



VI-026 – AVALIAÇÃO DA PRESENÇA DE *Salmonella spp* EM ESGOTO SANITÁRIO: ADAPTAÇÃO E IMPLANTAÇÃO DE METODOLOGIA

Angela dos Santos Barretto⁽¹⁾

Bióloga Marinha pela FAMATH. Mestre e Doutora em Hidráulica e Saneamento pela Escola de Engenharia de São Carlos (EESC/USP). Pesquisadora Colaboradora do DSA/FEC/UNICAMP.

Edson A. Abdul Nour

Engenheiro de Alimentos e Tecnólogo em Saneamento pela UNICAMP. Mestre em Engenharia Civil pela FEC/UNICAMP e Doutor em Hidráulica e Saneamento pela Escola de Engenharia de São Carlos (EESC/USP). Professor DSA/FEC/UNICAMP.

Ligia Maria Domingues

Tecnóloga em Saneamento CESET/UNICAMP. Mestre em Engenharia Civil pela FEC/UNICAMP. Tecnóloga Sanitarista do DSA/FEC/UNICAMP.

Endereço⁽¹⁾: Rua Albert Einstein, 951 – Cidade Universitária Zeferino Vaz - Campinas - SP - CEP: 13083-852 - Brasil - Tel: + 55 (19) 3521-2379 - e-mail: abarreto@fec.unicamp.br

RESUMO

Problemas na área de saúde pública estão diretamente relacionados com a falta de saneamento. O tratamento de esgoto, em conjunto com outras ações, favorece a preservação dos recursos naturais. Medidas tomadas em conjunto, como a conscientização da população em relação à diminuição do desperdício de água, as formas de reaproveitamento em suas casa ou locais de serviço (ambas redução do consumo ou suprimento convencional) favorecem a preservação dos recursos hídricos.

O consumo de água tem elevado a cada ano e a falta de políticas de controle e manutenção dos mananciais existentes tem piorado o problema. O descarte de águas residuárias sem a devida atenção aos parâmetros microbiológicos tem piorado este processo.

Baseado nesta afirmativa torna-se de fundamental importância do desenvolvimento e a manutenção em rotina de análises microbiológicas como subsidio a pesquisas experimentais em ambiente e reuso de efluentes.

O sistema de tratamento de esgoto foi implantado na Faculdade de Engenharia Agrícola/UNICAMP, e foi composto por um reator compartimentado anaeróbio, wetlands construído vegetados, filtração lenta e desinfecção por cloração com hipoclorito.

Foram realizadas 28 análises, sendo 11 em amostras de esgoto bruto, 6 de esgoto tratado pelo RAC seguido pela wetland construída plantada com macrófita e 11 de esgoto tratado pelo RAC, seguido das wetlands construídas plantadas com “biri” e papiro, a seguir submetidas a filtração e posterior desinfecção por cloração. A *Salmonella spp* foi detectada em todas as amostras de esgoto bruto e tratado sem desinfecção (RAC e wetlands com macrófita). Em 5 amostras de esgoto tratado submetido a desinfecção por cloração este microrganismo foi detectado

PALAVRAS-CHAVE: Esgoto Sanitário, *Salmonella spp*, Metodologia, Reúso.

INTRODUÇÃO

As bactérias patogênicas presentes no esgoto doméstico pertencem a diversos gêneros, como *Salmonella*, *Shigella*, *Vibrio*, *Escherichia*, *Campylobacter* e *Yersinia*. Cada um destes organismos apresenta diferentes mecanismos de patogenicidade e quadros clínicos.

Salmonella spp. são bactérias gram-negativas pertencente a família Enterobacteriaceae e que se caracterizam por apresentar mobilidade, fermentar a glicose e produzir gás como produto desta fermentação. Com raras exceções, não fermentam a lactose e não produzem indol (BIER, 1982, OPLUSTIL *et alli.*, 2000). Apresentam distribuição cosmopolita e podem infectar uma ampla variedade de mamíferos, aves, répteis e eventualmente insetos (KRIEG, HOLT, 1984). São conhecidos, hoje, mais de 2324 sorotipos de *Salmonella spp*, segundo o esquema de sorotipagem de Kauffman-White (CAMPOS, 1999; SELANDER *et alli.*, 1996). O aumento crescente no número de sorotipos identificados, o grande número de hospedeiros, sua complexidade patogênica e etiologia da doença tem elevado a importância desta bactéria e doenças causadas por ela são bem



conhecidas em humanos, animais de criação e de companhia e podem resultar em quadros de morbidade e mortalidade com perdas econômicas expressivas.

Uma das características de *Salmonella spp* é sua capacidade de sobrevivência por longos períodos no ambiente, sendo esta sua principal fonte de contaminação para os animais, incluindo o homem. Trabalhos apontam que este agente pode sobreviver por 9 meses ou mais em ambientes como solo, água, partículas fecais e alimentos de origem animal (QUINN *et alli.*, 1994). Dados mais precisos apontam que *Salmonella spp.* pode se manter virulenta por 82 dias em água corrente, 115 dias em água parada, 120 dias em solo de pastagem, 280 dias em solo de jardim, 28 meses em fezes de aves e 30 meses em esterco bovino (JONHSON-DELANEY, 1996).

No Brasil, é crescente o número de isolamentos de *Salmonella spp* não-tifóide desde 1970, caracterizando um problema em saúde pública. A transmissão ocorre principalmente pela água e por alimentos contaminados.

O crescente interesse no reúso de efluentes sanitários tratados em atividades menos nobres e a aplicação de lodo de esgoto na agricultura ainda exigem estudos para definição dos requisitos de qualidade mínimos para cada uso, bem como a avaliação dos riscos inerentes a cada atividade.

Baseado nesta afirmativa torna-se de fundamental importância do desenvolvimento e a manutenção em rotina de análises microbiológicas como subsídio a pesquisas experimentais em ambiente e reúso de efluentes.

Os objetivos deste trabalho foram (1) adaptar e implantar a metodologia para quantificação de *Salmonella spp* no Laboratório de Saneamento, (2) dominar sua aplicação em amostras de esgoto bruto e tratado e (3) avaliar um sistema de tratamento de esgoto simplificado quanto à presença deste microrganismo.

MATERIAIS E MÉTODOS

O sistema de tratamento de esgoto para pequenas comunidades avaliado no estudo está implantado no campo experimental de uma Faculdade de Engenharia Agrícola. O esgoto que abastece o sistema provém de descargas de vasos sanitários, lavatórios, pias de laboratórios e lavagem de pisos.

A configuração usada no estudo consistiu de um reator anaeróbio compartimentado (RAC), seguido de "wetlands construídos", utilizando brita como substrato, filtração lenta e desinfecção por cloração com hipoclorito. O fluxograma do sistema de tratamento, com a indicação dos pontos de coleta das amostras analisadas está apresentado na Figura 1.

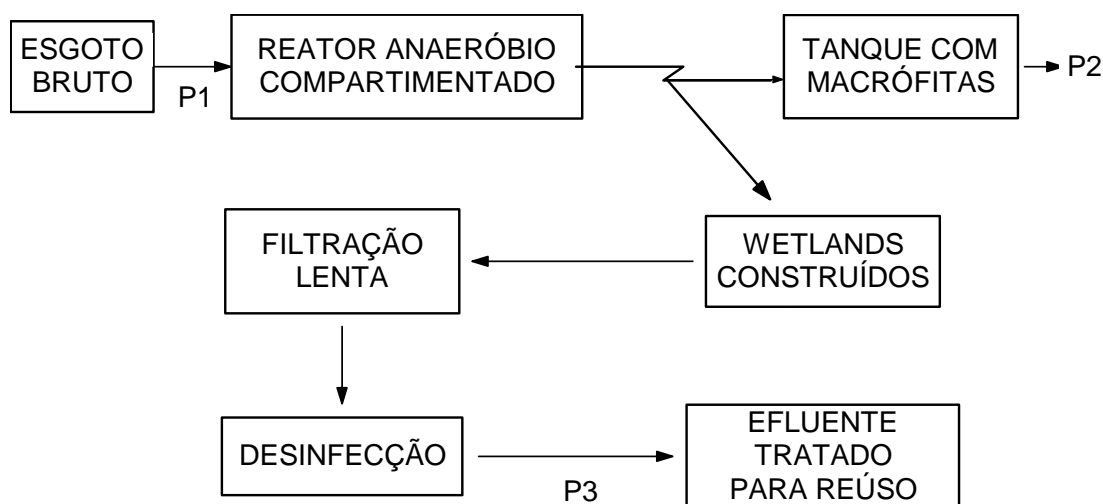


Figura 1: Fluxograma do sistema de tratamento, indicando os pontos de coleta.

O RAC foi operado com tempo de detenção hidráulico (TDH) entre 7,5 a 9,0 horas durante o período de monitoramento. O reator apresenta fluxo ascendente.



O efluente tratado pelo RAC era então enviado para os wetlands construídos de fluxo horizontal e sub-superficial, sendo dois utilizando brita nº 2 e dois utilizando anéis de bambu como meio suporte. Um dos wetland construído era vegetado com “biri” (*Canna indica* var. *hortensis*) e outro com papiro (*Cyperus papyrus*) em cada meio suporte estudado.

A filtração lenta era composta, primeiramente, por um pré-filtro de fluxo ascendente, preenchido com quatro camadas de pedregulho de diferentes diâmetros (2,38 mm a 38,10 mm), sendo que o diâmetro diminuía no sentido do fluxo. Na sequência existiam dois pré-filtros de areia, de fluxo descendente, sendo o meio filtrante, com 40 cm de espessura e constituído de areia grossa de construção civil, passada pela peneira de 1 mm. A taxa de filtração média no período foi 1,5 m³/m².dia.

Os efluentes dos filtros foram submetidos à desinfecção por cloração por meio da utilização de uma solução de hipoclorito de sódio.

A metodologia utilizada foi adaptada dos métodos oficiais da CETESB e da APHA (American Public Health Association), e autores como: Silva *et. alli* (2001), Silva *et alli* (2005), OPLUSTIL, *et. alii.*, 2000.

As amostras são concentradas em membrana filtrante, suspensas em caldo Tetrationato com iodo e incubadas em estufa a 35 °C. Após 24 horas de incubação a amostra é estriada em placas com 04 diferentes tipos de ágar: MacConkey (MC), Xilose Lisina Desoxicolato (XLD), Salmonella-Shigella (SS) e Verde Brilhante (VB). Estas placas são incubadas a 35 °C. Após 24 horas de incubação as colônias sugestivas são inoculadas em ágar inclinado TSI (Triple Sugar Iron) e LIA (Ágar Lisina Ferro), e então incubados a 35 °C por 24 horas, e com os tubos sugestivos destes meios são então realizados os seguintes testes bioquímicos: teste sorológico somático polivalente, teste de urease, teste da fermentação do dulcitol, teste da fermentação da lactose, teste da fermentação da sacarose, teste do indol, teste de vermelho de metila e Voges-Proskauer e teste do citrato de Simmons (SILVA, *et. alii.*, 2001, APHA, 1998, SILVA, *et. alii.*, 2005 e OPLUSTIL *et alii.*, 2000). O resultado é expresso em termos de presença ou ausência (Figura 2).

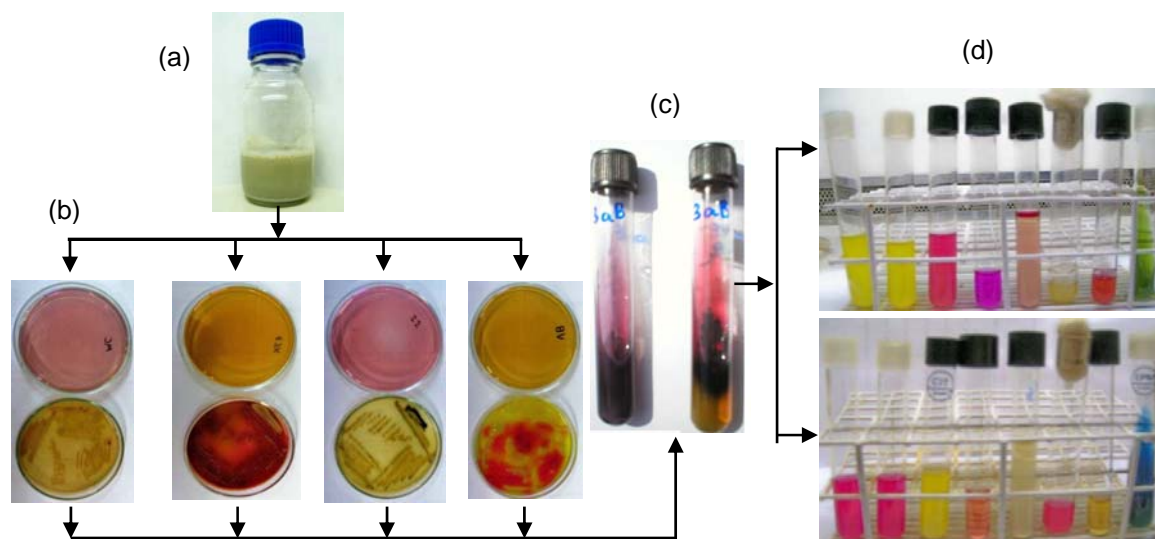


Figura 2: (a) Enriquecimento seletivo; (b) Plaqueamento diferencial em Ágar MacConkey, XLD, SS e VB sendo na fileira do alto as placas antes do crescimento e na fileira abaixo as placas com alguns tipos de colônias características (c) Ágar inclinado TSI e LIA; (d) Série bioquímica: fermentação da lactose, sacarose e dulcitol, urease, indol, VM, VP e citrato, sendo que a série de cima representa a forma negativa e a série de baixo a forma positiva dos resultados para *Salmonella* spp.

Foram realizadas as seguintes análises nos três pontos de coletas avaliados: temperatura, potencial hidrogeniônico (pH), cloro total, cloro livre e turbidez, segundo metodologias contidas no Standard Methods for Examination of Water and Wastewater (APHA, 1998).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1 a seguir estão apresentados os dados obtidos para *Salmonella spp.* durante o período de realização do experimento.

Tabela 1: Resultados da determinação de *Salmonella spp* nos vários pontos de coleta, ao longo do período de amostragem.

Coleta		Salmonella spp	
Mês	Ponto	Presença	Ausência
Janeiro	P1 / P2 / P3		
Fevereiro	P1		
	P3		
Março	P1 / P2		
	P3		
Maio	P1 / P2 / P3		
Junho	P1		
	P3		
Coleta		Salmonella spp	
Mês	Ponto	Presença	Ausência
Julho	P1 / P2		
	P3		
Agosto	P1 / P3		
Setembro	P1 / P2 / P3		
Outubro	P1 / P3		
Novembro	P1 / P2		
	P3		
Dezembro	P1 / P3		

Foram realizadas 28 análises, sendo 11 em amostras de esgoto bruto, 6 de esgoto tratado pelo RAC seguido pela wetland construída plantada com macrófita e 11 de esgoto tratado pelo RAC, seguido das wetlands construídas plantadas com “biri” e papiro, a seguir submetidas a filtração e posterior desinfecção por cloração.

Salmonella spp foi detectada em todas as amostras de esgoto bruto e tratado sem desinfecção (RAC e wetlands com macrófita). Em 5 amostras de esgoto tratado submetido a desinfecção por cloração este microrganismo foi detectado(Tabela 1).

Verificou-se que o sistema de tratamento estudado não foi eficiente na remoção de *Salmonella spp* e que a associação com a cloração foi eficiente em 45,5 % das amostras analisadas.

Podê-se observar uma redução no número de colônias características após a cloração. O sistema de tratamento estudado não foi eficiente para este microrganismo, sendo necessário alternativas de desinfecção.

A adaptação da metodologia, utilizando técnicas de análises clínicas, alimentos, e lodos foi eficiente, para detecção em esgoto sanitário, entretanto, por demandar muito tempo está sendo submetida a uma avaliação complementar para ser otimizada.

A seguir nas Figuras 3, 4 e 5 estão apresentados os resultados obtidos para as análises físicas e químicas realizadas.

Com relação aos resultados obtidos para temperatura (Figura 3) não ocorreram variações significativas. As variações que existiram foram decorrentes, principalmente, dos horários em que as coletas foram realizadas. As coletas tinham início por volta das 10:00 e terminavam entorno das 14:00. As estações do ano também afetaram esses valores de forma significativa e importante.

Os valores de pH variaram de 6,5 (ponto 2, mês de maio) a 8,6 (ponto 1, mês de setembro). O valor de pH do efluente no ponto 1 sempre foi maior que os observados nos outros pontos de amostragem, com exceção do mês de janeiro, provavelmente devido a diminuição das atividades da comunidade produtora/geradora do efluente avaliado. Na Figura 2, nota-se valores de pH mais elevados nos meses de maior atividade nas dependências da faculdade, ou seja, uma maior circulação de pessoas implica em uma intensificação de atividades de limpeza, e desta forma de produtos necessários a esta atividade, decorrente do uso mais intenso dos banheiros, pequenas cozinhas, laboratórios de ensino e pesquisa (Figura 4).

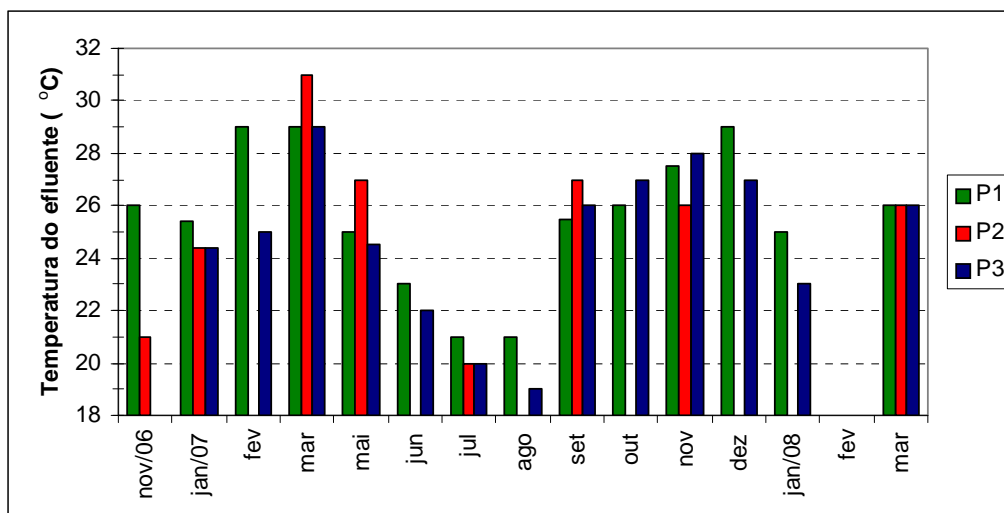


Figura 3: Resultados obtidos para temperatura do efluente.

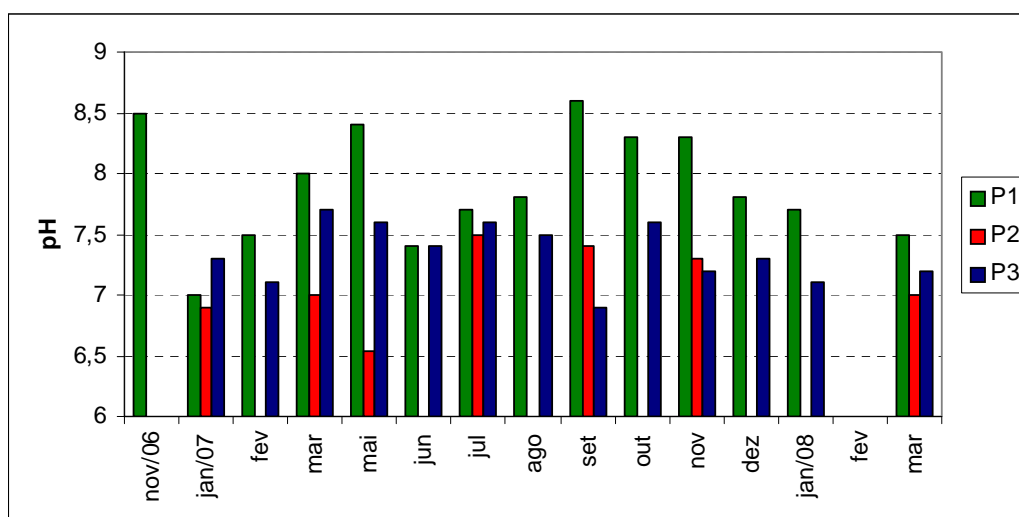


Figura 4: Resultados obtidos para pH do efluente.

Na figura 5, estão apresentados os dados obtidos para cloro total e cloro residual, onde se pode observar que, em relação ao cloro residual as coletas junho, setembro, outubro, novembro atendem as recomendações de NBR 13.969/97, cujos valores precisam ser superiores a 0,5 mg/L para classe de reúso 2 (“lavagem de pisos, calçadas e irrigação dos jardins, manutenção dos lagos e canais para fins paisagísticos, exceto chafarizes”). Com relação à classe 1 da mesma norma, observa-se que as coletas 6 e 9 atendem a esta classe, esta classe refere-se a “lavagem de carros, e outros usos que requerem contato direto do usuário com a água, com possível aspiração de aerossóis pelo operador, incluindo chafarizes”.

Os resultados obtidos para turbidez no ponto 3 foram maiores que os obtidos no ponto 2 até o mês de agosto (coleta 8), apesar de passar por pré-filtro e filtro ascendente, este fato deve-se ao fato de tanto o filtro quanto o pré-filtro não terem recebido manutenção e necessitarem de limpeza, o que ocorreu no mês de setembro (coleta 9), onde observa-se um decréscimo nos valores de turbidez no ponto 3 em relação ao ponto 2 (Figura 6).

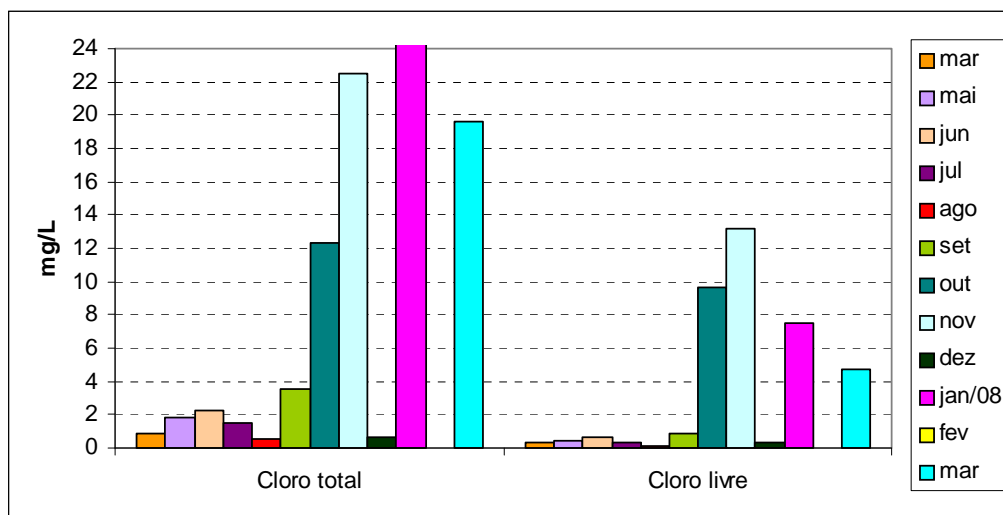


Figura 5: Resultados obtidos para cloro total e cloro livre no efluente.

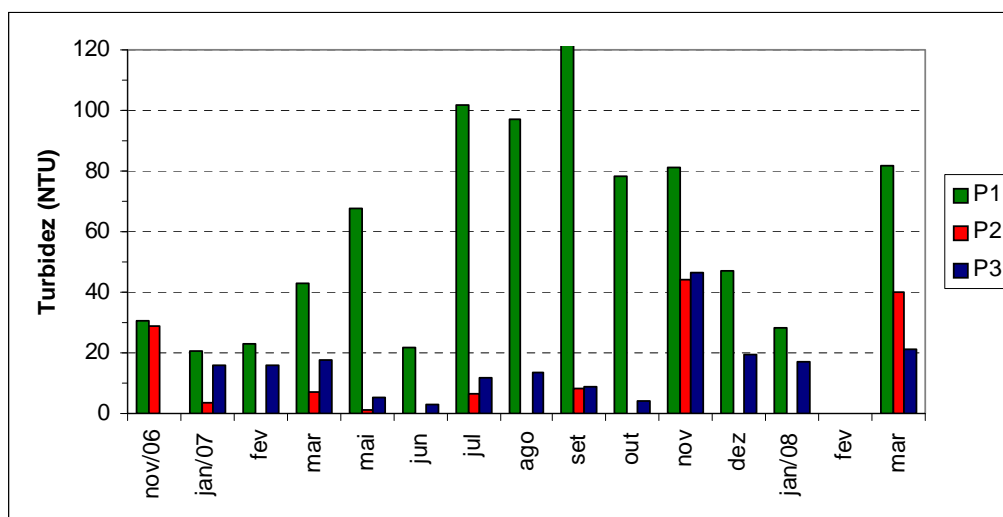


Figura 6: Resultados obtidos para turbidez do efluente.

CONCLUSÕES

Com base no trabalho realizado, concluiu-se que:

O reator anaeróbio compartimentado isoladamente não foi eficiente para remoção do microrganismo utilizado para avaliação

A *Salmonella spp.* não foi encontrada nas amostras fevereiro, março, junho, julho e novembro, demonstrando o aumento da eficiência do sistema quando associado a cloração com hipoclorito.

No início ocorreu uma certa dificuldade na execução da metodologia utilizada para detecção de *Salmonella spp.*, mas a técnica foi assimilada e bem desenvolvida. A reprodutibilidade da técnica se mostrou adequada e suficientemente confiável.

A adaptação da metodologia, utilizando técnicas de análises clínicas, alimentos, e lodos foi eficiente, para detecção em esgoto sanitário, entretanto, por demandar muito tempo para a sua execução está sendo submetida a uma avaliação complementar para ser otimizada.



Detectou-se a presença de *Salmonella spp* tanto no esgoto bruto como no esgoto tratado do sistema estudado, mas em 45 % das amostras submetidas a cloração o microrganismo estava ausente.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AMERICAN HEALTH ASSOCIATION, Microbiological examination. In: Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 20th ed. APHA, AWWA, WEF, Washington, 1998.
2. BIER, O. **Bacteriologia e imunologia**. 22^a ed. Ed. Melhoramentos. São Paulo. 1062p, 1982.
3. CAMPOS, L.C. *Salmonella*. In: TRABULSI, L.R.; ALTERTHUM, F.; GOMPERTZ, O.F.; CANDEIAS, J.A.N. **Microbiologia**. São Paulo. Ed. Atheneu. P.229-234.586p., 1999
4. JOHNSON-DELANEY, C. A. Reptile zoonoses and threats to public health. In: MADER, D. R. **Reptile medicine and Surgery**. Philadelphia: W.B. Saunders, 1996.
5. KRIEG, N.R.; HOLT, J.G. 1984. **Bergey's Manual for Systematic Bacteriology**. Williams & Wilkins. v.1. 964p.
6. QUINN, P.J.; CARTER, M.E.; MARKEY, D.R; CARTER, G.R. **Clinical Veterinary Microbiology**. Spain: Wolfe Publishing, 1994.
7. OPLUSTIL, C.P., ZOCCOLI, C.M., TOBOUTI, N.R., SINTO, S.I. Procedimentos básicos em microbiologia clínica. Ed. Sarvier, São Paulo, 2000.
8. SELLANDER, R.K.; LI, J.; NELSON, K. Evolutionary genetics of *Salmonella enterica*. In: NEIDHHARDT, F.C.; CURTIS III, R.; INGRAHAM, J.L.; LIN, E.C.C.; LOW, K.B.; MAGASANIK, B.; REZNIKOFF, W.S.; RILEY, M.; SCHAECHTER, M.; UMBARGER, H.E. **Escherichia coli and Salmonella – Cellular and Molecular Biology**. V.2, 2a. Ed, p.2691-2707. 2817p., 1996.
9. SILVA, N.; JUNQUEIRA V.C.A., SILVEIRA, N.F.A. Manual de métodos de análises microbiológicas de alimentos. 1^o edição, São Paulo, Varela, 315p, 2001.
10. SILVA, N.; CANTUSIO NETO, R., JUNQUEIRA V.C.A., SILVEIRA, N.F.A. Manual de métodos de análises microbiológica da água. 1^o edição, São Paulo, Varela, 166p, 2005.