic activity and biogenic amine production of Enterococcus faecalis.** International Journal of Food Microbiology v.64, p.105–117, 2001.
- GIRAFFA G. **Enterococci from foods.** FEMS Microbiology Reviews, v.26, ed.2, p.163-171, 2002.
- GONÇALVES, R.F.; LUDOVICE, M. (2000). **Alternativas de minimização da produção e desaguamento de lodo de esgoto.** In: BETTIOL, W.; CAMARGO, O.A. orgs. Impacto ambiental do uso agrícola do lodo de esgoto. Campinas, SP, EMBRAPA Meio Ambiente, p.25-44. Curitiba, Nov.
- Programa de Pesquisas em Saneamento Básico – PROSAB. **Gerenciamento do lodo de lagoas de estabilização não mecanizadas.** Vitória, 1999
- RINCE, A.; FLAHAUT, S. & AUFFRAY, Y.2000. **Identification of general stress genes in Enterococcus faecalis.** International Journal of Food Microbiology. Caen, France, v. 55, p. 87-91.
- SCHWARTZBROD, J. (1996). **Seminário multidisciplinar sobre reciclagem agrícola do lodo de esgoto.**