

## II-241 – AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA EM LIXIVIADO DE ATERROS SANITÁRIOS – *Streptococos Fecais* COMO INDICADOR AMBIENTAL

**Marina Andrada Maria<sup>(1)</sup>**

Bióloga pela Universidade Federal de Minas Gerais. Mestre em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos pela Escola de Engenharia da UFMG. Especialista em Tecnologia Ambiental pela Escola de Engenharia da UFMG. Técnica em Meio Ambiente pelo Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais (CEFET-MG). Prestadora de serviços na Fundação Centro Tecnológico de Minas Gerais (CETEC).

**Cláudia Márcia Perroux Cerqueira**

Bióloga pelo Instituto Metodista Isabela Hendrix. Prestadora de serviços no CETEC.

**Thaís de Figueiredo Teixeira Simões**

Graduanda em Ciências Biológicas pela Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais. Estagiária no CETEC.

**Sávio Gonçalves Rosa**

Biólogo pela Universidade Federal de Minas Gerais. Pesquisador no CETEC.

**Liséte Celina Lange**

Química. Doutora em Tecnologia Ambiental pela Universidade de Londres – Inglaterra. Profª. Adjunta do Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG).

**Endereço<sup>(1)</sup>:** Rua São João Batista do Glória, 300 – Jardim Leblon - Belo Horizonte - MG - CEP: 31540-100 - Brasil - Tel: (31) 9272-1197 - e-mail: [marinandrada@yahoo.com.br](mailto:marinandrada@yahoo.com.br)

### RESUMO

Aterros sanitários recebem os mais diversos tipos de resíduo domiciliares e por isso geram um lixiviado rico em diferentes contaminantes químicos e biológicos que podem chegar ao ambiente contaminando animais, incluindo os seres humanos. Por isso esse trabalho visa quantificar a contaminação microbiológica para três grupos de organismos (coliformes totais, coliformes termotolerantes e estreptococos fecais) em lixiviado de dois aterros sanitários, com meia vida de operação. Visando além de quantificar, avaliar qual o melhor grupo para mensurar a contaminação fecal para esse efluente. Foram realizadas coletas mensais, compreendendo o período de janeiro de 2010 a outubro de 2010 para as análises de coliformes termotolerantes e estreptococos fecais e março de 2010 a outubro de 2010 para as de coliformes totais. Os resultados mostraram elevada contaminação microbiológica para o lixiviados dos dois aterros, para os três grupos de organismos avaliados. Porém os valores de estreptococos fecais foram significativamente maiores e mais homogêneos que o de coliformes termotolerantes, sugerindo este grupo como um melhor indicador de contaminação fecal para esse efluente, pois apresenta organismos mais resistentes ao calor, às condições alcalinas e altas concentrações de sais.

**PALAVRAS-CHAVE:** Aterro sanitário, Lixiviado, Indicador, Microbiologia.

### INTRODUÇÃO

Os aterros sanitários recebem resíduos sólidos domiciliares e urbanos, podendo conter uma variedade de materiais, muito deles similares aos resíduos de serviços de saúde, tais como fraldas, fezes, papel higiênico, absorventes, curativos, ataduras, frascos de soros, luvas, entre outros. Desta forma os resíduos podem conter uma diversidade de microrganismos patogênicos, inclusive da microbiota humana, e estes podem sobreviver dentro de um aterro, podendo ser carregados pelo lixiviado e contaminar os corpos d'águas, representando riscos biológicos para a saúde humana e para o ambiente (MACHADO, 2004).

Segundo Pelczar, Chan e Krieg (1997), cada parte do corpo humano, em condições ambientais especiais, tem uma própria mistura particular de microrganismos. Porém os microrganismos não estão presentes apenas no corpo humano, eles se encontram por toda parte, incluindo o solo o ar e a água, lembrando que elas podem passar com facilidade de um ambiente para o outro.

Os tipos de microrganismos encontrados em um ambiente aquático são de forma ampla, determinados pelas condições físicas e químicas que prevalecem naquele ambiente. Essas condições ambientais variam de um

extremo a outro em relação a fatores como temperatura, luminosidade, pH e nutrientes (PELCZAR, CHAN e KRIEG, 1997). A principal fonte biológica de poluição da água é constituída por produtos residuais de origem humana (material fecal e resíduo sólido) que possuem grandes quantidades de patógenos (BURTON e ENGELKIRK, 2005).

Os testes de pureza de água utilizados atualmente visam detectar organismos indicadores específicos. Os organismos indicadores servem como um sistema de “alarme”, pois sua presença na água indica possibilidade da presença de microrganismos patogênicos. O termo microrganismos indicadores refere-se a um tipo de microrganismo cuja presença na água é evidência de que ela está poluída com material fecal de origem humana ou de animais de sangue quente (PELCZAR, CHAN e KRIEG, 1997).

Existem vários critérios para um organismo indicador, sendo o mais importante, que o organismo esteja consistentemente presente em números substanciais nas fezes humanas, de forma que sua detecção seja uma boa indicação de que resíduos humanos estão sendo introduzidos. O organismo indicador também deve viver tão bem quanto os patógenos (TORTORA, FUNKE e CASE, 2005).

A determinação da contaminação e detecção de agentes patogênicos é feita com estudos de organismos indicadores de contaminação fecal. Estes organismos não são necessariamente patogênicos, mas indicam quando a água está contaminada com fezes humanas ou animais, bem como podem determinar o potencial de transmitir doenças. Os organismos mais utilizados para este fim são do grupo coliforme e os principais indicadores são: coliformes totais, coliformes termotolerantes e estreptococos fecais (SANTOS, 2003 apud EDUARDO, 2007).

Segundo Tortora, Funke e Case (2005), a *Escherichia coli* é um dos habitantes normais mais comuns do trato intestinal humano e outros animais de sangue quente e provavelmente o organismo mais conhecido da microbiologia, sendo indicador de contaminação fecal. Porém outras bactérias têm sido sugeridas e algumas vezes utilizadas, incluindo *Streptococcus faecalis* que são habitantes normais do intestino grosso do homem e de outros animais (PELCZAR, CHAN e KRIEG, 1997).

Segundo CETESB (1997), o grupo dos Estreptococos fecais apresenta organismos mais resistentes ao calor, às condições alcalinas e altas concentrações de sais. A presença desses organismos tem sido sugerida em vários estudos, pois possuem maior resistência que os coliformes, às condições do meio ambiente (NASCIMENTO e FURLANETTO, 1981). Essas características o tornam um bom indicador para o ambiente estudado.

Pelos motivos apresentados é importante avaliar o potencial de contaminação microbiológico em lixiviados de aterros sanitários, através da quantificação de coliformes totais, coliformes termotolerante e estreptococos fecais, buscando avaliar além do nível de contaminação a eficiência da utilização dos estreptococos como indicador de contaminação fecal para esse ambiente.

## MATERIAIS E MÉTODOS

A metodologia será apresentada separadamente para as etapas pré-analíticas, análises microbiológicas e análise estatística. As etapas serão descritas a seguir:

## LOCAIS DE REALIZAÇÃO DA PESQUISA

Escolheu-se dois aterros sanitários semelhantes, com tempo de operação aproximado e equivalente a meia vida de aterramento, de forma a eliminar condições extremas de início ou final de operação. Eles foram identificados por códigos, sendo A1 e A2 (TAB. 1).

**Tabela 1: Características dos aterros sanitários avaliados**

Aterros	Características
A1	Aterro sanitário, planejado, com 14 anos de operação. Não recebem inertes. Impermeabilizado com argila e coberto com terra. Recebe em média 148,3 t/dia.
A2	Aterro sanitário, planejado, com 13 anos de operação. Não recebem inertes. Impermeabilizado com argila na base e geomembrana nos taludes e coberto com terra. Recebe média 730 t/dia.

## COLETA E ARMAZENAMENTO

Foram realizadas coletas mensais, compreendendo o período de janeiro de 2010 a outubro de 2010. Porém as análises de coliformes termotolerantes e estreptococos fecais foram iniciadas em janeiro de 2010 e a de coliformes totais em março de 2010.

Em ambos a coleta foi realizada na caixa de passagem, de forma a amostrar o lixiviado bruto, antes do tratamento. As amostras foram coletadas diretamente nos frascos de amostra.

Momento antes de cada coleta foi feita a rotulagem dos frascos, com o nome do ponto de coleta, data, hora e condição do tempo, além da coleta dos metadados, tais como, medidas de vazão e temperatura do lixiviado.

Em cada ponto foi coletado um frasco para análise microbiológica, com capacidade de 200 mL, autoclavado, e com EDTA, que atua como agente quelante, reduzindo a ação tóxica dos metais.

As amostras eram mantidas sob refrigeração e trabalhadas em no máximo 24 horas.

## CARACTERIZAÇÃO MICROBIOLÓGICA

Foi feita a determinação do número mais provável (NMP) de Coliformes totais, Coliformes termotolerantes e *Streptococcus* fecais, através de análises por tubos múltiplos de presença e ausência, seguindo as normas técnicas L5.202 e L5.205 (CETESB, 1997), que seguem as recomendações do Standard Methods (APHA, 2005). Para essas análises utilizou-se séries de cinco tubos para cada concentração (amostra pura, 10-1, 10-2 e 10-3), onde foram inoculados 1 mL por tubo. As concentrações analisadas, segundo essa metodologia, permitem uma faixa de detecção de  $< 2$  à  $> 160.000$  NMP/100 mL. O resultado é obtido através da tabela da normalização técnica da CETESB.

## ANÁLISE ESTATÍSTICA

Por se tratarem de dados ambientais e com um número amostral relativamente pequeno ( $n=10$ ), optou-se pelas análises estatísticas com testes não paramétricos, de forma que além da análise descritiva e representação gráfica, utilizou-se para a comparação entre dois grupos de microorganismos o Teste U de Mann-Whitney e Kruskal-Wallis, por se tratar de diferença entre dois grupos independentes.

O tratamento estatístico foi executado com o auxílio do programa Statistica 7.0, utilizando o nível de significância  $\alpha \leq 0,05$ .

## RESULTADOS OBTIDOS

Primeiro serão apresentados os resultados individuais para cada aterro e posteriormente as comparações e correlações entre os grupos de organismos para os dois aterros.

## CARACTERIZAÇÃO DO LIXIVIADO DO ATERRO A1

Realizou-se análise descritiva dos dados gerados pelas análises do lixiviado do aterro A1, para os três grupos de microrganismos avaliados (TAB. 2), seguida de Box-Whisker apenas dos dois parâmetros indicadores de contaminação fecal, para facilitar a visualização da diferença entre eles (FIG. 1).

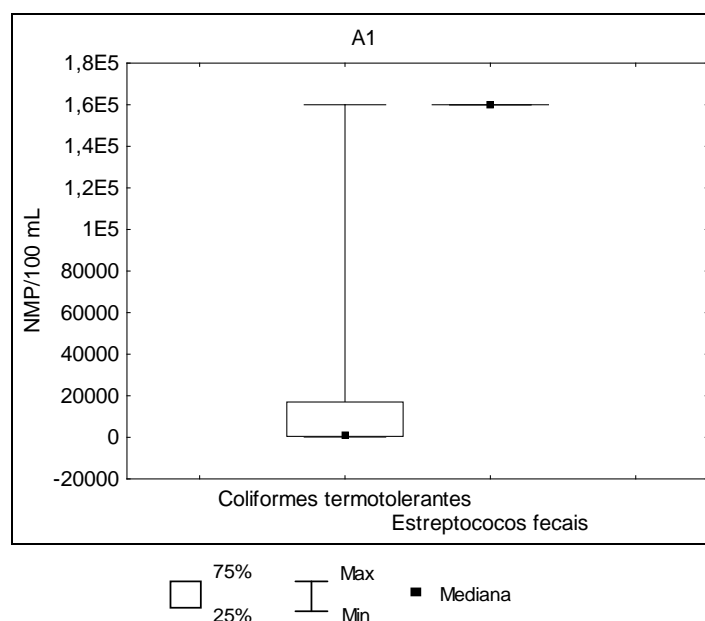
**Tabela 2: Análise descritiva dos resultados encontrados nas análises do lixiviado do aterro sanitário A1**

Parâmetros	Unidade	n	Média	Mínima	Máxima	DP	CV
Coliformes totais	NMP/100mL	8	$1,2 \times 10^5$	$1,4 \times 10^4$	$1,6 \times 10^5$	$6,2 \times 10^4$	0,53
Coliformes termotolerantes	NMP/100mL	10	$3,6 \times 10^4$	$1,7 \times 10^2$	$1,6 \times 10^5$	$6,6 \times 10^4$	1,84
Estreptococos fecais	NMP/100mL	10	$1,6 \times 10^5$	$1,6 \times 10^5$	$1,6 \times 10^5$	0,0	0,00

n= número amostral

DP= desvio padrão

CV= coeficiente de variação



**Figura 1: Box-Whisker dos resultados das análises microbiológicas do aterro A1.**

## CARACTERIZAÇÃO DO LIXIVIADO DO ATERRO A2

Também realizou-se análise descritiva dos dados gerados pelas análises do lixiviado do aterro A2, para os três grupos de microrganismos avaliados (TAB. 3), e Box-Whisker dos dois parâmetros indicadores de contaminação fecal, para facilitar a visualização da diferença entre eles (FIG. 2).

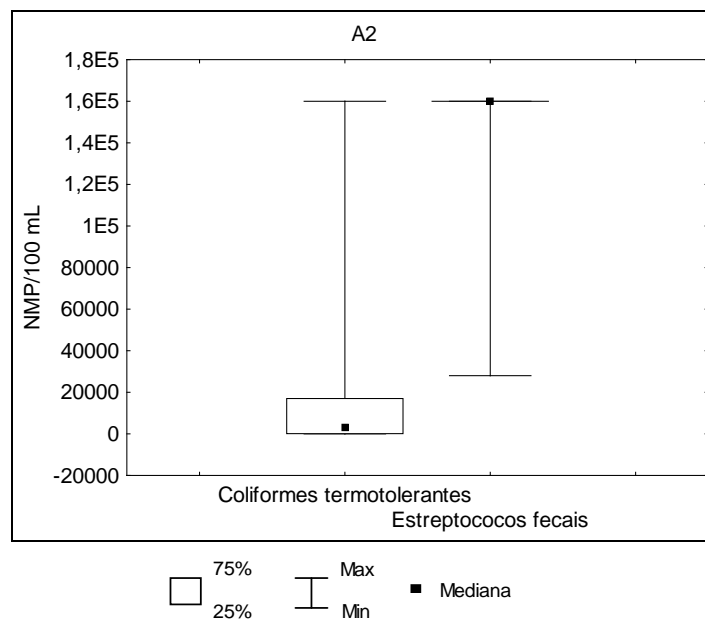
**Tabela 3: Análise descritiva dos resultados encontrados nas análises do lixiviado do aterro sanitário A2**

Parâmetros	Unidade	n	Média	Mínima	Máxima	DP	CV
Coliformes totais	NMP/100mL	8	$5,4 \times 10^4$	$2,2 \times 10^3$	$1,6 \times 10^5$	$6,8 \times 10^4$	1,27
Coliformes termotolerantes	NMP/100mL	10	$3,6 \times 10^4$	$0,2 \times 10^1$	$1,6 \times 10^5$	$6,6 \times 10^4$	1,83
Estreptococos fecais	NMP/100mL	10	$1,4 \times 10^5$	$2,8 \times 10^4$	$1,6 \times 10^5$	$4,5 \times 10^4$	0,32

n= número amostral

DP= desvio padrão

CV= coeficiente de variação



**Figura 2: Box-Whisker dos resultados das análises microbiológicas do aterro A2.**

### ANÁLISES DE COMPARAÇÃO ENTRE O LIXIVIADO DOS ATERROS A1 E A2

Foram feitas análises de comparação entre os resultados de coliformes termotolerantes e estreptococos fecais para os dois aterros, buscando identificar se houve diferenças significativas entre as variáveis monitoradas (TAB. 6).

**Tabela 4: Resultados dos testes de comparação entre os dois grupos de organismos, para o lixiviado dos dois aterros estudados**

Variáveis	Kruskal-Wallis	Teste U de Mann-Whitney
A1	EF significativamente maior que CT	0,001
A2	EF significativamente maior que CT	0,002

EF = Estreptococos fecais      CT = Coliformes termotolerantes

Nível de significância  $\alpha \leq 0,05$

### DISCUSSÃO

O lixiviado dos aterros avaliados apresentou elevada contaminação para os três grupos de microrganismos testados, tendo os três atingido o limite máximo de detecção em pelo menos uma das campanhas de monitoramento.

Tanto o coeficiente de variação, quanto os gráficos Box-Whisker demonstraram uma variação elevada para os valores de coliformes termotolerantes, contra uma homogeneidade para os valores de estreptococos fecais. Isso provavelmente pelo fato do grupo dos estreptococos fecais apresentarem organismos mais resistentes ao calor, às condições alcalinas e altas concentrações de sais, o que os propicia uma maior resistência que os coliformes, às condições do lixiviado, sendo uma avaliação mais real da contaminação fecal desse resíduo. Assim os coliformes termotolerantes apesar de estarem em altas concentrações acabavam sendo reduzidos pela dificuldade de crescimento nesse meio, enquanto que os estreptococos sofreram menor redução devido a sua maior resistência, deixando evidente a vulnerabilidade de alguns indicadores à alguns ambientes.

Os valores de Estreptococos superaram até mesmo os de coliformes totais, mesmo esse não sendo um indicador específico de contaminação fecal, que apresentaram um valor elevado de coeficiente de variação e uma faixa elevada entre quartis, o que também indica heterogeneidade dos valores encontrados.

As análises de comparação mostraram para os dois aterros que os valores de *Estreptococos* fecais são significativamente maiores que os de *Coliformes* fecais. Esse resultado pode sugerir a utilização desse grupo, de forma mais eficiente, para a indicação de contaminação fecal, para esse tipo de ambiente.

## **CONCLUSÃO**

Os valores de *estreptococos* fecais foram mais elevados e homogêneos, enquanto que os *coliformes* termotolerantes foram menores e mais variantes, superando até mesmo os de *coliformes* totais, que apesar de terem atingido o limite máximo de detecção em algumas campanhas, apresentou uma elevada variação entre elas, podendo ter sido ocasionada pela queda de organismos sensíveis às condições do meio em estudo.

Através das análises estatísticas, foi possível sugerir a utilização dos *Estreptococos* fecais de forma mais eficiente, para a indicação de contaminação fecal, para esse tipo de ambiente, por serem mais resistentes ao calor, às condições alcalinas e altas concentrações de sais, propiciando maior resistência que os *coliformes*.

Esse resultado mostra a necessidade de que em trabalhos de avaliação microbiológica busquem conhecer melhor as características do ambiente amostral para permitir a escolha de um organismo indicador mais eficiente, lembrando que os organismos contaminantes são os mais diversos e que os utilizados como indicador, possuem condições ideais para sobrevivência e por isso nem sempre são capazes de espelhar um espectro ideal da contaminação.

## **RECOMENDAÇÕES**

Que sejam feitos mais estudos relacionando os organismos indicadores às melhores condições ambientais para sua utilização e que esses resultados passem a ser mais aplicados.

A elaboração de trabalhos que façam nas suas análises microbiológicas uma maior diluição, de forma a possuir uma faixa de detecção maior e permitir uma ideia melhor sobre os valores máximos de contaminação, uma vez que no presente trabalho os valores máximos são o próprio limite de detecção.

Também se faz necessário a elaboração de trabalhos com um maior número amostral para tornar mais robusta as análises estatísticas.

Por fim fica a preocupação de que seja feito o tratamento adequado desse efluente para eliminar essa contaminação antes de seu lançamento, evitando prejuízos ao ambiente e à saúde humana.

## **AGRADECIMENTOS**

Os autores agradecem ao Programa de Pós-graduação em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos da UFMG, à Fundação Centro Tecnológico de Minas Gerais e a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais, por terem apoiado e viabilizado essa pesquisa.

## **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

1. APHA. AWWA. WEF. Standard methods for the examination of water and wastewater. 21.ed. Washington, 2005.
2. BURTON, Gwendolyn R.W; ENGELKIRK, Paul G. Microbiologia: para as ciências da saúde. Traduzido por Eiler Fritsch Toros. Rio de Janeiro: 7 ed. Guanabara Koogan, 2005.
3. CETESB – Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. Normalização técnica L5.202: Determinação do número mais provável de *Coliformes* totais e fecais pela técnica dos tubos múltiplos. São Paulo, 1997.
4. CETESB – Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. Normalização técnica L5.205: Determinação do número mais provável de *Estreptococos* fecais pela técnica dos tubos múltiplos. São Paulo, 1997.
5. EDUARDO, Janaina. Avaliação das características microbiológicas e físico-químicas do lixiviado (chorume) no processo de tratamento do Aterro Metropolitano de Gramacho (RJ-Brasil). Dissertação de mestrado – Universidade do Estado do Rio de Janeiro/UERJ. 2007.

6. MACHADO, Célia de Fátima. Avaliação da presença de microrganismos indicadores de contaminação e patogênicos em líquidos lixiviados do aterro sanitário de Belo Horizonte. Dissertação de mestrado, UFMG; 2004.
7. NASCIMENTO, Dirceu do; FURLANETTO, Sirdeia M. P. Determinação quantitativa de grupos de bactérias em sucos de laranja ao natural. Revista Saúde Pública v.15 nº.2 São Paulo, 1981.
8. PELCZAR, Michael Joseph; NOEL, R. Krieg. Microbiologia; conceitos e aplicações, volume 2, 2. ed. Tradução Sueli Fumie Yamada, Tania Ueda Nakamura, Tereza Cristina R. M. Oliveira, Benedito Prado Dias Filho, Lourdes Botelho Garcia; revisão técnica Celso Vataru Nakamura. São Paulo: Education do Brasil, 1997.
9. TORTORA, Gerard J.; FUNKE, Berdell R.; CASE, Christine L. Microbiologia. Traduzido por Roberta Marchiori Martins. 8. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005 (reimpressão 2008).