UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
ESCOLA DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIA DE PROCESSOS QUÍMICOS E BIOQUÍMICOS

BIANCA RAMALHO QUINTAES

ESTUDO BACTERIOLÓGICO EM ATERRO EXPERIMENTAL: AVALIAÇÃO DA CODISPOSIÇÃO DE RESÍDUOS SÓLIDOS DOMICILIARES E DE RESÍDUOS SÓLIDOS DE SERVIÇO DE SAÚDE

RIO DE JANEIRO
2013

Bianca Ramalho Quintaes

ESTUDO BACTERIOLÓGICO EM ATERRO EXPERIMENTAL: AVALIAÇÃO DA CODISPOSIÇÃO DE RESÍDUOS SÓLIDOS DOMICILIARES E DE RESÍDUOS SÓLIDOS DE SERVIÇO DE SAÚDE

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos, Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Doutora em Processos Químicos e Bioquímicos.

Orientadores: Juacyara Carbonelli Campos
Marco Antônio Lemos Miguel

RIO DE JANEIRO
2013

Quintaes, Bianca Ramalho

Estudo bacteriológico em aterro experimental: avaliação da codisposição de resíduos sólidos domiciliares e de resíduos sólidos de serviço de saúde / Bianca Ramalho Quintaes. – 2013.

216 f.: il.

Orientadores: Juacyara Carbonelli Campos e Marco Antônio Lemos Miguel

Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola de Química, Programa de Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos. EQ/UFRJ, Rio de Janeiro, 2013.

1. Resíduos sólidos. 2. Codisposição. 3. Lixiviado de aterro. 4. Caracterização microbiológica. 5. DGGE-PCR. I. Quintaes, Bianca Ramalho. II. Universidade Federal do Rio de Janeiro. III. Estudo bacteriológico em aterro experimental: avaliação da codisposição de resíduos sólidos domiciliares e de resíduos sólidos de serviço de saúde.

ESTUDO BACTERIOLÓGICO EM ATERRO EXPERIMENTAL: AVALIAÇÃO DA CODISPOSIÇÃO DE RESÍDUOS SÓLIDOS DOMICILIARES E DE RESÍDUOS SÓLIDOS DE SERVIÇO DE SAÚDE

Bianca Ramalho Quintaes

TESE SUBMETIDA AO CORPO DOCENTE DA ESCOLA DE QUÍMICA DO PROGRAMA DE TECNOLOGIA DE PROCESSOS QUÍMICOS E BIOQUÍMICOS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO COMO PARTE DOS REQUISITOS NECESSÁRIOS PARA A OBTENÇÃO DO GRAU DE DOUTOR EM CIÊNCIAS.

Examinada por:

_____
Profa. Juacyara Carbonelli Campos, D.Sc.
EQ/UFRJ (Orientadora)

_____
Prof. Marco Antônio Lemos Miguel, D.Sc.
IMPG/UFRJ (Orientador)

_____
Profa. Luciana Paulo Gomes, D.Sc.
UNISINOS

_____
Prof. João Alberto Ferreira, D.Sc.
DESMA/UERJ

_____
Prof. Sérgio Eduardo Longo Fracallanza, D.Sc.
IMPG/UFRJ

_____
Profa. Selma Gomes Ferreira Leite, D.Sc.
EQ/ UFRJ

_____
Profa. Fabiana Valeria da Fonseca Araujo, D.Sc.
EQ/UFRJ

Rio de Janeiro

Dezembro de 2013

DEDICATÓRIA

Ao meu marido Átila, que reveste minha existência de amor, dedicação, carinho e compreensão. Você é o exemplo de luta, honestidade e companheirismo que qualquer pessoa deveria buscar na outra, e eu encontrei em você. A você que me deu asas para a realização deste sonho, que cuidou da nossa família tão intensamente, só posso dizer: obrigada por me fazer tão feliz.

Aos meus filhos, meus amores, que essas horas do nosso convívio roubadas pelo meu plano de estudar sejam inspiração para que vocês sempre desafiem o que parece ser impossível de se alcançar. Erick, você é o menino mais cheio de garra e força deste mundo, minha inspiração. Sophia é a menina mais decidida e graciosa que já se viu, minha melhor amiga. Obrigada por serem meus filhos!

Ao meu pai, Walter, que nunca precisou me dizer o quanto sentia orgulho porque no fundo eu sempre soube. Suas últimas palavras para mim foram: E as crianças? E o doutorado? Obrigada, Pai, pela dedicação eterna a nossa família.

À minha mãe, Marilene, que faz de cada simples encontro uma data especial. Obrigada, Mãe, por trazer paz e alegria a nossa família e pelos bilhetinhos de “boa sorte nos estudos” que você sempre deixava para mim.

Agradecimentos

A Deus, pelo dom especial da vida e pela possibilidade de empreender esse caminho evolutivo. Obrigada, Senhor!

"A gratidão é a lembrança do coração". Ao longo deste trabalho sempre recebi ajuda de muitas mãos amigas, sem as quais nossos objetivos não teriam sido alcançados. Quero expressar meus agradecimentos a cada uma destas pessoas especiais:

À Profa. Juacyara Carbonelli Campos, pelo apoio, pela partilha do saber e pelas valiosas contribuições para o trabalho. Obrigada pela sua presença amiga e bom humor constante. Acima de tudo, obrigada por me acompanhar nesta jornada e por estimular o meu interesse pelo conhecimento, com a oportunidade de retorno ao meio acadêmico. Você deu sentido à minha vida profissional.

Ao Prof. Marco Antônio Lemos Miguel, por quem tenho profunda admiração profissional, por me mostrar as possibilidades de expansão, de transformação e os diversos caminhos e singularidades deste trabalho. Agradeço pelo privilégio da sua orientação, pelas oportunidades de aprendizagem ao longo destes anos de convívio.

Ao Antônio Fernando Novaes de Magalhães, Gerente do Centro de Pesquisas Aplicadas da COMLURB, obrigada por todo o apoio que recebi para concretizar este projeto. Não teria conseguido sem isso. Obrigada pelos valiosos estímulos ao estudo e por entender minha dedicação ao doutorado que me tirou as horas que deveria ter doado ao cargo a mim confiado.

À Diretoria Técnica e Logística da COMLURB pelo apoio e incentivo recebido no decorrer deste projeto.

Ao Jonas Escóssia que participou decisivamente de cada etapa da construção das células. Se pensarmos bem, essa foi a etapa em que nada poderia dar errado porque não teríamos como refazer, mas você foi preciso e detalhista e, por isso, tudo deu certo.

Ao Lúcio Viana, por transmitir para nós, sempre com muita paciência e companheirismo, os seus vastos conhecimentos sobre construção de aterros.

Aos garis da Gerência de Pesquisas Aplicadas da COMLURB que participaram da montagem das células. Vocês foram “bravos guerreiros”!

Aos amigos da Gerência de Pesquisas Aplicadas que compartilharam comigo os bons e os maus momentos durante a realização deste estudo: Beta, pelo apoio de todos os dias e pelo carinho de coração aberto e firme; Adhemar, pelo incentivo e convívio alegre e motivador; Marco André, por segurar as pontas do laboratório na minha ausência e por me ouvir tão pacientemente em qualquer momento; ao Andrezão, pelo apoio incondicional e ouvido amigo; ao Jonas, pelas orações e palavras de fé; ao Álvaro, pelo exemplo de seriedade e pela ajuda com os dados de pluviometria; ao Sérgio, obrigada pelas palavras de confiança e equilíbrio, principalmente, na fase final do trabalho.

Ao pessoal do Laboratório de Microbiologia da COMLURB: Cizinho, muito obrigada por estar sempre ao meu lado e cuidar fraternalmente de mim; André e Ruy, obrigada pelo apoio constante e valiosas contribuições na construção das células e nas coletas das amostras.

Aos Professores Raquel Peixoto e Alexandre Soares Rosado, pela parceria, confiança e por viabilizar o desenvolvimento das análises moleculares. Muito mais do que isso, obrigada pelo apoio a esse projeto, abrindo uma nova perspectiva ao estudo dos resíduos sólidos no Brasil.

A Analy, pelo seu carinho e dedicação às minhas análises, mesmo tendo milhões de outros afazeres. Obrigada por compartilhar comigo de forma tão generosa e intensa os seus conhecimentos na técnica de DGGE. Nem poderia me esquecer de agradecer por me acalmar nos momentos de desespero, quando tudo o que queremos é que a alfândega libere nossos DNAs para passearem na Coreia.

À equipe do laboratório de Microbiologia de Alimentos: Antônio, obrigada por me acolher tão docemente neste laboratório; à Maria Leoniza, Carolina, Aline, Juliana e Fernanda, obrigada pelas palavras de apoio e incentivo.

À equipe do Laboratório de Ecologia Microbiana Molecular: Caio, Débora, Danielle, Edir e Flávia por terem me acolhido tão confortavelmente durante as análises das minhas amostras.

A Alessandra, agradecer pela notável ajuda em todas as fases desta tese é pouco. Você foi a pessoa amiga e preciosa que Deus colocou no meu caminho. Você faz parte da minha vida porque simplesmente dividimos todos os momentos. Sempre sentirei falta do nosso convívio diário, das nossas piadas e gargalhadas sem fim, das conversas partilhadas atentamente, enfim, da sua presença por inteiro.

Ao Ubiratan, pela sua amizade e espiritualidade, presente em cada palavra de incentivo que você dirigiu a mim. Obrigada, amigo!

Ao meu irmão Giovani e a minha "cunhadinha" Vivi, pela amizade que sempre nos uniu e pelo convívio feliz e de cumplicidade já me bastariam por uma vida inteira. Mas especialmente neste trabalho, vocês demonstraram um imenso amor por mim. Não tenho palavras para agradecer o tempo que vocês dedicaram às laboriosas análises estatísticas e pelas incansáveis explicações sobre o assunto e disponibilidade exclusiva a qualquer hora do dia e da noite. Não sabia que números tinham emoção!

Ao meu irmão Jeison, pela sua amizade e companheirismo e pelo abraço macio e aconchegante. Obrigada por cuidar dos seus sobrinhos enquanto eu estudava.

Disponham todos da minha amizade sincera. Meus eternos agradecimentos.

"Porque somente a coragem no caminho faz com que o caminho se manifeste".

RESUMO

QUINTAES, Bianca Ramalho Quintaes. Estudo bacteriológico em aterro experimental: avaliação da codisposição de resíduos sólidos domiciliares e de resíduos sólidos de serviço de saúde. Rio de Janeiro, 2013. Tese (Doutorado em Processos Químicos e Bioquímicos) - Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2013.

Dentre os diferentes tipos de resíduos gerados pelo homem, os produzidos nos serviços de atendimento à saúde têm merecido maior atenção nos últimos anos, principalmente, pelas discussões geradas pelo seu tratamento e disposição final. O objetivo deste trabalho foi estudar os efeitos da codisposição de resíduos sólidos domiciliares e de resíduos sólidos de serviço de saúde na microbiota do lixiviado gerado em células de aterro experimental. Para isso, foram construídas três unidades de confinamento de resíduos diferenciadas pelo percentual de resíduos sólidos domiciliares (RSD) e resíduos sólidos de serviços de saúde (RSS): Célula RSD (100% de resíduos sólidos domiciliares); Célula RSS (100% de resíduos sólidos de serviço de saúde) e Célula COD (célula que simula codisposição contendo 98% de resíduos sólidos domiciliares e 2% de resíduos sólidos de serviço de saúde). Além das verificações diárias de volume de lixiviado gerado, temperatura e pH, as modificações da microbiota dos lixiviados das células foram acompanhadas ao longo de 810 dias de confinamento através de métodos dependentes de cultivo (análises quantitativas de indicadores de contaminação ambiental e pesquisa de enterobactérias e de *Staphylococcus aureus*) e de métodos independentes de cultivo (eletroforese em gel com gradiente de desnaturação – DGGE-PCR). Foi avaliado o padrão de susceptibilidade aos antimicrobianos e a atividade inibitória dos lixiviados gerados nas células. A caracterização microbiológica dos lixiviados das células mostrou que não há diferenças estatisticamente significativas quanto aos valores de coliformes totais, *Escherichia coli*, enterococos e *Pseudomonas aeruginosa* entre as células durante o período avaliado. As seguintes enterobactérias de importância médica foram identificadas predominantemente nos lixiviados das três células: *E. coli*, *Klebsiella pneumoniaea, Enterobacter* sp e *Proteus mirabilis.* Após 810 dias de confinamento, os lixiviados não apresentaram atividade antimicrobiana contra *S. aureus*, *P. aeruginosa* e *Salmonella enterica* sorovar Choleraesuis. A análise estatística dos padrões de resistência aos antimicrobianos revelou semelhanças significativas entre as três células. Em contrapartida, os resultados gerados pela análise dos agrupamentos dos perfis de DGGE demonstram que houve baixa similaridade entre as comunidades microbianas presentes nos lixiviados das células, sugerindo que as microbiotas destas amostras são diferentes e que modificaram ao longo do tempo de confinamento dos resíduos. Nas condições estudadas, os resultados obtidos sugerem que não houve diferenças significativas no comportamento das células dando suporte à prática da codisposição de RSS e RSD.

Palavras-chave: Resíduos Sólidos Domiciliares. Resíduos Sólidos de Serviço de Saúde. Codisposição. Lixiviado de Aterro. Caracterização Bacteriológica. DGGE-PCR.

ABSTRACT

QUINTAES, Bianca Ramalho Quintaes. Estudo bacteriológico em aterro experimental: avaliação da codisposição de resíduos sólidos domiciliares e de resíduos sólidos de serviço de saúde. Rio de Janeiro, 2013. Tese (Doutorado em Processos Químicos e Bioquímicos) - Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2013.

Among the different types of wastes generated by man, those produced in healthcare unites have received increased attention in recent years, mainly because of the discussions generated by their treatment and final disposal. The objective of this work was to study the effects of co-disposal of household solid waste and healthcare solid waste in the microbiota of the leachate generated from landfill experimental cells. For this, three units were built to confine waste, differentiated from each other by the percentage of household solid waste and healthcare solid waste: RSD Cell (100% of household solid waste); RSS Cell (100% of healthcare solid waste) and COD Cell (that simulates co-disposal comprising 98% of household solid waste and 2% of healthcare solid waste). Besides daily verifications of leachate volume, temperature and pH, changes in the microbiota leachates were monitored over 810 days of confinement through methods depending on cultivation (quantitative analysis of environmental contamination indicators microorganisms and trials for *Enterobacteriaceae* and *Staphylococcus aureus*) and cultivation independent methods, based on DNA (denaturin gradient gel electrophoresis - DGGE). The present work also verified the antimicrobial activity of the leachates and the presence of antimicrobial resistant microorganisms in them. Comparing the cells, the microbiological characterization of leachate showed no statistically significant differences for the values of total coliforms, *Escherichia coli*, enterococci and *P. aeruginosa* during the study period. The following enterobacteria of medical interest have been identified predominantly in the leachate of the three cells: *E. coli*, *Klebsiella pneumoniaea*, *Enterobacter* sp, and *Proteus mirabilis*. After 810 days of confinement, leachate showed no antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Salmonella enterica* serovar Choleraesuis. Statistical analysis of antibiotic resistance patterns revealed significant similarities among the three cells. In contrast, the results generated by analysis of the clusters from the DGGE fingerprinting showed that there was a low similarity between the bacterial communities present in the leachate cells, suggesting that these samples belonged to different microbiotas and that they have changed over time of waste confinement. Under the conditions studied, the results suggest that there were no significant differences in the behavior of cells, supporting the practice of co-disposal of household solid waste and healthcare solid waste.

Key words: Household Solid Waste. Healthcare Solid Waste. Co-disposal. Leachate. Bacteriological Characterization. DGGE-PCR.

Sumário

1. INTRODUÇÃO. 16
2. OBJETIVOS. 19
2.1 Objetivo Geral. 19
2.2 Objetivos Específicos. 19
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA. 20
3.1 PANORAMA DOS RESÍDUOS SÓLIDOS. 20
3.2 GERENCIAMENTO DOS RESÍDUOS SÓLIDOS DOMICILIARES (RSD). 22
3.3 GERENCIAMENTO DOS RESÍDUOS SÓLIDOS DE SERVIÇO DE SAÚDE (RSS). 25
3.3.1 Definições e classificações. 25
3.3.2 Manejo dos RSS no Brasil. 29
3.3.3 Métodos de tratamento dos RSS. 29
3.4 RISCOS AMBIENTAIS E À SAÚDE PÚBLICA. 32
3.5 ATERRO SANITÁRIO COMO MÉTODO DE DESTINAÇÃO FINAL DE RESÍDUOS SÓLIDOS 34
3.6 ASPECTOS MICROBIOLÓGICOS DA DEGRADAÇÃO DOS RESÍDUOS SÓLIDOS NOS ATERROS. 36
3.6.1 Microbiota do lixiviado de aterro. 39
3.7 MICRORGANISMOS PATOGÊNICOS EM RESÍDUOS. 41
3.7.1 Resistência aos antimicrobianos. 43
3.7.2 Mecanismos de ação dos antimicrobianos sobre as bactérias. 43
3.7.3 Mecanismos de resistência das bactérias aos antimicrobianos. 44
3.7.4 Métodos de detecção da resistência aos antimicrobianos. 46
3.7.5 Principais microrganismos de importância hospitalar. 47
3.7.5.1 Enterobactérias produtoras de beta-lactamases de espectro estendido (ESBLs). 48
3.7.5.2 *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA). 48
3.7.5.3 *Pseudomonas aeruginosa.* 49
3.7.5.4 Enterococos resistentes à Vancomicina (VRE). 49
3.7.5.5 *Acinetobacter baumannii.* 49
3.8 PRINCIPAIS MICRORGANISMOS INDICADORES DE CONTAMINAÇÃO AMBIENTAL. 50
3.8.1 O grupo dos coliformes. 50
3.8.2 *Escherichia coli.* 50
3.8.3 *Salmonella spp.* 51

3.8.4 O grupo dos enterococos. 51
3.8.5 *Pseudomonas aeruginosa.* 51
3.9 DIVERSIDADE MICROBIANA. 52
3.10 FERRAMENTAS MOLECULARES EM ESTUDOS DE COMUNIDADES MICROBIANAS EM RESÍDUOS. 52
3.10.1 Eletroforese em gel com gradiente desnaturante – DGGE. 53
3.10.2 O gene que codifica o 16S RNAr e sua utilização na identificação de espécies bacterianas. 54
3.10.3 Sequenciamento de fragmentos de DNAr 16S. 55
4 MATERIAL E MÉTODOS. 56
4.1 IMPLANTAÇÃO DAS CÉLULAS EXPERIMENTAIS. 56
4.2 DISPOSIÇÃO DOS RESÍDUOS NAS CÉLULAS. 64
4.2.1 Conteúdo das Células. 64
4.2.2 Obtenção das amostras de RSD. 64
4.2.3 Obtenção das amostras de RSS 66
4.2.4 Composição física dos RSD e de RSS. 67
4.2.5 Caracterização dos materiais potencialmente infectantes ou químicos presentes nos RSD. 70
4.2.6 Compactação e cobertura final. 70
4.3 DETERMINAÇÃO DO VOLUME DE LIXIVIADO GERADO NAS CÉLULAS. 72
4.3.1 Análise estatística dos dados. Cálculo de coeficiente de correlação de Pearson. 73
4.4 COLETA DAS AMOSTRAS PARA ANÁLISES. 74
4.4.1 Amostras de lixiviado do caminhão de coleta de RSD e de RSS. 74
4.4.2 Amostras de lixiviado das células 74
4.5 CARACTERIZAÇÃO DA MICROBIOTA DO LIXIVIADO - MÉTODOS DEPENDENTES DE CULTIVO. 75
4.5.1 Determinação de coliformes totais e *Escherichia coli.* 75
4.5.2 Determinação de enterococos 76
4.5.3 Determinação de *Pseudomonas aeruginosa* 76
4.5.4 Determinação de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas totais 77
4.5.5 Pesquisa de enterobactérias 77
4.5.6 Pesquisa de *Staphylococcus aureus* 78
4.5.7 Análise estatística dos dados 79
4.5.7.1 Teste de análise da variância de Kruskall-Wallis 79

4.5.7.2 Teste de comparações múltiplas 80
4.6 CARACTERIZAÇÃO DA MICROBIOTA DO LIXIVIADO - MÉTODOS INDEPENDENTES DE CULTIVO 80
4.6.1 Eletroforese em gel com gradiente de desnaturação (DGGE) 80
4.6.1.1 Coleta das amostras 81
4.6.1.2 Extração do Ácido Nucléico 81
4.6.1.3 Amplificação pela PCR 82
4.6.1.4 Separação dos amplificados da PCR pela DGGE 82
4.6.2 Sequenciamento 83
4.6.3 Análise estatística de dados. 83
4.7 PESQUISA DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA NOS LIXIVIADOS 84
4.7.1 SUSCEPTIBILIDADE DAS ESTIRPES ISOLADAS AOS ANTIMICROBIANOS 84
4.7.1.1 Pesquisa de enterobactérias produtoras de ESBL (enzimas beta-lactamases de espectro estendido) 85
4.7.1.2 Pesquisa de enterobactérias produtoras de carbapenemases 86
4.7.1.3 Detecção de enterobactérias produtoras de AmpC 87
4.7.1.4 Análise estatística dos dados 88
4.7.1.4.1 Teste de probabilidade exata de Fisher 88
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO 89
5.1 IMPLANTAÇÃO DAS CÉLULAS 89
5.1.1 Sistema de impermeabilização de base 89
5.1.2 Sistema de drenagem de lixiviado 90
5.1.2.1 Volume de lixiviado 90
5.1.3 Sistema de drenagem de gases 92
5.2 DISPOSIÇÃO DOS RESÍDUOS NAS CÉLULAS. 93
5.2.1 Conteúdo das células 93
5.2.2 Composição física dos RSD e dos RSS destinados às células 93
5.2.3 Caracterização dos materiais potencialmente infecciosos nos Resíduos Sólidos Domiciliares do município do Rio de Janeiro 99
5.3 CARACTERIZAÇÃO DA MICROBIOTA DO LIXIVIADO – MÉTODOS DEPENDENTES DE CULTIVO 101
5.3.1 Lixiviado dos RSD e dos RSS antes de serem depositados na célula 101
5.3.1.1 Análise Quantitativa 101
5.3.1.2 Pesquisa de enterobactérias 103

5.3.2 Lixiviados gerados nas células 103
5.3.2.1 Medidas de temperatura e pH 103
5.3.2.2 Colimetria 104
5.3.2.3 Determinação de enterococos 108
5.3.2.4 Pesquisa de *Pseudomonas aeruginosa* 109
5.3.2.5 Comparação entre os dados quantitativos de populações antes e depois do confinamento nas células 111
5.3.2.6 Contagem de bactérias heterotróficas 113
5.3.2.7 Pesquisa de enterobactérias no lixiviado das células 114
5.3.2.8 Pesquisa de *Staphylococcus aureus* 116
5.3.3 Análise estatística dos dados das populações bacterianas 116
5.3.3.1 Análise da variância do fator de Kruskal-Wallis por postos, considerando dados de populações bacterianas por célula 116
5.3.3.2 Análise da variância de um fator de Kruskal-Wallis por postos, considerando dados temporais por célula 118
5.4 CARACTERIZAÇÃO DA MICROBIOTA DO LIXIVIADO – MÉTODOS INDEPENDENTES DE CULTIVO 120
5.4.1 Eletroforese em gel com gradiente de desnaturação (DGGE) 120
5.4.2 Sequenciamento do DNA 125
5.5 CARACTERIZAÇÃO DO LIXIVIADO DAS CÉLULAS 127
5.5.1 Atividade inibitória do lixiviado 127
5.5.2 Susceptibilidade aos antimicrobianos 127
5.5.2.1 Detecção de enterobactérias produtoras de ESBL 131
5.5.2.2 Detecção de enterobactérias produtoras de carbapenemases 132
5.5.2.3 Detecção de enterobactérias produtoras de AmpC (*ESBLS*), Classe C de AMBLER 133
5.5.3 Analise dos dados do perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos 134
5.5.3.1 Teste de probabilidade exata de Fisher, comparando-se os perfis de resistência de cada estirpe com as células. 134
5.5.3.2 Teste de probabilidade exata de Fisher, comparando-se os perfis de resistência de cada célula com o tempo 136
5.6 RESUMO DOS RESULTADOS 136
6 CONCLUSÕES 139
7 RECOMENDAÇÕES PARA TRABALHOS FUTUROS 140
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 141

APÊNDICE _____ 159
ANEXO _____ 204

Lista de Figuras

Figura 1. Resíduos Sólidos Urbanos coletados no município do Rio de Janeiro nos anos de 2005 a 2012. Fonte: Companhia Municipal de Limpeza Urbana – COMLURB (2013). ___ 21
Figura 2. Resíduos Sólidos Domiciliares coletados no município do Rio de Janeiro nos anos de 2005 a 2012. Fonte: Companhia Municipal de Limpeza Urbana – COMLURB (2013). _ 21
Figura 3. Principais formas de processamento dos RSS nos municípios brasileiros. Fonte: IBGE (2010). _____ 31
Figura 4. Principais formas de disposição dos RSS no solo nos municípios brasileiros. Fonte: IBGE (2010). _____ 31
Figura 5. Esterilização em autoclave dos RSS no município do Rio de Janeiro. Cada autoclave opera com a capacidade máxima de 4.800 litros de resíduos. Fonte: COMLURB._____ 32
Figura 6 – Estrutura de um aterro sanitário de RSU. Fonte: Adaptado de SANTOS (2010). 36
Figura 7. Mecanismos de ação doas principais agentes antimicrobianos sobre a célula bacteriana._____ 44
Figura 8. Mecanismos de resistência das bactérias sobre os antimicrobianos _____ 46
Figura 9. Usina de Reciclagem e Compostagem de Jacarepaguá da Companhia Municipal de Limpeza Urbana. A elipse amarela indica a área destinada à construção das células experimentais. Fonte: Companhia Municipal de Limpeza Urbana - COMLURB_____ 56
Figura 10. Modelo de aterro experimental. Fonte: Sérgio de Oliveira Cordeiro _____ 57
Figura 11. Disposição de resíduos de construção civil. Fonte: elaboração própria._____ 58
Figura 12. Formação do talude e das bermas. Fonte: elaboração própria. _____ 58
Figura 13. Face interna das células. Fonte: elaboração própria. _____ 59
Figura 14. Acomodação dos resíduos de construção civil sob a forma de pirâmides. Fonte: elaboração própria. _____ 59
Figura 15. Vista panorâmica das células. Preparação para recebimento da manta. Fonte: elaboração própria. _____ 60
Figura 16. Colocação da manta de PEAD sobre as células. Fonte: elaboração própria. ____ 60
Figura 17. Cobertura de argila sobre a manta PEAD. Fonte: elaboração própria. _____ 61
Figura 18. Valeta para drenagem com tubo “canaflex” revestida por manta geotêxtil. Fonte: elaboração própria. _____ 62
Figura 19. Torneira para coleta das amostras. Fonte: elaboração própria._____ 62
Figura 20. Finalização do sistema de drenagem: preparação do leito de brita. Fonte: elaboração própria. _____ 63
Figura 21. Implantação do sistema de drenagem de gases. Fonte: elaboração própria._____ 64
Figura 22. Caminhão com RSD eliminando os resíduos no solo. Fonte: elaboração própria. 65

Figura 23. Disposição dos resíduos sólidos de serviço de na Célula RSS. Fonte: elaboração própria. 67
Figura 24. Processo de determinação da composição física através do método de quarteamento. Fonte: elaboração própria. 69
Figura 25. Plataforma de separação dos resíduos. Fonte: elaboração própria. 69
Figura 26. Acomodação de argila nas laterais da célula. Fonte: elaboração própria. 71
Figura 27. Operação com a retro-escavadeira. Cobertura dos resíduos com argila. Fonte: elaboração própria. 71
Figura 28. Vista panorâmica das células após finalização com argila. Fonte: elaboração própria. 72
Figura 29. Principais estações pluviométricas localizadas no entorno da área experimental. 73
Figura 30. Coleta de lixiviado de RSD na bacia do Caminhão. Fonte: elaboração própria. 74
Figura 31. Coleta do lixiviado gerado após 15 dias de confinamento dos resíduos na Célula RSD. Fonte: elaboração própria. 75
Figura 32. Etapas da análise do lixiviado por DGGE. 80
Figura 33. Coleta das amostras de lixiviado das células. 81
Figura 34. Exemplificação da metodologia de aproximação do disco (Classe A e D de Ambler) baseada no Método de Jarlier (1988). 86
Figura 35. Teste confirmatório para a suspeita da produção de carbapenemases (Teste de Hodge modificado). 87
Figura 36. Detecção de Beta-Lactamase do grupo C de Ambler (Induzida). 88
Figura 37. Relação entre as médias mensais de volumes de lixiviado gerado nas células com a precipitação média mensal (mm) da Estação Pluviométrica Barra/Riocentro. 92
Figura 38. Composição física dos RSD destinados ao preenchimento das Células RSD e COD. 94
Figura 39 – Composição física dos RSS destinados ao preenchimento das Células RSS e COD. 95
Figura 40 – Percentual de componentes pertencentes à categoria “Outros” identificados nos RSD de preenchimento das Células RSD e COD. 96
Figura 41 – Percentual de componentes pertencentes à categoria “Outros” identificados nos RSS de preenchimento das Células RSS e COD. 96
Figura 42 – Composição física dos RSS do município do Rio de Janeiro. a) caixas de remédios; b) frascos de soro e seringas; c) caixa de perfuro cortante, garrote, luvas de procedimento, garrafa de refrigerante, embalagem de seringa; d) sangue, embalagem de luva. 98

Figura 43. Percentuais de Papel/ Papelão potencialmente infectante e não infectante nos RSD. 99
Figura 44. Percentuais de Plástico potencialmente infectante e não infectante nos RSD 100
Figura 45. Percentuais de matéria orgânica putrescível potencialmente infectante e não infectante nos RSD 100
Figura 46 – Percentual de incidência das enterobactérias isoladas no lixiviado dos RSD e RSS antes de serem depositados nas células. 103
Figura 47 – Gráfico box plot para visualização das populações de coliformes totais em NMP 100mL^{-1} do lixiviado das células ao longo de 810 dias de confinamento. 106
Figura 48 – Gráfico box plot para visualização das populações de *E. coli* em NMP 100mL^{-1} do lixiviado das células ao longo de 810 dias de confinamento. 107
Figura 49 – Gráfico box plot para visualização das populações de enterococos em NMP 100mL^{-1} do lixiviado das células ao longo de 810 dias de confinamento. 109
Figura 50 – Gráfico box plot para visualização das populações de *P. aeruginosa* em NMP 100mL^{-1} do lixiviado das células ao longo de 810 dias de confinamento. 110
Figura 51 – Valor médio de microrganismos indicadores no lixiviado de RSD antes e depois do confinamento na Célula RSD. 112
Figura 52 – Valor médio de microrganismos indicadores no lixiviado de RSS antes e depois do confinamento na Célula RSS. 112
Figura 53. Valores médios de microrganismos indicadores no lixiviado de RSD antes e depois do confinamento na Célula COD. 113
Figura 54 – Número de estirpes de enterobactérias isoladas no lixiviado das células ao longo de 810 dias de monitoramento. 115
Figura 55. Estrutura das comunidades bacterianas do lixiviado coletado em 2011 com base nos perfis de fragmentos 16S DNAr das amostras de lixiviados das células. 122
Figura 56. Estrutura das comunidades bacterianas do lixiviado coletado em 2013 com base nos perfis de fragmentos 16S DNAr das amostras de lixiviados das células. 122
Figura 57. Estrutura das comunidades bacterianas com base nos perfis de fragmentos 16S DNAr das amostras de lixiviados da Célula RSD. 123
Figura 58. Estrutura das comunidades bacterianas com base nos perfis de fragmentos 16S DNAr das amostras de lixiviados da Célula RSS. 123
Figura 59. Estrutura das comunidades bacterianas com base nos perfis de fragmentos 16S DNAr das amostras de lixiviados da Célula COD. 124
Figura 60. Bandas selecionadas para o sequenciamento do DNAr16S. 125

Figura 61. Percentual de estirpes de enterobactérias isoladas nas Células RSD, RSS e COD que apresentaram resistência de acordo com os antimicrobianos testados. _____ 128
Figura 62 – Percentual de fenótipos identificados para *P. aeruginosa* _____ 130
Figura 63 – Percentual de estirpes de *P. aeruginosa* isoladas no lixiviado das células RSD, RSS e COD que apresentaram resistência de acordo com os antimicrobianos testados. ___ 130
Figura 64. Confirmação da produção de ESBL pelo método de aproximação do disco. Formação de zona de sinergia com o ácido clavulânico no disco conjugado de amoxicilina-ácido clavulânico pela ação da enzima beta-lactamase. _____ 132
Figura 65. Confirmação da produção de carbapenemase por *K. pneumoniae*. Fonte: elaboração própria. _____ 133
Figura 66 – Detecção de beta-lactamase da classe C de Ambler (induzida). A seta indica a zona de diminuição da sensibilidade induzida pela Cefoxitina (CFO). Fonte: elaboração própria. _____ 134

Lista de Quadros

Quadro 1. Caracterização dos componentes físicos dos RSD quanto à presença de materiais potencialmente infeciosos ou químicos. 70

Quadro 2. Demonstração do agrupamento das 54 observações. 79

Quadro 3. Sequência de iniciadores empregados na reação de PCR para amplificação de fragmento do gene DNAr 16S. 82

Quadro 4. Organização dos pares de células de acordo com o padrão de susceptibilidade aos antimicrobianos. 89

Quadro 5. Componentes e materiais identificados nos RSD e RSS destinados às células. 97

Quadro 6. Espécies bacterianas que apresentaram maior probabilidade de resistência pelo Teste de Probabilidade Exata de Fisher de acordo com os antimicrobianos e o tipo de célula. 135

Lista de Tabelas

Tabela 1. Municípios com serviço de manejo de resíduos sólidos por unidade de destino __ 22

Tabela 2. Percentual de componentes presentes nos RSD do município do Rio de Janeiro nos anos de 2009 a 2013. _____ 25

Tabela 3. Massa dos resíduos sólidos (ton) destinados ao preenchimento das Células RSD, RSS e COD. _____ 64

Tabela 4. Identificação do roteiro dos caminhões e massa de resíduos destinada à Célula RSD _____ 66

Tabela 5. Identificação do roteiro dos caminhões e massa de resíduos destinada à Célula COD._____ 66

Tabela 6. Métodos dependentes de cultivo aplicados ao lixiviado das células. _____ 78

Tabela 7. Volume médio e número de observações mensais de lixiviado gerado nas células ao longo de 810 dias de monitoramento. Nas estações menos chuvosas, uma quantidade inferior foi gerada nos sistemas das 3 células (meses destacados em vermelho) e durante os períodos em que há grandes aportes de chuva, os valores atingiram pontos máximos (meses destacados em amarelo). _____ 91

Tabela 8. Quantidade de matéria orgânica contida nas células. _____ 95

Tabela 9. Média das populações de coliformes totais, E. coli, enterococos e P. aeruginosa no líquido lixiviado de RSD, gerado na bacia do caminhão de coleta com destino às células experimentais._____ 102

Tabela 10. Média das populações de coliformes totais, *E. coli,* Enterococos e *P. aeruginosa* no líquido lixiviado de RSS, a partir de amostras sólidas, coletadas antes da disposição nas células experimentais._____ 102

Tabela 11.Valores de temperatura dos lixiviado das células ao longo de 810 dias de confinamento. _____ 104

Tabela 12. Valores de pH nos lixiviado das células ao longo de 810 dias de confinamento. 104

Tabela 13. Valor médio de coliformes totais de acordo com as células de disposição de resíduos. _____ 105

Tabela 14. Valor médio de *E. coli* em NMP $100mL^{-1}$ de acordo com as células de disposição de resíduos._____ 106

Tabela 15. Valor médio de enterococos em NMP $100mL^{-1}$ de acordo com as células de disposição de resíduos. _____ 108

Tabela 16. Valor médio de *P. aeruginosa* nos lixiviados gerados nas células de disposição de resíduos. _____ 110

Tabela 17. Média dos valores de *P. aeruginosa* nas células obtidos em 2 períodos distintos: 15 a 299 dias de confinamento e 390 a 810 dias de confinamento. _____ 111
Tabela 18. Valor médio de bactérias heterotróficas em $UFCmL^{-1}$de lixiviado gerado nas células de disposição de resíduos. _____ 113
Tabela 19. Identificação das estirpes de enterobactérias isoladas nas células durante 810 dias de monitoramento. _____ 114
Tabela 20. Perfil de bactérias isoladas no lixiviado da células de acordo com o período de isolamento. _____ 116
Tabela 21. Valor da Estatística Kruskal-Wallis (KW) para cada parâmetro avaliado nas 3 células e a probabilidade associada ao teste (nível de significância de 5%) _____ 117
Tabela 22. Teste de comparações múltiplas entre as células para enterococos._____ 117
Tabela 23. Média dos valores de enterococos obtidos em 54observações nos lixiviados das células_____ 118
Tabela 24. Valor da Estatística Kruskal-Wallis (KW) para cada parâmetro avaliado nas 3 células durante o período de dezembro de 2010 a dezembro de 2011 e a probabilidade associada ao teste (nível de significância de 5%)_____ 118
Tabela 25. Valor da Estatística Kruskal-Wallis (KW) para cada parâmetro avaliado nas 3 células durante o período de janeiro de 2012 a fevereiro de 2013 e a probabilidade associada ao teste (nível de significância de 5%)_____ 119
Tabela 26. Teste de comparações múltiplas entre as células para Coliformes totais, *E. coli* e Enterococos no período de janeiro de 2012 a fevereiro de 2013._____ 119
Tabela 27. Média dos valores de coliformes totais, *E.coli* e Enterococos obtidos em 29 observações nas células durante o período de janeiro de 2012 a fevereiro de 2013. _____ 120
Tabela 28. Identificação dos microrganismos de acordo com a similaridade das sequências de DNA depositadas no Genbank. _____ 126
Tabela 29. Percentual de perfis de susceptibilidade aos antimicrobianos identificados nas enterobactérias para cada célula _____ 128
Tabela 30. Número e percentual de estirpes de enterobactérias selecionadas como produtoras de ESBL e confirmação pelo Método de aproximação do disco._____ 131
Tabela 31. Número e percentual de estirpes de enterobactérias selecionadas como produtoras de carbapenemases e confirmação pelo Método Hodge modificado (CLSI, 2013). _____ 133

Lista de abreviaturas e siglas

16S rDNA – gene que codifica o RNA integrante da subunidade menor (16S) do ribossomo bacteriano.

ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas

ABRELPE – Associação Brasileira de Empresas de Limpeza Pública

AMI - Amicacina

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

AP – Área de Planejamento de Saúde

ARDRA - Amplified Ribossomal DNA Restriction Analysis

ASTM - American Society for Testing and Materials

ATM - Aztreonam

CFZ - Cefazolina

CIP - Ciprofloxacina

CLSI - Clinical and Laboratory Standards Institute

CPM- Cefepime

CMI - Concentração mínima inibitória

CNEN – Comissão Nacional de Energia Nuclear

COD – Codisposição de RSD e de RSS

COMLURB – Companhia Municipal de Limpeza Urbana

CONAMA – Conselho Nacional do Meio Ambiente

DBO – Demanda Bioquímica de Oxigênio

ddNTPs - Dideoxirribonucleotídeos trifosfatados

DGGE – Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (Eletroforese em gel com gradiente desnaturante).

DNA – Ácido Desoxirribonucléico

dNTP – Deoxirribonucleotídeos trifosfatados

DQO – Demanda Química de Oxigênio

DZ - Diretriz

EPI – Equipamento de Proteção Industrial

ESBL – Beta-lactamases de espectro estendido

FISH – Hibridização fluorescente *in situ*

G-C – Guanina-Citosina

GEN - Gentamicina

HLAR - Estirpes com alto grau de resistência aos aminoglicosídeos

IBAM – Instituto Brasileiro de Administração Municipal

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

IMI - Imipenem

INEA – Instituto do Meio Ambiente

IPP – Instituto Pereira Passos

IRAS - Infecções relacionadas à assistência à saúde

Kb – quilo base par (1000pb)

KPC – *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase

Log – Logaritmo em base 10

MER- Meropenem

mL – mililitro

MRA - Multirresistência

MRSA - *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina

NBR – Norma Brasileira

NMP – Número Mais Provável

ONPG – Orto-nitrofenil-galactopiranosídeo

pb – Pares de base

PCR – Polymerase Chain Reaction (Reação em cadeia da Polimerase).

PEAD – Polietileno de Alta Densidade

pH – Potencial de Hidrogênio

PIP - Piperacilina

PVC - Policloreto de vinila

R1 – Resistência a um único antimicrobiano

R2 - Resistência a dois antimicrobianos

RDC – Resolução da Diretoria Colegiada

RNA – Ácido Ribonucléico

RSD – Resíduos Sólidos Domiciliares

RSS – Resíduos Sólidos de Serviço de Saúde

RSU - Resíduos Sólidos Urbanos

SISNAMA - Sistema Nacional do Meio Ambiente

SNVS - Sistema Nacional de Vigilância Sanitária

SUASA - Sistema Unificado de Atenção à Sanidade Agropecuária

TAZ - Tazobactam

TEC – Teicoplamina

ton – Tonelada

T-RFLP ou TRF - Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism

TSA – Teste de susceptibilidade aos antimicrobianos

UFC – Unidade Formadora de Colônia

UFGMA - Unweighted Pair Group Method Average

UPGMA - Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean

VAN - Vancomicina

VRE – Enterococos resistentes à Vancomicina

XLD - Ágar xilose lisina desoxicolato

1. INTRODUÇÃO.

Dentre os diferentes tipos de resíduos gerados pelo homem, os produzidos nos serviços de atendimento à saúde têm merecido maior atenção nos últimos anos, principalmente, pelas discussões geradas pelo seu tratamento e disposição final.

Alguns pesquisadores consideram os RSS potenciais agentes de disseminação de microrganismos patogênicos para os seres humanos e outros animais, além de veículo para disseminação de marcadores de resistência a drogas antimicrobianas (NASCIMENTO *et al.*, 2009; CHAGAS *et al.*, 2011; ZHANG *et al.*, 2012). Como apoio a essa corrente estão os órgãos CONAMA, através da RDC 358 (2005) e ANVISA, através da RDC 306 (2004). Ambas resoluções versam sobre o gerenciamento dos RSS em todas as suas etapas, exigindo que os resíduos recebam manejo específico, desde a sua geração até a disposição final e estão fundamentadas na análise dos riscos envolvidos, com focos na prevenção e no tratamento, sendo este uma alternativa para dar destinação adequada aos resíduos com potencial de contaminação.

Por outro lado, diversos autores afirmam que há poucos estudos epidemiológicos que possam ter seu nexo causal nos resíduos sólidos urbanos em geral e nos resíduos sólidos de serviço de saúde, em particular tornando-se improcedentes as exigências em relação ao manejo diferenciado dos RSS (ZANON, 1990; ZANON e EIGENHEER, 1991; RUTALA e MAYHALL, 1992; FERREIRA, 1997, 2002; SOUZA, 2003; SAINI et al., 2004; CUSSIOL, 2005).

Além disso, os custos necessários para estabelecer e manter sistemas eficazes de tratamento de RSS excedem os recursos disponíveis em determinadas localidades. Tecnologias avançadas, tais como a incineração, a autoclave e forno de micro-ondas, podem ser inacessíveis ou de alcance limitado por falta de suporte técnico ou de investimentos (BLENKHARN, 2006). No Brasil, onde são coletadas cerca de 891 toneladas de resíduos sólidos de serviço de saúde (RSS) por dia (IBGE, 2010), e em diversos países em desenvolvimento, as propostas de gerenciamento apontam para a recomendação de incineração destes resíduos, ou de parte deles. Para Souza (2003), é fundamental adequar o tratamento de RSS às condições financeiras do Brasil, cabendo a avaliação do desperdício de recursos com tecnologias de descontaminação provavelmente desnecessárias, baseadas em critérios de segurança exagerados.

Nesse contexto, a capacidade de liberar microrganismos e substâncias que comprometem o meio ambiente não é inerente aos resíduos originários dos estabelecimentos relacionados à assistência à saúde. Os resíduos gerados em domicílio, no comércio e na

indústria, bem como os efluentes das estações de tratamento de águas, são conhecidos pela sua contribuição com carga de medicamentos antimicrobianos e saneantes nas águas residuais (ALDER *et al.*, 2003) e de microrganismos de diferentes fontes de contaminação, como fraldas, preservativos, absorventes e papéis sanitários (THREEDEACH *et al.*, 2012), além de materiais perfurantes e escarificantes (CUSSIOL, 2005).

Quanto à disposição de resíduos sólidos de serviço de saúde em aterros sanitários, por ser uma medida em desuso nos países desenvolvidos (BLENKHARN, 2006), pouco se sabe sobre a microbiota dos resíduos sólidos ali depositados. De acordo com os estudos de Bidone e outros (2005), a codisposição dos resíduos sólidos urbanos e dos resíduos sólidos de serviço de saúde deve ser considerada em vista dos baixos valores de microrganismos presentes neste ambiente.

Como consequência da disposição dos resíduos sólidos em aterro, o lixiviado é atualmente considerado a emissão mais impactante sob o ponto de vista ambiental. A exposição do ambiente ao lixiviado pode ocorrer de diferentes formas: através do excesso de chuvas, do transbordamento descontrolado das lagoas de equalização, de infiltrações ou por falhas no tratamento do lixiviado lançado nos corpos d´água. O impacto do lixiviado de aterro sobre a microflora e microfauna é determinado por fatores como elevadas concentrações de matéria orgânica, e de nitrogênio amoniacal, além de outros contaminantes transportados pela massa de resíduos (LIU *et al.*, 2011). Nesse sentido, o aterro sanitário se mostra como um sistema heterogêneo complexo quanto às características físicas, químicas e biológicas onde diferentes microrganismos coexistem e interagem (SZYŁAK-SZYDŁOWSKI E KORNIŁŁOWICZ-KOWALSKA, 2011).

As características do lixiviado gerado a partir da disposição dos resíduos sólidos de serviço de saúde em aterro sanitário podem se assemelhar às dos efluentes hospitalares (NOVO E MANAIA, 2010). A entrada de bactérias de origem hospitalar em um ambiente pode representar uma grande fonte de disseminação de resistência aos antimicrobianos (PRADO *et al.*, 2008). Os efeitos dos rejeitos hospitalares (esgoto e águas residuárias) e urbanos no meio ambiente estão associados às falhas no tratamento destes efluentes e a liberação de microrganismos e de substâncias químicas e moléculas orgânicas capazes de alterar as características dos ecossistemas (CHAGAS *et al.*, 2011).

Particularmente, a ocorrência de agentes antibacterianos no ambiente aumenta a preocupação quanto aos riscos ambientais e à disseminação de resistência antimicrobiana entre os microrganismos (CHAGAS *et al.*, 2011). Se os produtos com atividade antimicrobiana transportados para o meio ambiente a partir de fonte humana ou animal

selecionam estirpes de bactérias resistentes aos antimicrobianos são assuntos não resolvidos (CHANG *et al.*, 2010).

O confinamento dos resíduos em aterros sanitários pode fornecer às comunidades microbianas as condições adequadas às suas interações e sucessões que conduziriam à inocuidade deste aterro, mas também é possível que estas condições sejam favoráveis às recombinações e mutações genéticas, tornando o lixiviado um veículo para microrganismos multirresistentes e produtores de mecanismos de patogenicidade.

Um dos motivos pelo qual se busca conhecer a diversidade microbiana em lixiviado de aterro é que o estudo dessa população e dos agentes patogênicos presentes, geralmente em conjunto com as características físico-químicas, permite que sejam escolhidos os métodos de tratamento e de disposição mais adequados. Permite também estimar possíveis contaminações das águas superficiais e profundas e como elas poderiam afetar a saúde pública se os microrganismos presentes nesses ecossistemas encontrassem um meio de retornar à população seja diretamente, pela ingestão ou pelo contato recreacional, seja indiretamente, pelo consumo de alimentos contaminados (SZYŁAK-SZYDŁOWSKI; KORNIŁŁOWICZ-KOWALSKA, 2012).

Considerando-se a necessidade de informações que respondam a essas questões, o estudo de um aterro sanitário experimental para o confinamento de resíduos sólidos de serviço de saúde e de resíduos sólidos domiciliares proporcionará o monitoramento da presença e da diversidade de microrganismos patogênicos que permitam entender se os resíduos sólidos de serviço de saúde e os resíduos sólidos domiciliares se diferenciam ou não quanto à sua microbiota e ao seu potencial patogênico quando confinados.

2. OBJETIVOS.

2.1 Objetivo Geral.

Estudar os efeitos da codisposição de Resíduos Sólidos Domiciliares (RSD) e de Resíduos Sólidos de Serviço de Saúde (RSS) na microbiota do lixiviado gerado em células de aterro experimental.

2.2 Objetivos Específicos.

- Caracterizar os Resíduos Sólidos Domiciliares quanto à presença de materiais potencialmente infectantes;
- Comparar as modificações da microbiota dos lixiviados de células de aterro sanitário ao longo do tempo por métodos dependentes e independentes do cultivo;
- Avaliar o perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos das estirpes bacterianas isoladas no lixiviado das células;
- Avaliar a atividade antimicrobiana nos lixiviados gerados nas células.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.

3.1 PANORAMA DOS RESÍDUOS SÓLIDOS.

Em termos mundiais, a produção de resíduos sólidos é uma consequência inevitável da atividade humana e o seu gerenciamento impacta diretamente a saúde pública e o meio ambiente. O avanço tecnológico das últimas décadas, se por um lado, possibilitou conquistas surpreendentes no campo das ciências, por outro, contribuiu para o aumento da diversidade de produtos com componentes e materiais de difícil degradação e maior toxicidade (VERGARA & TCHOBANOGLOUS, 2012). Em todo o mundo, as pessoas descartam quantidades crescentes de resíduos e a sua composição está mais complexa do que nunca, graças à difusão de produtos eletrônicos e plásticos. Mais de um bilhão de toneladas de resíduos sólidos urbanos são atualmente descartados em todo o mundo, e especialistas preveem que em 2025 esse número atingirá 2,2 bilhões de toneladas por ano (GIUSTI, 2009).

A produção de resíduos sólidos está ligada diretamente ao desenvolvimento da região. Quanto mais desenvolvida, sobretudo quanto à industrialização, maior o volume e a massa dos resíduos e dos dejetos gerados (GOMEZ *et al.*, 2012). Existem fatores que também contribuem para este aumento, tais como hábitos e costumes da população, densidade demográfica, entre outros (COMLURB, 2013). Os países mais pobres tendem a apresentar maiores frações orgânicas em seus resíduos, e os mais ricos apresentam composições de resíduos mais complexas (FAROUHAR *et al.*,2012; BARR *et al.*, 2013; OTHMAN *et al.*, 2013).

No Brasil são coletadas cerca de 260.000 toneladas de resíduos sólidos urbanos (RSU) diariamente (IBGE, 2010). Entende-se por RSU os resíduos sólidos domiciliares e os resíduos de limpeza urbana (originários da varrição, limpeza de logradouros e vias públicas e outros serviços de limpeza urbana). Segundo estudos da ABRELPE – Associação Brasileira de Empresas de Limpeza Pública (2010), o aumento da geração de RSU no Brasil supera a taxa de crescimento populacional urbano, o que indica a necessidade de o país avançar em direção à gestão integrada dos resíduos sólidos. A instituição da Política Nacional de Resíduos Sólidos no ordenamento jurídico brasileiro em 2010, e sua integração à Política Nacional de Meio Ambiente e à Política de Saneamento Básico, completou a estrutura regulatória necessária para propiciar o gerenciamento de resíduos sólidos no Brasil, que deve estar associado à seleção de estratégias e tecnologias desde a geração até o destino final.

No município do Rio de Janeiro foram recolhidos, em 2012, cerca de 4,07 milhões de toneladas de resíduos sólidos urbanos, sendo que aproximadamente 1,82 milhões de toneladas (43,53% do total) correspondem aos resíduos sólidos domiciliares (RSD) (Figuras 1

e 2). A geração de RSD variou de 0,7 kg/ pessoa/dia em 2005 a 0,8 kg/pessoa/dia, in 2012, um aumento de 22,32%. Essa tendência não acompanhou o crescimento da população do Rio de Janeiro que foi de 2,07%, durante esse período. Os RSD têm se tornado um assunto muito discutido nos últimos anos uma vez que pesquisas recentes indicaram que os RSD representam 40–60% dos resíduos urbanos (OGWUELEKA, 2013). Considerando uma população de 6.016.551 em 2012, a população do Rio de Janeiro produz cerca de 300 kg de RSD/pessoa/ano. Na Bélgica, por exemplo, pesquisadores afirmam que o país deve ter como meta reduzir e manter a quantidade de RSD em 150 kg/pessoa/ano até 2015 (GELLYNCK *et al.*, 2011).

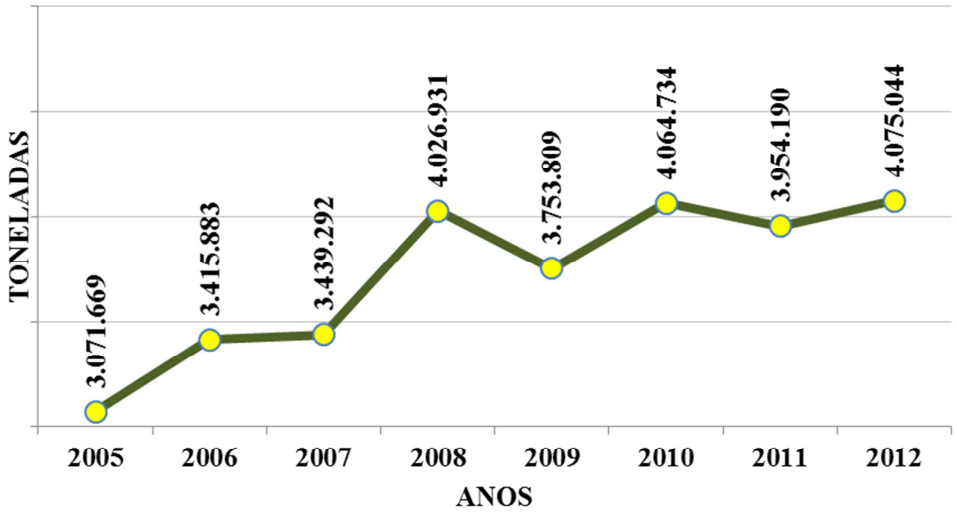


Figura 1. Resíduos Sólidos Urbanos coletados no município do Rio de Janeiro nos anos de 2005 a 2012. Fonte: Companhia Municipal de Limpeza Urbana – COMLURB (2013).

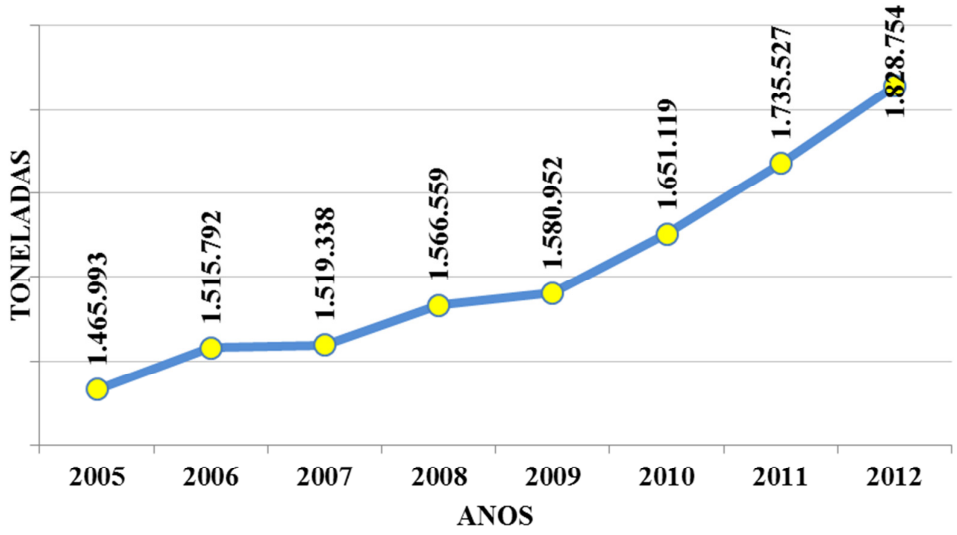


Figura 2. Resíduos Sólidos Domiciliares coletados no município do Rio de Janeiro nos anos de 2005 a 2012. Fonte: Companhia Municipal de Limpeza Urbana – COMLURB (2013).

3.2 GERENCIAMENTO DOS RESÍDUOS SÓLIDOS DOMICILIARES (RSD).

Um dos maiores desafios da vida moderna é o gerenciamento dos resíduos sólidos. A combinação de métodos, políticas e comportamentos com o objetivo de controlar os impactos negativos dos resíduos sólidos e encontrar soluções para reutilizá-lo se constitui no gerenciamento de resíduos sólidos (OTHMAN *et al.*, 2013). Esse gerenciamento envolve as etapas de geração, manejo na fonte, coleta, transporte, processamento e transformação, e disposição final (TCHOBANOGLOUS E KEITH, 2002).

Sobre o manejo de resíduos sólidos nos municípios brasileiros, a Tabela 1 mostra os resultados da Pesquisa Nacional de Saneamento Básico do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE (IBGE, 2010). Dos 5.562 municípios brasileiros que apresentam serviço de manejo de resíduos sólidos, 50,5% (2.810) utilizam os vazadouros a céu aberto (lixões) como unidade de destino dos resíduos sólidos domiciliares e/ou públicos e 22,5 (1.254) os aterros controlados, destacando o uso de unidades inadequadas de destinação de resíduos. Cerca de 27,7% (1.540) dos municípios brasileiros utilizam o aterro sanitário como forma de destinação final dos RSU.

Tabela 1. Municípios com serviço de manejo de resíduos sólidos por unidade de destino

Unidade de destinação de RSD	Número de Municípios
Vazadouro em área aberta	2.810
Vazadouro em áreas alagadas	11
Aterro controlado	1.254
Aterro sanitário	1.540
Unidade de compostagem de resíduos orgânicos	211
Unidade de triagem de resíduos recicláveis	643
Unidade de tratamento por incineração	34
Outras	134
Total	5.562

Fonte: Diretoria de Pesquisa, Coordenação de populações e indicadores sociais do IBGE. Pesquisa Nacional de Saneamento básico. 2010.

O significante aumento da produção de resíduos está relacionado à melhoria nos padrões socioeconômicos e à urbanização. As tendências globais de produção crescente e de complexidade dos resíduos descartados agravam o desafio do gerenciamento dos mesmos (VERGARA E TCHOBANOGLOUS, 2012). No entanto, técnicas para determinar a composição física dos resíduos sólidos geram informações que direcionam o gerenciamento dos resíduos sólidos de uma cidade. O entendimento da composição física é etapa fundamental no gerenciamento dos resíduos, contribuindo para o estabelecimento de fatores socioeconômicos (QU *et al*, 2009), para a identificação dos índices de geração de resíduos e o potencial para reciclagem e reúso (THANH *et al.*, 2010; BARR *et al.*, 2013) e para a indicação da possibilidade de aproveitamento da matéria orgânica para a produção de composto orgânico (TUOMELA *et al.,* 2000; SENG *et al.*, 2013). Esses conhecimentos prévios também permitem especificar e dimensionar os equipamentos e materiais usados na limpeza urbana, como: caminhões coletores, caçambas, contêineres e sacos para coleta de resíduos; determinar áreas mais apropriadas para implantação de unidades de reciclagem; acompanhar as mudanças nos hábitos e tendências de consumo decorrentes das mudanças do poder aquisitivo e de padrões de consumo da população e estabelecer correlações dos resíduos com os estratos socioeconômicos e culturais dos grupos geradores.

Outro ponto importante na gestão de resíduos é a identificação da melhor opção de tratamento e disposição dos RSD. Um estudo realizado por Manfredi e outros (2011) mostra que o desempenho ambiental estimado para a disposição das frações orgânicas dos RSD em aterro, com recuperação de energia, é comparável ao da compostagem e ao da incineração. Para as outras frações dos resíduos, a reciclagem e a incineração são favoráveis, embora emissões específicas de uma variedade de compostos tóxicos (hidrocarbonetos aromáticos, policíclicos, nitrogênio, compostos orgânicos voláteis, metais pesados etc.) podem ser danosas ao meio ambiente.

Temas sobre os RSD têm levantado discussões nos últimos anos devido à sua composição diversificada, que está diretamente relacionada com a cultura e os padrões sócio-econômicos de quem o gera (PARIZEAU *et al.* , 2006). A composição dos RSD depende do crescimento populacional, dos padrões de consumo, dos hábitos alimentares, da crescente quantidade de resíduos e da sua diversidade, do poder aquisitivo, da presença de programas de reciclagem e compostagem e das condições climáticas (ZHANG *et al.*, 2010; OGWUELEKA 2013, SONG *et al.*, 2013).

De acordo com a Política Nacional de Resíduos Sólidos (2010), os RSD são aqueles originários de atividades domésticas em residências urbanas. Os RSD são constituídos

basicamente por matéria orgânica, papel/ papelão, plásticos, materiais metálicos ferrosos/ não ferrosos, vidro, folha, madeira, borracha, tecido, couro, osso, coco, parafina, eletroeletrônicos e materiais inertes (COMLURB, 2013). A composição física dos resíduos sólidos, ou seja, os tipos de materiais que os constituem, sua heterogeneidade e as proporções de diferentes compostos e elementos químicos, depende basicamente das condições de geração e do modo de coleta. As características dos resíduos podem variar também em função de aspectos sociais, econômicos, culturais, geográficos e climáticos.

Na Tabela 2 estão reunidos os dados sobre a composição física dos resíduos coletados nos últimos cinco anos no município do Rio de Janeiro pela COMLURB, empresa pública responsável pela limpeza de logradouros e pela coleta, transporte e destinação final dos resíduos sólidos urbanos. Os resíduos orgânicos representam a maior parcela dos RSD gerados (53,48%), seguido pelos materiais recicláveis (40,84%), representados pelo papel, plástico, vidro e metal, e outros componentes (6,35%). Os mesmos resultados foram encontrados por Ogwueleka (2013) nos RSD gerados em Abuja, Nigéria, tendo os resíduos orgânicos como o componente mais abundante (62,9%, em média). A influência da economia na composição dos resíduos também foi observada por Othman e outros (2013) ao compararem diferentes partes da Ásia. Os materiais recicláveis, como papel, plástico, vidro e metal, são mais produzidos em países desenvolvidos, como o Japão, a China, a Coréia do Sul e Cingapura, por causa do valor de mercado destes produtos, enquanto que os resíduos orgânicos constituem a maior fração dos resíduos em áreas menos desenvolvidas da região, como a Índia, Malásia e Tailândia. Em contraste, um estudo realizado em Tijuana, México, para comparar o nível socioeconômico e os resíduos produzidos, não demonstrou diferenças significativas, ou seja, os resíduos dos diferentes status socioeconômicos apresentaram composições semelhantes (AGUILAR-VIRGEN *et al.*, 2013).

Tabela 2. Percentual de componentes presentes nos RSD do município do Rio de Janeiro nos anos de 2009 a 2013.

Componente	Anos						
	2009	2010	2011	2012	2013	Média	Desvio padrão
Papel /papelão	16,08	16,46	16,84	15,99	16,83	16,44	0,40
Plástico	20,31	19,11	19,29	19,14	18,99	19,37	0,54
Vidro	2,84	2,96	3,19	3,28	3,39	3,13	0,23
Matéria orgânica putrescível	53,63	55,02	52,68	53,28	52,81	53,48	0,94
Metal	1,74	1,40	1,68	1,57	1,63	1,60	0,13
Inertes	1,09	1,03	1,39	1,81	1,11	1,29	0,32
Folhas	1,26	1,06	1,12	1,35	1,37	1,23	0,14
Madeira	0,34	0,36	0,37	0,34	0,50	0,38	0,07
Borracha	0,23	0,21	0,29	0,22	0,32	0,25	0,05
Tecido	1,75	1,57	2,09	1,75	1,94	1,82	0,20
Couro	0,18	0,14	0,21	0,21	0,27	0,20	0,05
Osso	0,01	0,06	0,02	0,01	0,01	0,02	0,02
Parafina	0,13	0,20	0,23	0,20	0,32	0,22	0,07
Coco	0,40	0,40	0,60	0,82	0,48	0,54	0,18
Eletroeletrônico	0,13	0,20	0,23	0,20	0,32	0,22	0,07

Fonte: Companhia Municipal de Limpeza Urbana – COMLURB (2013)

3.3 GERENCIAMENTO DOS RESÍDUOS SÓLIDOS DE SERVIÇO DE SAÚDE (RSS).

3.3.1 Definições e classificações.

Os órgãos legais do meio ambiente e da saúde, bem como a legislação federal, em vigor, definem os RSS como aqueles oriundos dos serviços relacionados ao atendimento à saúde humana ou animal, incluindo os serviços de assistência domiciliar. Os RSS representam uma pequena parcela do total de resíduos sólidos gerados em uma comunidade. No município do Rio de Janeiro, esse valor corresponde a 2% (COMLURB, 2010).

A Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) nº 306/04 e a Resolução nº 358/2005 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) classificam os RSS com base em grupos distintos de risco para fins de acondicionamento, identificação, armazenamento temporário e destinação final:

- Grupo A

- Resíduos com a possível presença de agentes biológicos que, por suas características de maior virulência ou concentração, podem apresentar risco de infecção.

– Grupo A1
  - Culturas e estoques de micro-organismos; resíduos de fabricação de produtos biológicos, exceto os homoderivados; descarte de vacinas de micro-organismos vivos ou atenuados; meios de cultura e instrumentais utilizados para transferência, inoculação ou mistura de culturas; resíduos de laboratórios de manipulação genética.
  - Resíduos resultantes da atenção à saúde de indivíduos ou animais, com suspeita ou certeza de contaminação biológica por agentes Classe de Risco 4 (Apêndice II), micro-organismos com relevância epidemiológica e risco de disseminação ou causador de doença emergente que se torne epidemiologicamente importante ou cujo mecanismo de transmissão seja desconhecido. Devem ser submetidos a tratamento antes da disposição final.
  - Bolsas transfusionais contendo sangue ou hemocomponentes rejeitadas por contaminação ou por má conservação, ou com prazo de validade vencido, e aquelas oriundas de coleta incompleta; sobras de amostras de laboratório contendo sangue ou líquidos corpóreos, recipientes e materiais resultantes do processo de assistência à saúde, contendo sangue ou líquidos corpóreos na forma livre. Devem ser submetidos a tratamento antes da disposição final.

– Grupo A2
  - Carcaças, peças anatômicas, vísceras e outros resíduos provenientes de animais submetidos a processos de experimentação com inoculação de micro-organismos, bem como suas forrações, e os cadáveres de animais suspeitos de serem portadores de micro-organismos de relevância epidemiológica e com risco de disseminação, que foram submetidos ou não a estudo anátomo-patológico ou confirmação diagnóstica. Devem ser submetidos a tratamento antes da disposição final.

– Grupo A3
  - Peças anatômicas (membros) do ser humano; produto de fecundação sem sinais vitais, com peso menor que 500 gramas ou estatura menor que 25 centímetros ou

idade gestacional menor que 20 semanas, que não tenham valor científico ou legal e não tenha havido requisição pelo paciente ou seus familiares.

- Grupo A4
  - Kits de linhas arteriais, endovenosas e dialisadores; filtros de ar e gases aspirados de área contaminada; membrana filtrante de equipamento médico-hospitalar e de pesquisa, entre outros similares; sobras de amostras de laboratório e seus recipientes contendo fezes, urina e secreções, provenientes de pacientes que não contenham e nem sejam suspeitos de conter agentes Classe de Risco 4, e nem apresentem relevância epidemiológica e risco de disseminação, ou micro-organismo causador de doença emergente que se torne epidemiologicamente importante ou cujo mecanismo de transmissão seja desconhecido ou com suspeita de contaminação com príons; tecido adiposo proveniente de lipoaspiração, lipoescultura ou outro procedimento de cirurgia plástica que gere este tipo de resíduo; recipientes e materiais resultantes do processo de assistência à saúde, que não contenham sangue ou líquidos corpóreos na forma livre; peças anatômicas (órgãos e tecidos) e outros resíduos provenientes de procedimentos cirúrgicos ou de estudos anátomo-patológicos ou de confirmação diagnóstica; carcaças, peças anatômicas, vísceras e outros resíduos provenientes de animais não submetidos a processos de experimentação com inoculação de micro-organismos, bem como suas forrações; cadáveres de animais provenientes de serviços de assistência; Bolsas transfusionais vazias ou com volume residual pós-transfusão.
- Grupo A5
  - Órgãos, tecidos, fluidos orgânicos, materiais perfurocortantes ou escarificantes e demais materiais resultantes da atenção à saúde de indivíduos ou animais, com suspeita ou certeza de contaminação com príons.

- - Grupo B
  - Resíduos contendo substâncias químicas que podem apresentar risco à saúde pública ou ao meio ambiente, dependendo de suas características de inflamabilidade, corrosividade, reatividade e toxicidade.
  - Produtos hormonais e produtos antimicrobianos; citostáticos; antineoplásicos; imunossupressores; digitálicos; imunomoduladores; anti-retrovirais, quando descartados por serviços de saúde, farmácias, drogarias e distribuidores de

medicamentos ou apreendidos e os resíduos e insumos farmacêuticos dos Medicamentos controlados pela Portaria MS 344/98 e suas atualizações.

- Resíduos de saneantes, desinfetantes, desinfestantes; resíduos contendo metais pesados; reagentes para laboratório, inclusive os recipientes contaminados por estes.
- Efluentes de processadores de imagem (reveladores e fixadores).
- Efluentes dos equipamentos automatizados utilizados em análises clínicas

- Grupo C
  - Quaisquer materiais resultantes de atividades humanas que contenham radionuclídeos em quantidades superiores aos limites de isenção especificados nas normas do CNEN e para os quais a reutilização é imprópria ou não prevista.
  - Enquadram-se neste grupo os rejeitos radioativos ou contaminados com radionuclídeos, provenientes de laboratórios de análises clinicas, serviços de medicina nuclear e radioterapia, segundo a resolução CNEN-6.05.

- Grupo D
  - Resíduos que não apresentem risco biológico, químico ou radiológico à saúde ou ao meio ambiente, podendo ser equiparados aos resíduos domiciliares.
  - Papel de uso sanitário e fralda, absorventes higiênicos, peças descartáveis de vestuário, resto alimentar de paciente, material utilizado em anti-sepsia e hemostasia de venóclises, equipo de soro e outros similares não classificados como A1; - sobras de alimentos e do preparo de alimentos; - resto alimentar de refeitório; - resíduos provenientes das áreas administrativas; - resíduos de varrição, flores, podas e jardins - resíduos de gesso provenientes de assistência à saúde.

- Grupo E
  - Materiais perfurocortantes ou escarificantes, tais como: Lâminas de barbear, agulhas, escalpes, ampolas de vidro, brocas, limas endodônticas, pontas diamantadas, lâminas de bisturi, lancetas; tubos capilares; micropipetas; lâminas e

lamínulas; espátulas; e todos os utensílios de vidro quebrados no laboratório (pipetas, tubos de coleta sanguínea e placas de Petri) e outros similares.

3.3.2 Manejo dos RSS no Brasil.

O padrão de gerenciamento dos RSS adotado no Brasil é resultado das determinações da Resolução CONAMA nº 358/05 e da Resolução ANVISA nº 306/04. A Resolução CONAMA nº 358/05 trata do gerenciamento considerando a preservação dos recursos naturais e do meio ambiente, dando competências aos órgãos ambientais estaduais e municipais para estabelecer critérios para o licenciamento ambiental dos sistemas de tratamento e destinação final dos RSS. A Resolução ANVISA (RDC) nº 306/04 aborda o controle dos processos de segregação, acondicionamento, armazenamento, transporte, tratamento e disposição final.

De acordo com o Manual de Gerenciamento de RSS da ANVISA (2006), a implantação de processos de segregação dos diferentes tipos de resíduos em sua fonte e no momento de sua geração conduz certamente à minimização dos resíduos, em especial àqueles que requerem um tratamento prévio à disposição final. Na Índia, as leis e regulamentos para o gerenciamento de RSS indicam que estes resíduos devem ser separados no ponto de origem, coletados e transportados para o tratamento no local, através de autoclavagem e incineração (SAINI *et al.*, 2004).

Dados fornecidos pela COMLURB revelam que no município do Rio de Janeiro, os estabelecimentos públicos de assistência à saúde humana e animal, bem como as unidades de cuidados domiciliares geram cerca de 3 toneladas de RSS por dia. Esses resíduos são submetidos à esterilização por calor úmido em autoclaves fora do local de geração dos resíduos e transportados, após o procedimento, para o aterro sanitário, sendo dispostos como resíduos sólidos comuns, pertencentes a classe D. No entanto, resíduos do grupo A1, além de bolsas de sangue após transfusão incompleta são submetidas à autoclavação na unidade geradora e deixam o local ainda como resíduos pertencente ao grupo A1 e são novamente tratadas fora do local de geração.

3.3.3 Métodos de tratamento dos RSS.

Do total de RSUs gerados, uma fração inferior a 2% é composta por RSS e, destes, 10 a 25% necessitam de cuidados especiais (BENDJOUDI *et al.*, 2009; MOHEE, 2005). O objetivo dos tratamentos de RSS é destruir os microrganismos antes de se dispor no meio ambiente. A destruição pode ser conseguida através de métodos térmicos, químicos e

irradiativos. Özkan (2013), em um estudo que incluiu um levantamento bibliográfico sobre as tecnologias de tratamento de RSS mais utilizadas no mundo, aponta as seguintes alternativas: incineração, forno micro-ondas, esterilização a vapor (autoclavação) no local de geração, esterilização a vapor (autoclavação) fora do local de geração e aterro sanitário.

A incineração é um processo que emprega decomposição térmica em elevadas temperaturas (900-1000°C) (DIAZ *et al.*, 2005). É o método de tratamento e de disposição de RSS mais adotado no mundo (HOSSAIN *et al.*, 2011). A principal vantagem da incineração é a redução significativa do volume dos resíduos e a destruição de agentes patogênicos e orgânicos perigosos (LEE; HUFFMAN, 1995) e a desvantagem é a necessidade de monitoramento das emissões gasosas geradas, de controle na disposição final das cinzas e do lodo gerado pela lavagem dos gases (GOMES; ESTEVES, 2012).

No processo por forno micro-ondas, a desinfecção é obtida através do calor produzido pela vibração das moléculas de água, devido à umidade dos resíduos, o qual é transferido ao longo da massa (DIAZ *et al.*, 2005; TONUCI *et al.*, 2007). A vantagem desse processo é a ausência de emissão de efluentes e as desvantagens são o custo operacional relativamente alto e a limitação ao tratamento em pequena escala (HOSSAIN *et al.*, 2011).

A autoclavação é um procedimento de esterilização, realizado em autoclaves, onde os microrganismos são destruídos pela ação combinada da temperatura, pressão e umidade. Os fatores que afetam a eficiência do tratamento por autoclave são a penetração de vapor na massa de resíduos e a duração do tratamento (DIAZ *et al*, 2005). Pode ser realizado no local de geração, tendo como vantagens a comodidade e a minimização de riscos à saúde pública e ao meio ambiente (ÖZKAN, 2013). A autoclavação fora do local de geração é geralmente realizada em centros para tratamento de RSS, o que favorece o funcionamento eficiente e a conformidade com as normas ambientais. No entanto, a relação custo-benefício deve estar associada aos custos com a coleta e o transporte dos RSS (ÖZKAN, 2013).

A disposição em aterro sanitário é o método mais comum por causa do baixo custo e fácil operação na gestão dos RSS. No entanto, a disposição em aterro desses resíduos ainda é um assunto controverso devido à ameaça potencial para a saúde humana e a qualidade do meio ambiente causada pelo seu conteúdo infeccioso (DIAZ *et al.,* 2005; DIAZ *et al.*, 2008; DURSUN *et al.*, 2011; ÖZKAN, 2013).

Os dados da Pesquisa Nacional de Saneamento Básico de 2008 do IBGE (2010) revelam que dos 4.469 municípios brasileiros que apresentam coleta e/ou recebimento de RSS, 2.613 realizam o processamento destes resíduos através de incineração, queima em fornos simples, queima a céu aberto, autoclavação, micro-ondas e outros (Figura 3).

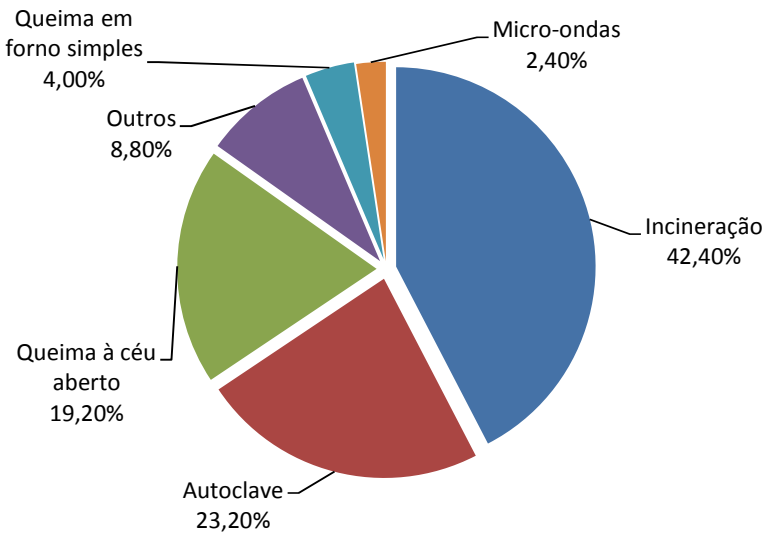


Figura 3. Principais formas de processamento dos RSS nos municípios brasileiros. Fonte: IBGE (2010).

A mesma pesquisa revela que 2.358 têm locais no município para disposição no solo desses resíduos. A Figura 4 apresenta os dados referentes aos municípios brasileiros que dispõem os RSS no solo.

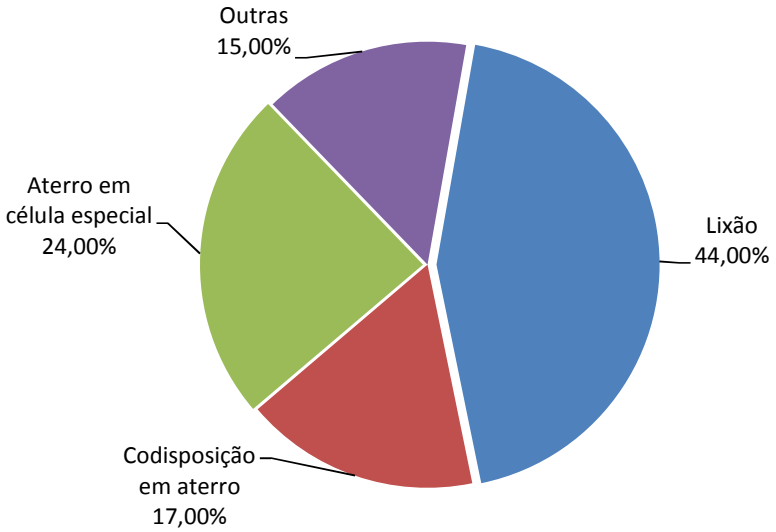


Figura 4. Principais formas de disposição dos RSS no solo nos municípios brasileiros. Fonte: IBGE (2010).

Desde 2010, o tratamento dos RSS no Rio de Janeiro é realizado por autoclavação e o custo para o tratamento do RSS varia de R$ 1.600,00 a R$ 2.800,00 a tonelada, dependendo do volume total de resíduo a ser tratado (ABORGAMA DO BRASIL, 2013). A Figura 5 mostra

os equipamentos de autoclave utilizados para a esterilização dos RSS coletados pela COMLURB, Rio de Janeiro.

Figura 5. Esterilização em autoclave dos RSS no município do Rio de Janeiro. Cada autoclave opera com a capacidade máxima de 4.800 litros de resíduos. Fonte: COMLURB.

3.4 RISCOS AMBIENTAIS E À SAÚDE PÚBLICA.

O principal risco ambiental inerente aos resíduos sólidos está relacionado à contaminação do solo e das águas superficiais e subterrâneas pelo seu descarte inadequado em lixões ou em aterros controlados.

Vários microrganismos podem ser encontrados nos resíduos sólidos e, quando não são patógenos obrigatórios, apresentam grande potencial patogênico, considerando-se, sobretudo, a susceptibilidade dos possíveis hospedeiros (humanos ou não) que entrem, eventualmente, em contato com eles (NASCIMENTO *et al.*, 2009).

Os RSS, por exemplo, são considerados por muitos autores como perigosos ou infecciosos, representando um potencial maior para poluição ambiental e infecções do que qualquer outro tipo de resíduo (ALAGOZ E KOCASOY, 2008; DA SILVA *et al.*, 2005; SAINI *et al.,* 2004; BLENKHARN, 1995; DIAZ *et al.*, 2005; 2008; NASCIMENTO *et al.*, 2009). No entanto, diversos trabalhos de pesquisa, nacionais e internacionais, produzidos pela área médica e por setores ligados ao meio ambiente, afirmam que não há evidências científicas que comprovem que os RSS sejam mais perigosos, ou mais contaminados do que os RSD (ZANON; EIGENHEER, 1991; RUTALA e MAYHALL, 1992; ZANON, 1990;

FERREIRA, 1995, 1997; SAINI *et al.*, 2004; SOUZA, 2003; CUSSIOL, 2005; BIDONE *et al.*, 2005; SILVA *et al.*, 2011). Para Hossain e outros (2011), evidências cientificamente comprovadas sobre a densidade e a sobrevivência de microrganismos nos resíduos clínicos e os riscos à saúde pública e aos trabalhadores envolvidos com a assistência à saúde são raros.

Além disso, como ressalta Cussiol (2005), nem todos os resíduos classificados como RSS são decorrentes de procedimentos aplicados em pacientes com doenças infecto-contagiosas, mas de cirurgias plásticas, vítimas de acidentes diversos (automobilístico, quedas, cortes etc) e de doenças não infecto-contagiosas, como as cardíacas.

Sobre os riscos ocupacionais, sabe-se que o potencial dos RSS de causar infecções é muito maior durante a geração e declina a partir deste ponto, apresentando, então, maior risco ocupacional do que ambiental (CUSSIOL, 2005). Os riscos de contaminação pelo manuseio dos RSS são elevados, tanto no momento da geração, do acondicionamento e do descarte, quanto durante a coleta externa e a disposição final, particularmente, devido às falhas no acondicionamento e segregação dos materiais perfurocortantes (DIAZ *et al.*, 2005). Gomes e Esteves (2012) ressaltam que a etapa de segregação deve ser bem compreendida pelos funcionários que trabalham no setor de limpeza dos estabelecimentos de serviços de saúde, os quais muitas vezes se acidentam pela má segregação e acondicionamento dos RSS.

No entanto, objetos perfurantes e escarificantes também são encontrados nos RSD, como vidro, porcelana, cerâmica, latas, lâminas de barbear, alfinetes, pregos, agulhas etc que, quando mal acondicionados e sem sinalização quanto aos riscos de corte e perfuração, podem causar acidentes nos trabalhadores da coleta formal e nos catadores de rua e lixões, abrindo portas para possíveis contaminações seguidas ou não de doenças infecciosas (CUSSIOL, 2005).

Resíduos com características hospitalares estão regularmente sendo gerados em domicílios, e coletados pelo serviço de coleta domiciliar. Isso é devido, em parte, às mudanças políticas na área da saúde e a criação de serviços de assistência médica e de saúde em casa, tornando-se um requisito básico para a população (BLENKHARN, 2006). Os dispositivos médicos e instrumentos são utilizados durante o tratamento de pacientes em casa, assim produzindo uma grande variedade de materiais: auto-injeção de diabéticos e substituição de bolsas de colostomia em casa também podem gerar significativa quantidades de resíduos com características hospitalares (DEBERE *et al.*, 2013).

3.5 ATERRO SANITÁRIO COMO MÉTODO DE DESTINAÇÃO FINAL DE RESÍDUOS SÓLIDOS

Apesar do elevado percentual de municípios que possui vazadouros a céu aberto, no Brasil e no mundo inteiro, com algumas poucas exceções, os aterros representam a principal destinação dos resíduos sólidos urbanos, sendo o meio mais importante para se dispor resíduos sólidos de maneira adequada (MONTEIRO *et al.*, 2006; ZHANG *et al.*, 2011; SANG *et al.*, 2012, ZHAO *et al.*, 2012; OTHMAN *et al.*, 2013). Em 2010, cerca de 135,5 milhões de toneladas de RSU do mundo todo, 54% do total gerado nos EUA, foram dispostos em aterros (ZHAO *et al.*, 2013).

O aterro sanitário é a estratégia de disposição final mais empregada nos países em desenvolvimento devido aos seus aspectos construtivos simples, a possibilidade de acomodação de grandes quantidades e tipos diferentes de resíduos e os baixos custos comparados às demais técnicas (SENG *et al.*, 2013). As alternativas propostas em substituição ao aterro sanitário já, há muitos anos, vêm sendo estudadas e discutidas, mas até hoje não se encontrou opção que apresentasse melhor relação custo/benefício (MANFREDI *et al.,* 2010, 2011; SAWAMURA *et al.*, 2010; SANG *et al.*, 2012), sendo considerado por Othman e outros(2013), uma opção vital quando se modelam soluções ecológicas para o gerenciamento dos resíduos sólidos.

A Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT), através da NBR 8419 de abril de 1992, conceitua aterro sanitário como uma técnica de disposição de resíduos sólidos urbanos no solo, sem causar danos ou riscos à saúde pública e à segurança, minimizando os impactos ambientais, fazendo uso dos princípios de engenharia para confinar os resíduos sólidos à menor área possível e reduzi-los ao menor volume permissível, cobrindo-os com uma camada de terra na conclusão de cada jornada de trabalho ou a intervalos menores, se for necessário.

Em 14 de julho de 2010, foi publicada a norma técnica ABNT (Associação Brasileira de Normas Técnicas) NBR (Norma Brasileira) 15849:2010 – Resíduos sólidos urbanos – Aterros sanitários de pequeno porte – Diretrizes para localização, projeto, implantação, operação e encerramento, que especifica os requisitos mínimos para localização, projeto, implantação e operação de aterros sanitários de pequeno porte, para a disposição final de resíduos sólidos urbanos, apresentando a seguinte redação:

"Aterros sanitários urbanos são áreas especialmente preparadas para confinar os resíduos sólidos provenientes de domicílios, dos serviços de limpeza urbana, de pequenos estabelecimentos comerciais, industriais e de prestação de serviços, minimizando, assim, os

impactos ambientais causados pela destinação incorreta do resíduo e, também, promovendo a saúde pública".

Essa norma permite a adoção de soluções adequadas à realidade geográfica de cada município, facilitando a construção dos aterros e impedindo a proliferação dos lixões. Antes de sua aprovação, a norma exigida para a construção de um aterro era a mesma para uma cidade de grande porte e para municípios menores.

Os aterros sanitários implantados no Brasil devem apresentar medidas de engenharia para prevenir as emissões de gases e de lixiviado para o meio ambiente. Essas medidas incluem (OBLADEN; OBLADEN; BARROS, 2009):

- Sistema de impermeabilização de base e laterais, que visam garantir a segura separação da disposição de resíduos do subsolo, impedindo a contaminação do lençol freático e do meio natural através de infiltrações de lixiviados e/ou substâncias tóxicas. Para desempenhar essa função de maneira eficiente, a camada de impermeabilização de materiais deve compor-se de solo argiloso de baixa permeabilidade ou geomembrana sintética com espessuras adequadas.
- Sistema de recobrimento diário e cobertura final, evitando o arraste de poluentes pelo vento, além da proliferação de vetores;
- Sistema de coleta, drenagem e tratamento de líquidos lixiviados através de lagoas de estabilização, ou outro equipamento para o tratamento de lixiviado, como forma de evitar maiores danos ao meio ambiente;
- Sistema de coleta e tratamentos dos gases. O biogás gerado deverá ser queimado para mitigação dos efeitos causados pelo seu lançamento na atmosfera. A queima transforma o metano em dióxido de carbono e vapor d'água. Estudos indicam que 1g de metano contribui 21 vezes mais para o efeito estufa do que 1g de dióxido de carbono. Além da sua simples queima, o biogás pode ser utilizado também em sistemas de calefação ou como combustível veicular;
- Sistema de drenagem superficial no intuito de afastar águas pluviais e eventuais cursos d'água que contribuiriam para a formação de lixiviado para o transporte de poluentes para o exterior do aterro;
- Sistema de monitoramento.

Algumas dessas exigências técnicas estruturais e construtivas estão ilustradas na Figura 6. Além disso, devem ser avaliadas também as probabilidades de impacto local e sobre a área de influência do empreendimento e as medidas para mitigá-los. Embora consistindo

numa técnica simples, os aterros sanitários exigem cuidados especiais, e procedimentos específicos devem ser seguidos desde a escolha da área até a sua operação e monitoramento (LANZA E CARVALHO, 2006). De fato, uma vez encerradas as operações em um aterro, o mesmo deverá ser monitorado por um período de 30 anos, presumindo-se que após esse tempo o aterro estará estabilizado (KJELDSEN *et al.*, 2002; GOMEZ *et al.*, 2012).

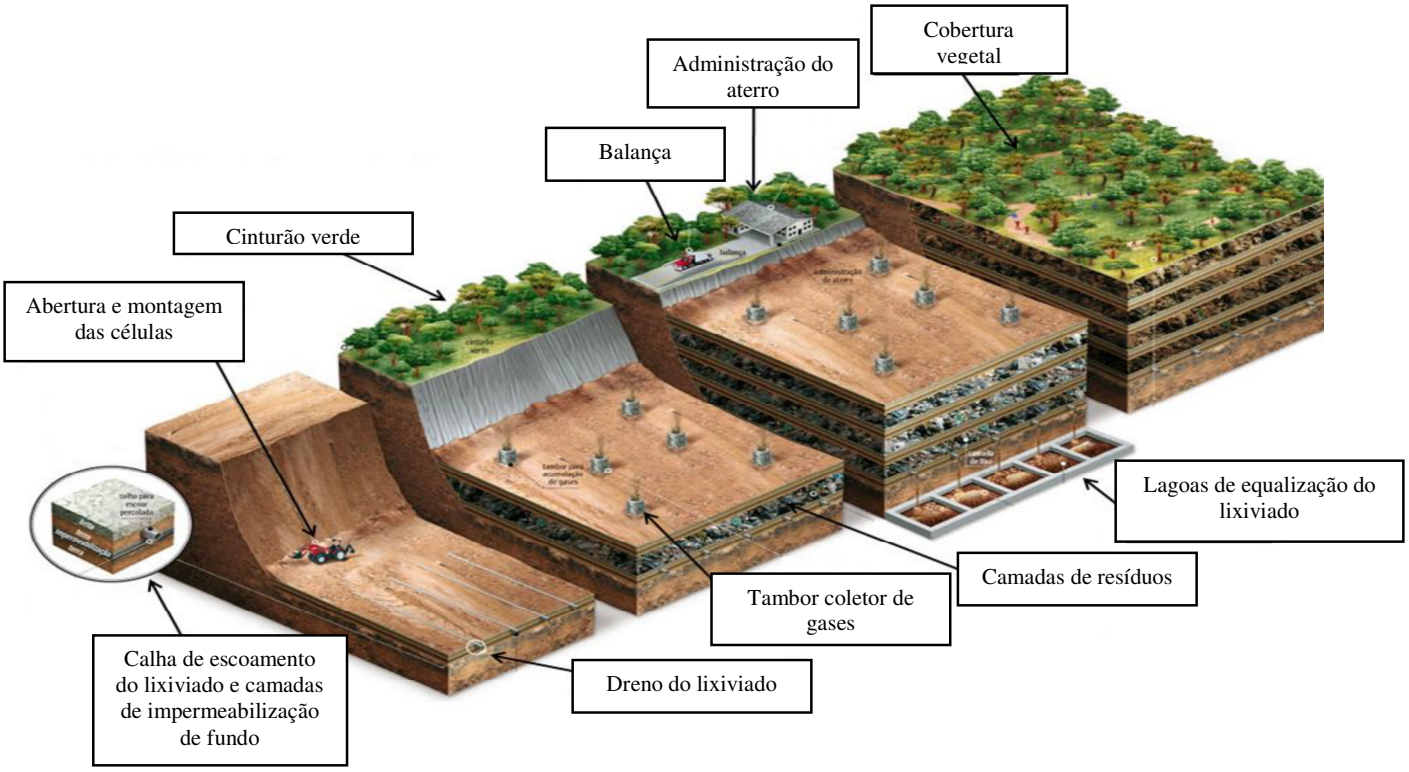


Figura 6 – Estrutura de um aterro sanitário de RSU. Fonte: Adaptado de SANTOS (2010).

3.6 ASPECTOS MICROBIOLÓGICOS DA DEGRADAÇÃO DOS RESÍDUOS SÓLIDOS NOS ATERROS.

As características construtivas dos aterros permitem minimizar os efeitos das duas principais fontes de poluição oriundas dos resíduos sólidos: o gás e o lixiviado (SOUTO, 2009).

O gás gerado no aterro é a mistura entre o biogás obtido com a decomposição anaeróbia dos resíduos sólidos e compostos voláteis liberados pelos mesmos. A grande diversidade microbiana que participa da cadeia alimentar nos resíduos gradualmente degrada as moléculas complexas a uma mistura de CH_4 e CO_2 sob condições ambientais e internas favoráveis (WIRTH *et al.*, 2012). Esse gás pode ser drenado através de tubulações adequadas

e encaminhado para queima ou eventual aproveitamento energético de gás (SOUTO, 2009). A recuperação de energia a partir da fração orgânica dos resíduos sólidos tem um grande potencial de redução das emissões de gases do efeito estufa (KIM *et al.*, 2013).

O lixiviado é o resultado da mistura da água da chuva que infiltra e percola através dos resíduos com os produtos da degradação biológica da massa orgânica do resíduo (KJELDSEN *et al.*, 2002; BOUMECHHOUR *et al.*, 2013). A formação de lixiviado representa risco ambiental e tem sido identificado na literatura como fonte de poluição das águas superficiais e subterrâneas (ZHAO *et al.*, 2013), apresentando elevadas concentrações de matéria orgânica, metais pesados, ácidos, sais e microrganismos (VILAR *et al.*, 2013) e com um potencial de contaminação bem maior do que o de muitos despejos industriais (SILVA *et al.*, 2007).

A fração orgânica dos resíduos é um substrato complexo e requer uma via metabólica que transforme estes compostos em subprodutos menos complexos antes da conversão final em metano (MONTEIRO *et al.*, 2006). Senior (1995) ressalta que quando os resíduos sólidos municipais entram num aterro eles têm um conteúdo grande de sólidos suspensos e matéria orgânica solúvel suspensa. Dentre os principais componentes da matéria orgânica biodegradável estão os carboidratos, as proteínas e os lipídios. Após o resíduo ser enterrado, uma série de eventos químicos e biológicos dá inicio ao processo de transferência de massa do resíduo para a água percolante, de onde o lixiviado se origina. A quantidade e a composição do lixiviado gerado variam ao longo das fases e refletem qual processo microbiológico está acontecendo no aterro (MATA-ALVAREZ, 2002). Esses dados são importantes, pois indicam a quantidade de matéria orgânica disponível para a biodegradação (SANTOS, 2010).

Kjeldsen e outros (2002) dividem os processos de biodegradação em duas fases: aeróbia e anaeróbia. Assim que o resíduo é enterrado, um período de aclimatação é observado, e corresponde à fase em que ocorre um acúmulo suficiente de umidade e oxigênio que suportam a atividade microbiana. Durante esse primeiro estágio de decomposição, o oxigênio presente nos espaços entre os resíduos recém-enterrados é rapidamente consumido por microrganismos aeróbios, resultando na produção de dióxido de carbono, água e no aumento da temperatura. O lixiviado produzido nessa fase é caracterizado pela dissolução dos sais inorgânicos altamente solúveis inicialmente presentes no aterro e pequenas quantidades de matéria orgânica oriunda da degradação aeróbia (SENIOR, 1995). Uma fase de transição se instala quando o oxigênio se esgota e o resíduo torna-se anóxico com mudança de aceptores de elétrons, do oxigênio para os nitratos e sulfatos (MATA-ALVAREZ, 2002).

A fase anaeróbia é subdividida em quatro estágios: hidrólise, acidogênese, acetogênese e metanogênese (POHLAND e HARPER, 1985). Rich e outros (2008) acrescentam uma quinta etapa, a estabilização biológica, que corresponde ao término da atividade microbiana anaeróbia. Durante a vida de um aterro, essas fases não são tão bem distintas, à medida que sempre há o aterramento de resíduos sólidos novos, causando grande variabilidade na idade do material disposto. Nesse sentido, é possível encontrar as quatro fases ocorrendo simultaneamente em um único aterro (KJELDSEN; CHRISTENSEN, 2001).

A fase de hidrólise é o início do processo de decomposição anaeróbia. Com a diminuição da quantidade de oxigênio, começam a predominar microrganismos anaeróbios facultativos, ou seja, aqueles que não usam oxigênio preferencialmente na decomposição da matéria orgânica. Essas bactérias convertem o material orgânico particulado, como a celulose e outros, em compostos dissolvidos. A água, presente nos resíduos pela umidade inicial e pelas águas que infiltram ou são recirculadas (CUSSIOL, 2005), é importante para o primeiro passo da degradação anaeróbia (hidrólise), promovendo a diluição de agentes inibidores e facilitando a distribuição de microrganismos e nutrientes na massa de RSU (KJELDSEN *et al.*, 2002).

A hidrólise leva a produção de ácidos orgânicos voláteis, amônia, hidrogênio e dióxido de carbono. A decomposição ocorre através da hidrólise dos polímeros e fermentação dos monossacarídeos resultantes a ácidos carboxílicos e alcoóis, caracterizando assim o início da fase acidogênica (MATA-ALVAREZ, 2002). Durante essa fase, que pode durar alguns anos, são produzidas quantidades consideráveis de compostos orgânicos simples e de alta solubilidade, principalmente ácidos graxos voláteis (MONTEIRO *et al.*, 2006).

A conversão desses ácidos e alcoóis a acetato, hidrogênio e dióxido de carbono marca o início da fase acetogênica. Essa fase é executada por uma população microbiana anaeróbia, sendo algumas anaeróbias facultativas responsáveis por reduzir o potencial redox do ambiente permitindo assim o crescimento das metanogênicas (MATA-ALVAREZ, 2002). Frequentemente uma alteração do pH é observada, sendo acompanhada pela mobilização dos metais, tornando o lixiviado, nessa fase, quimicamente agressivo (TCHOBANOGLOUS, 2002). Os subprodutos da etapa anterior agora são consumidos por um consórcio de arquéas metanogênicas e convertidos a gás metano e dióxido de carbono (MATA-ALVAREZ, 2002). As condições redutoras dessa fase irão influenciar na solubilidade dos sais inorgânicos, resultando na precipitação ou dissolução desses compostos. Por exemplo, sulfato e nitrato são reduzidos a sulfetos e amônia, respectivamente.

Observa-se um declínio da DBO e DQO, e uma fração do resíduo permanece inalterada, visto que é composta de polímeros aromáticos, por exemplo, alguns tipos de ligninas (AMARAL, 2007), resultante da biodegradação de componentes vegetais, e ácidos húmicos e fúlvicos, de coloração marrom escuro a preto (SANG *et al.*, 2012). Algumas bactérias do gênero *Pseudomonas* e actinomicetos termofílicos do gênero *Streptomyces* e *Nocardia* são as mais importantes na degradação da lignina (TUOMELA *et al.*, 2000). Sulfeto é formado a partir da decomposição anaeróbia de aminoácidos sulfurados. Apesar de os sulfetos parcialmente escaparem sob a forma de biogás (H_2S), a maior parte permanece dissolvido como S^{-2} (SANG *et al.*, 2012).

A degradação anaeróbia da fração orgânica requer a ação de uma população microbiana variada, consistindo de muitos grupos de estirpes facultativas e estritas (MATA-ALVAREZ, 2002).

A diversidade microbiana é um importante fator no processo de decomposição de resíduos e a avaliação dessa diversidade é um dos principais passos em direção ao entendimento das propriedades metabólicas espécie-específica responsáveis pela decomposição dos resíduos.

3.6.1 Microbiota do lixiviado de aterro.

O grau de conhecimento sobre a composição de microrganismos em lixiviado de aterro é limitado (GRISEY *et al.*, 2010) em comparação às características físicas e químicas deste poluente (BOUMECHHOUR *et al.*, 2013). A quantificação de microrganismos aeróbios e a identificação dos grupos de microrganismos celulolíticos, proteolíticos e amilolíticos através de meios de cultura foi estabelecida por Monteiro e outros (2006) com o objetivo de correlacionar as diferentes fases de degradação dos resíduos sólidos urbanos. Alguns trabalhos têm focado na detecção de grupos de bactérias patogênicas isolados em amostras de lixiviado de aterro, como é caso dos estudos de Efuntoye e outros (2011) demonstrando a capacidade de proliferação e os fatores de virulência de *Staphylococcus aureus* e de *Clostridium perfringens* isolados de amostras de lixiviado. Grisey e outros (2010) utilizaram análises bacterianas para identificar a origem de bactérias patogênicas no lixiviado de aterro e em águas subterrâneas e fazer correlações com a variabilidade sazonal. Umar e outros (2011) estabeleceram uma metodologia de inativação bacteriana do lixiviado de aterro através da cloração utilizando a quantificação de bactérias patogênicas indicadoras, como os coliformes totais e a *E. coli*.

As análises microbianas do lixiviado de aterro revelam um grande número de bactérias patogênicas e oportunistas. Muitas espécies pertencentes aos gêneros *Enterobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella, Salmonella*, *Serratia*, *Proteus*, *Pseudomonas* e *Staphylococcus* tem sido reportadas por diversos autores (ADEYEMI *et al.,* 2007; NASCIMENTO *et al.*, 2009; EFUNTOYE *et al.*, 2011; ZHANG *et al.*, 2011). Coliformes totais, *Escherichia coli*, Enterococos, *Salmonella*, *Pseudomonas aeruginosa*, e *Staphylococcus aureus* são capazes de se desenvolver em lixiviado de aterro e, desta forma, a presença destas populações pode ser discutida no que tange à saúde pública (GRISEY *et al.*, 2010).

No monitoramento do lixiviado dos RSD do município do Rio de Janeiro através de parâmetros bacteriológicos, realizado pela Gerência de Pesquisas Aplicadas da COMLURB, são determinadas as populações de coliformes totais, de *Escherichia coli* e de Enterococos, e a identificação de microrganismos potencialmente patogênicos, como *Salmonella* e outras enterobactérias e *Staphylococcus aureus*. Os resultados desse estudo revelam similaridade nos valores obtidos para o grupo dos coliformes ao longo dos anos de 2004 a 2013. A mesma similaridade foi observada na identificação das enterobactérias, havendo a prevalência de 3 espécies de importância sanitária: *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis* e *Klebsiella pneumoniae* (COMLURB, 2013).

Uchida e outros (2009), na investigação de fontes de poluição ambiental por emissão de sulfeto de hidrogênio em um aterro no Japão, monitoraram as estruturas das comunidades microbianas em amostras de lixiviado durante 8 meses usando a técnica molecular da DGGE (Eletroforese em Gel de Gradiente de Desnaturação), com o objetivo de determinar o impacto da degradação da matéria orgânica nos aterros sobre estas comunidades. Além disso, compostos químicos decorrentes da degradação dos materiais químicos artificiais, como borracha, plásticos, metais, vidros e materiais de construção (entulhos) enterrados no aterro sanitário também foram qualitativamente analisados. Nesse estudo, as análises dos padrões de bandeamento gerados indicaram que as comunidades microbianas habitantes do local eram muito estáveis e que os principais microrganismos apresentavam relação com a família *Comamonadaceae*, que inclui os gêneros *Acidovorax* e *Commamonas* que são conhecidos por desempenharem importantes papéis na biodegradação de compostos aromáticos, na desnitrificação, e na biorremediação de ambientes contaminados. Os autores concluíram que a geração de sulfeto de hidrogênio também pode ser considerada o resultado da adaptação da atividade microbiana ao ambiente alterado.

Através de técnicas moleculares, a natureza da composição bacteriana foi determinada em lixiviados oriundos de diferentes aterros sanitários no Brasil e foi possível

verificar a diversificação do domínio Bactéria, com destaque para o filo Proteobacteria, como o mais abundante (SANTOS, 2010). As Proteobacterias compreendem uma das maiores divisões dentro do domínio Bactéria e representam a grande maioria das bactérias gram-negativas conhecidas. O outro grupo igualmente abundante foi Firmicutes, particularmente, as classes *Clostridia* e *Bacilli*. O estudo das comunidades bacterianas, oriundas de lixiviado de um aterro estabilizado, analisadas por pirosequenciamento, já revelaram a predominância das bactérias sobre os demais microrganismos, destacando *Pseudomonas*, *Lysobacter*, *Bacillus* e δ-Proteobactérias como as responsáveis pela remoção de poluentes (XIE *et al.*, 2012).

3.7 MICRORGANISMOS PATOGÊNICOS EM RESÍDUOS.

Microrganismos patogênicos são aqueles que causam ou são capazes de causar doença. Os resíduos sólidos apresentam composição microbiana variada, sendo possível a ocorrência microrganismos patogêncios como vírus, bactérias, fungos, protozoários e helmintos (vermes), entre outros (UMAR *et al.*, 2011).

Os microrganismos patogênicos presentes nos resíduos sólidos se originam de seres humanos, dos animais, vegetais e solo (AVERY *et al.*, 2012). Também são vias de entrada na massa de resíduos os papéis higiênicos, lenços de papel, fraldas descartáveis, absorventes, preservativos, carcaças e vísceras de animais, alimento deteriorado e outros materiais em decomposição, curativos e resíduos de saúde provenientes de doentes em residências e de fezes *in natura*, humanas e de animais (especialmente cães e gatos), entre outras fontes (SILVA *et al.*, 2011).

A relação entre os microrganismos e os resíduos pode ser interpretada como o ambiente oferecendo as condições propícias para a transferência de genes entre os grupos microbianos que podem lhes conferir características de patogenicidade ou de resistência aos antimicrobianos. Os antimicrobianos são uma classe de fármacos que previnem a proliferação de agentes infecciosos ou microrganismos ou que mata agentes infecciosos para prevenir a disseminação da infecção (CLSI, 2013).

Uma das características mais importantes dos microrganismos de origem hospitalar é a resistência aos antimicrobianos. Esses genes de resistência aos antimicrobianos podem ser transferidos por conjugação, transformação e transdução para bactérias ambientais ou patogênicas adaptadas ao ambiente através do mecanismo de transferência de genes (ZHANG *et al.*, 2012).

Uma vez no meio ambiente, as bactérias podem adquirir genes de resistência a partir de outras bactérias, particularmente, sob a exposição crônica a baixos níveis de antimicrobianos (BROWN *et al.*, 2006; HU *et al.*, 2008; ZHANG *et al.*, 2009; THREEDEACH *et al.*, 2012), o que contribui significativamente para a disseminação de genes de resistência nos ecossistemas. A exposição aos antimicrobianos aumenta o nível de resistência observado até mesmo na microbiota normal de animais e humanos, tendo o sistema gastrointestinal como reservatório potencial de genes de resistência que podem ser transferidos para bactérias patogênicas dentro do próprio hospedeiro (SASAKI *et al.*, 2010). Agentes antimicrobianos utilizados na terapia em seres humanos, bem como os seus resíduos podem chegar ao sistema de esgoto através da urina e das fezes. Suas concentrações nas águas residuárias, embora menores do que as dosagens terapêuticas, são suspeitas de afetar as bactérias sensíveis e selecionar estirpes resistentes (KIM *et al.*, 2013).

Nesse sentido, durante longos períodos de incubação dentro do aterro, é possível que microrganismos possam trocar propriedades de resistência aos antimicrobianos (THREEDEACH *et al.*, 2012). A detecção de estirpes multirresistentes em esgoto doméstico e em lixiviado de aterro pode demonstrar que estes ambientes são altamente favoráveis à proliferação e à transferência de genes, consistindo de uma mistura de microrganismos, nutrientes e substâncias químicas (PRADO *et al.,* 2008). Quando os resíduos oriundos de unidades hospitalares são descartados juntamente com os resíduos comuns em aterros, bactérias entéricas comensais, como *Escherichia coli,* originada de resíduos contaminados por fezes, podem estar expostas a diferentes tipos de medicamentos, incluindo antimicrobianos (CHAGAS *et al.*, 2011).

Bactérias de importância hospitalar, como as enterobactérias e *Staphylococcus aureus*, já foram detectadas no lixiviado produzido a partir de RSS dispostos em aterro sanitário reforçando o papel destes resíduos como reservatórios de patógenos microbianos, bem como, de linhagens resistentes aos antimicrobianos (NASCIMENTO *et al.*, 2009).

Alguns gêneros bacterianos, como enterococos, foram detectados em lixiviado de resíduos sólidos e apresentam capacidade de adquirir a resistência a medicamentos antimicrobianos através de elementos genéticos móveis, tais como plasmídios, transposons, ou através de mutações (WERNERA *et al.*, 2013). Outros microrganismos de importância médica, tais como *P.aeruginosa,* podem permanecer por longos períodos num ambiente líquido, criando rotas de disseminação e se tornando reservatórios ambientais de genes que conferem características de patogenicidade (FUENTEFRIA *et al.*, 2010).

3.7.1 Resistência aos antimicrobianos.

A propriedade de resistência das bactérias aos antimicrobianos é a habilidade de contornar a atividade inibidora ou letal de um agente antimicrobiano (CLARKE, 2009). O desenvolvimento da resistência aos antimicrobianos é uma consequência da exposição do microrganismo aos agentes antimicrobianos e de sua capacidade de se adaptar a mudanças no meio ambiente (KIMBERLY, 2001). A resistência bacteriana frequentemente resulta em falha no tratamento, o que pode ter consequências graves, especialmente em pacientes imunodeficientes.

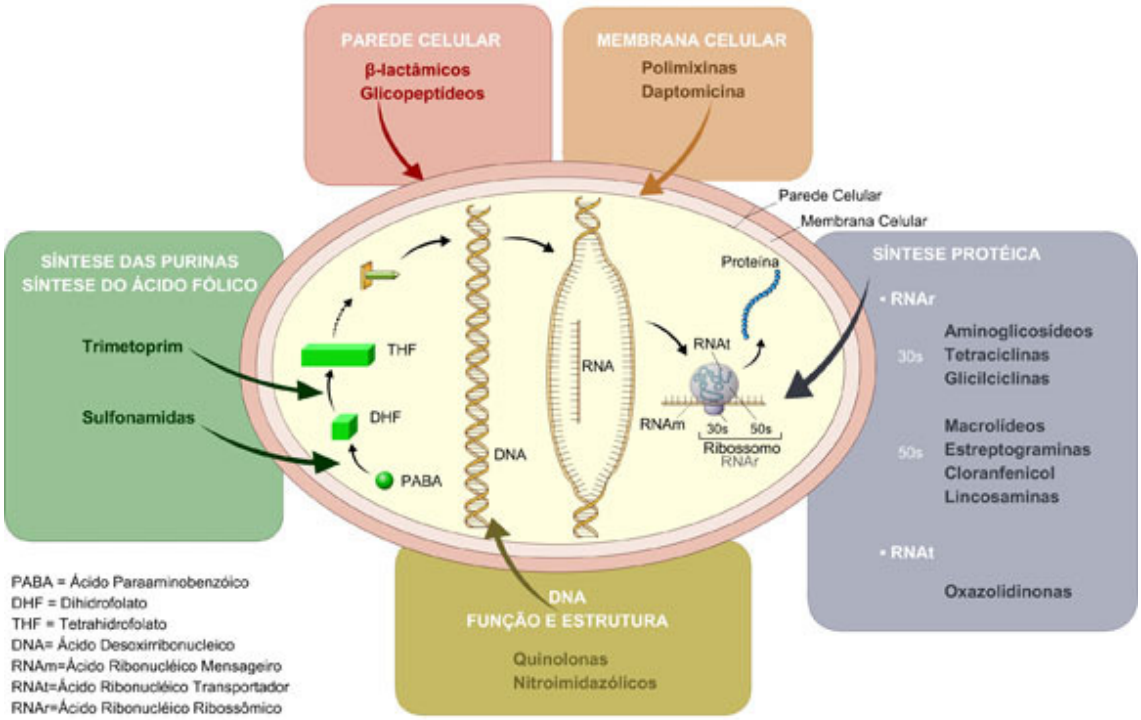
Patógenos resistentes podem se disseminar e se tornar um problema no controle de infecção, não só dentro das instituições de assistência à saúde, mas também em comunidades. Bactérias clinicamente importantes, como por exemplo, *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (MRSA) e *Escherichia coli* produtoras de beta-lactamases de espectro estendido (ESBL) são cada vez mais observadas em pessoas que não tiveram contato com o ambiente hospitalar (CHEN *et al.*, 2009).

É importante distinguir as muitas formas pelas quais um organismo pode demonstrar resistência. Algumas espécies de bactérias são naturalmente resistentes a uma ou mais classes de agentes antimicrobianos. Nesses casos, todas as estirpes da mesma espécie bacteriana são igualmente resistentes a todos os membros dessa classe de antimicrobianos (HU *et al,* 2008). De maior preocupação, são os casos de resistência adquirida, nos quais as populações naturalmente sensíveis de bactérias podem tornar-se resistentes aos agentes antimicrobianos através de mutação, quando ocorre mudança hereditária no genoma do microrganismo, ou através de recombinação, quando a informação genética que codifica a resistência é adquirida de outras bactérias por transformação, conjugação ou transdução (TENOVER, 2006).

3.7.2 Mecanismos de ação dos antimicrobianos sobre as bactérias.

Os agentes antimicrobianos são frequentemente classificados de acordo com seu principal mecanismo de ação na bactéria. Os mecanismos incluem a inibição da síntese da parede celular (por exemplo, beta-lactâmicos e agentes glicopeptídicos), a inibição da síntese de proteínas (macrolídios e tetraciclinas), a interferência com a síntese do ácido nucléico (fluoroquinolonas e rifampicina), a inibição do metabolismo (sulfamaetoxazol-trimetoprim), e a alteração da permeabilidade da membrana bacteriana (polimixinas e daptomicina)

(ANVISA, 2007). A Figura 7 ilustra os principais mecanismos de ação dos antimicrobianos sobre a célula bacteriana.



Fonte: BRASIL (2007). Antimicrobianos – Bases teóricas e uso clínico

Figura 7. Mecanismos de ação doas principais agentes antimicrobianos sobre a célula bacteriana.

3.7.3 Mecanismos de resistência das bactérias aos antimicrobianos.

Com base nas informações apresentadas pela ANVISA (2007), as bactérias manifestam a resistência a agentes antimicrobianos através de mecanismos diversos: a resistência antimicrobiana pode ocorrer pela alteração da permeabilidade da membrana plasmática; os microrganismos podem adquirir genes que codificam enzimas, como as beta-lactamases, que destroem o antimicrobiano antes que ele produza o efeito; outro mecanismo é a bomba de efluxo, no qual o microrganismo é capaz de eliminar o antimicrobiano antes que ele possa chegar ao seu local de destino e exercer o seu efeito; ou ainda, pode haver alteração do sítio de ação do antimicrobiano na célula.

O principal mecanismo de resistência das bactérias Gram-negativas aos antimicrobianos beta-lactâmicos é decorrente da produção de enzimas chamadas beta-lactamases, que impossibilitam a atividade antimicrobiana das penicilinas (ampicilina e cefalosporinas de primeira geração) (TENOVER, 2006). Geralmente, essas enzimas são codificadas por genes localizados em plasmídios capazes de se replicar entre bactérias de

diferentes espécies, assim como entre gêneros distintos (ZEMELMAN *et al.*, 2002). A descrição dessas beta-lactamases entre bactérias antes sensíveis à penicilina representou um marco no cenário da resistência bacteriana e a partir daí, outros agentes antimicrobianos passaram a ser utilizados, inclusive outras gerações de cefalosporinas (PICÃO; GALES, 2007). Como resultado, ocorreu a seleção de estirpes de bactérias produtoras de enzimas beta-lactamases de espectro ampliado, conhecidas como ESBLs cuja ação não se restringe apenas às penicilinas e cefalosporinas de primeira e segunda geração, mas também, sobre as oxiamino-cefalosporinas (Cefotaxima, Ceftazidima, Ceftriaxona) e monobactans (Aztreonam) (STÜRENBURG e MACK, 2003). Os microrganismos produtores de ESBLs são usualmente encontrados no ambiente hospitalar, principalmente nas unidades de tratamento intensivo, mas têm sido também isolados em ambientes cirúrgicos, pediátricos, neonatais, casas de repouso e clínicas de reabilitação (DALMARCO *et al.*, 2006).

A ocorrência de bactérias produtoras de ESBL no efluente e no lodo de estações de tratamento de esgoto hospitalar do Rio de Janeiro, Brasil, foi descrita por Prado e outros (2008) e por Chagas e outros (2011), sendo detectada a presença de *K. pneumoniae* produtora de ESBL. ESBLs foram encontradas em 30-60% de estirpes de *Klebsiella* isoladas em unidades de terapia intensiva no Brasil, Colômbia e Venezuela (CHAGAS *et al.*, 2011). Yang e outros, (2012) observaram a ocorrência, a predominância e a diversidade de genes de resistência aos beta-lactâmicos em lodo de estações de tratamento de esgoto de 15 cidades da China.

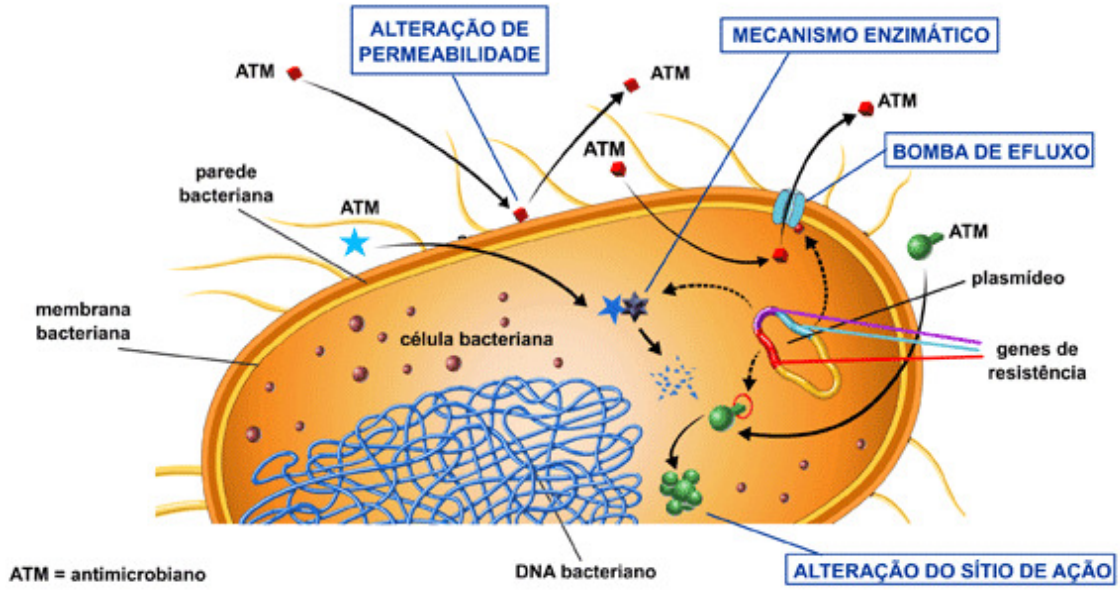
Outro grupo de antimicrobianos beta-lactâmicos, os carbepenens são agentes potentes no tratamento de infecções graves causadas por bactérias Gram-negativas, particularmente, as enterobactérias, mas a sua eficácia tem sido prejudicada pelo surgimento de beta-lactamases capazes de hidrolisar as carbapenemas (carbapenemases) (ZIMMERMAN *et al.,* 2013). Vários tipos de carbapenemases, como a KPC, produzida pela *Klebsiella pneumoniae*, têm sido detectadas em uma variedade de espécies de enterobactérias, em muitos países (ZHANG *et al.*, 2012). *K. pneumoniae* é o hospedeiro mais comum da KPC, mas esta enzima também foi encontrada em várias outras espécies e gêneros da família *Enterobacteriaceae*, incluindo a *Citrobacter freündii*, *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella oxytoca*, *Salmonella enterica* sorovar Cubana, e *Serratia marcescens* (GUPTA *et al.*, 2001).

A detecção de estirpes com alto nível de resistência aos aminoglicosídeos (HLAR) é importante, pois ela indica a perda do sinergismo entre os beta-lactâmicos e os aminoglicosídeos no tratamento das infecções graves por enterococos (CINQUEPALMI *et*

al., 2013). O HLAR é mediado pela aquisição de novos genes que codificam enzimas que promovem modificações na molécula dos aminoglicosídeos, ou resultante de mutações no sítio ribosomal que impeçam a ligação desses agentes ao seu sítio de ação (CATTOIR; LECLERCQ, 2013).

Após mais de 35 anos de uso clínico da vancomicina, sem qualquer aparecimento de resistência, enterococos desenvolveram resistência à este antimicrobiano (MOELLERING, 1998). O mecanismo bioquímico de resistência à vancomicina se deve à produção de precursores do peptideoglicano da parede celular da bactéria alterados nos quais os glicoeptídeos se ligam com baixa afinidade (DEPARDIEU *et al.*, 2007).

A Figura 8 ilustra os principais mecanismos de resistência aos antimicrobianos conferidos pelas bactérias.



Fonte: ANVISA. Mecanismos de resistência antimicrobiana.

Figura 8. Mecanismos de resistência das bactérias sobre os antimicrobianos

3.7.4 Métodos de detecção da resistência aos antimicrobianos.

Desde o trabalho de purificação da penicilina desenvolvido por Alexander Fleming em 1929 (ZANKARI *et al.*, 2013), os métodos fenotípicos, como a disco difusão ou a concentração mínima inibitória (CMI), têm sido a referência na detecção da resistência aos antimicrobianos (BOULOS, 2013). O Teste de Susceptibilidade aos Antimicrobianos (TSA) é uma técnica destinada à determinação da sensibilidade bacteriana *in vitro* frente a agentes antimicrobianos. A realização do TSA ou antibiograma e sua interpretação não é uma tarefa

fácil, por suas limitações e principalmente pela crescente descoberta de novos mecanismos de resistência (ZANKARI *et al.*, 2013).

A metodologia de difusão em disco é a mais difundida e utilizada até hoje na rotina de análises clínicas, devido a sua praticidade de execução, baixo custo e confiabilidade de seus resultados (GISKE; CORNAGLIA, 2010). O TSA é útil para compor a prescrição do tratamento clínico e para monitorar as características de isolados bacterianos, principalmente, os envolvidos em infecções relacionadas à assistência à saúde (ZANKARI *et al.*, 2013), podendo ser qualificado como método de rastreamento rápido, embora de valor limitado, tendo-se em vista a possível associação da resistência com elementos genéticos móveis, como transposons e plasmídios (TENOVER, 2006).

A padronização das metodologias para a realização dos testes de susceptibilidade aos antimicrobianos, bem como, a seleção de drogas, a interpretação de resultados e o controle de qualidade são desenvolvidas pelo CLSI - Clinical and Laboratory Standards Institute, uma organização internacional que promove o uso de normas/padrões e diretrizes de caráter voluntário, voltadas para a patologia clínica e a assistência à saúde pública (CLSI-Clinical and Laboratory Standards Institute, 2013).

3.7.5 Principais microrganismos de importância hospitalar.

Infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS) são causadas por microrganismos presentes na própria microbiota bacteriana humana ou no ambiente hospitalar, ganhando acesso à corrente circulatória e a outros sítios por motivos inerentes ao hospedeiro (LYYTINÄINEN *et al.*, 2002). Dados do International Nosocomial Infection Control Consortium (INICC) de 2010 mostram que *Enterococcus faecium, Staphylococcus aureus, Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* e espécies de *Enterobacter* são as principais espécies comensais envolvidas nas infecções de origem hospitalar na América Latina, Ásia, África e Europa. Recentemente, essas superbactérias têm sido denominadas de microrganismos ESKAPE, enfatizando a sua capacidade para "escapar" dos tratamentos antibacterianos (BASSETTI *et al.*, 2013). Esses microrganismos devem o seu status de superbactérias não à patogenicidade ou à virulência, mas à resistência a múltiplos agentes antimicrobianos (MOELLERING, 1998). Juntas, são a causa de 70-80% das IRAS, e o uso aumentado de antimicrobianos tem forte relação com a emergência desses patógenos multirresistentes no ambiente hospitalar (ROSENTHAL *et al.*, 2010).

3.7.5.1 Enterobactérias produtoras de beta-lactamases de espectro estendido (ESBLs).

A produção de beta-lactamases de espectro estendido (ESBLs) é um dos mecanismos mais importantes de resistência às cefalosporinas de terceira geração conferido pelas enterobactérias, especialmente, pela *Klebsiella pneumoniae* e pela *Escherichia coli* (VESPERO *et al.,* 2007). *K. pneumoniae* é uma bactéria Gram-negativa que pode causar infecções nosocomiais, incluindo pneumonia e bacteremia, ou infecções de sítio cirúrgico, e meningite, com destaque para o desenvolvimento de resistência aos carbapenens, a classe de antimicrobianos beta-lactâmicos de maior espectro de atividade antibacteriana (RASMUSSEN; BUSH, 1997; BOUCHER *et al.*, 2009; DEBBY *et al.*, 2011). As enterobactérias fazem parte da microbiota do intestino humano e são disseminadas no ambiente através das fezes. Nos serviços de saúde, pacientes submetidos a aparelhos invasivos como ventiladores (máquinas de respiração) ou cateteres intravenosos (veia), e os pacientes que estão em antibioticoterapia de longa duração apresentam maior risco de infecções por *Klebsiella* e outras enterobactérias (www.cdc.gov/ncidod/dhqp/index.html).

3.7.5.2 *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA).

A espécie *Staphylococcus aureus* é considerada a espécie patogênica de maior importância em infecções humanas, tanto de origem comunitária, quanto hospitalar (MADIGAN *et al.*, 2010). *S. aureus* é um patógeno versátil, capaz de sobreviver em condições ambientais hostis, colonizando membranas mucosas e pele (STENEHJEM; RIMLAND, 2013). É o patógeno mais isolado em infecções relacionadas à assistência à saúde no Brasil e no mundo, representando 15 a 20% dessas infecções, e o constante aumento nas taxas de resistência a antimicrobianos indica que sua prevalência deve continuar aumentando (CHAMBERS, 2001). A linhagem resistente à meticilina - MRSA ("methicillin resistant *S. aureus*) é um grande problema para o controle das complicações infecciosas, frequentemente adquiridas em hospitais, expressando grande resistência aos antimicrobianos beta-lactâmicos, como a meticilina, a oxacilina, a penicilina, e a amoxicilina, mas também apresentam resistência a antissépticos e desinfetantes, tais como o quaternário de amônio, empregados em ambientes hospitalares (RAMPLING, 2001). Estudos recentes apontam uma estabilização ou declínio na incidência de MRSA nos países europeus, particularmente, na França, sendo o fato atribuído à adoção de medidas de controle de infecção, como a higiene e a assepsia com álcool das mãos dos profissionais da saúde (GBAGUIDI-HAORE *et al.*, 2013).

3.7.5.3 *Pseudomonas aeruginosa.*

Em seres humanos, *P. aeruginosa* causa infecções em indivíduos imunocomprometidos, como pacientes portadores do vírus da AIDS e câncer, vítimas de queimaduras, e portadores de fibrose cística. *P. aeruginosa* também é comumente encontrada em infecções hospitalares, sendo capaz de se aderir a diversos materiais, contaminando tubulações, catéteres, ventiladores, próteses e lentes de contato (CASTRO NETO, 2003). Uma característica marcante das infecções por *P. aeruginosa* adquiridas em hospitais é a multirresistência (NOUÉR, 2006). Os percentuais de resistência são mais elevados nas amostras isoladas nas UTIs, refletindo maior intensidade de uso de antimicrobianos nesse ambiente, e, possivelmente, transmissão de estirpes multirresistentes entre os pacientes (FRIDKIN E GAYNES, 1999). Resistência a ciprofloxacina, imipenem, ceftazidima e piperacilina em amostras de pacientes internados em UTIs chega a ser de 1,5 a 3 vezes maior do que nas amostras de pacientes internados em enfermarias e ambulatórios (www.cdc.gov/ncidod/dhqp/index.html).

3.7.5.4 Enterococos resistentes à Vancomicina (VRE).

Como patógenos nosocomiais, os enterococos podem causar endocardites, bacteremias, infecções no trato urinário, sistema nervoso central, intra-abdominal e pélvica, além do microrganismo portar resistência múltipla aos antimicrobianos, especialmente à vancomicina e à altos níveis de aminoglicosídeos (HAN *et al.,* 2011). Dos Enterococos reconhecidos atualmente, *Enterococcus faecalis* e *Enterococcus faecium*, são as causas mais importantes de infecções em seres humanos (JACKSON *et al.*, 2012). Recentemente, os enterococos foram classificados como o terceiro agente patogênico nosocomial mais comum, precedido pelos estafilococos coagulase negativa e pelo *Staphylococcus aureus*, e o segundo mais comum responsável por bacteremias em Unidades de Tratamento Intensivo (KUCH *et al.*, 2012). A maioria dos enterococos resistentes à vancomicina pertence à espécie *E. faecium* (CATTOIR E LECLAIRCQ, 2013).

3.7.5.5 *Acinetobacter baumannii.*

Acinetobacter é um grupo de bactérias encontrado no solo e na água. Surtos de infecções por *Acinetobacter* ocorrem tipicamente em unidades de terapia intensiva e em pacientes imunossupressivos. A espécie *A. baumannii* é responsável por cerca de 80% das infecções relatadas, sendo considerado um patógeno nosocomial emergente, em todo o mundo (www.cdc.gov/ncidod/dhqp/index.html). Infecções por *Acinetobacter* raramente ocorrem fora

do ambiente hospitalar (MARTINS *et al.*, 2013). O aumento do uso de antibióticos de amplo espectro, tais como carbapenens foi seguido por um aumento dramático na resistência a estes antimicrobianos durante a última década, deixando limitadas as opções para o tratamento de infecções graves causadas por *A. baumannii* (POVILONIS *et al.*, 2013).

3.8 PRINCIPAIS MICRORGANISMOS INDICADORES DE CONTAMINAÇÃO AMBIENTAL.

A detecção de microrganismos patogênicos não é utilizada para fins de monitoramento em amostras ambientais. Por esse motivo, uma das estratégias mais viáveis para o controle de qualidade microbiológica nestes tipos de amostras é a avaliação da presença dos microrganismos indicadores de contaminação fecal. Esses microrganismos devem possuir uma série de características, dentre elas, estar presentes em grandes quantidades em fezes humanas e de animais de sangue quente, não se multiplicar em águas naturais e ser detectáveis por métodos laboratoriais simples e rápidos (CETESB, 2007). As bactérias indicadoras de contaminação ambiental não necessariamente representam risco para a saúde em si, mas a sua detecção implica a potencial presença de bactérias patogênicas (HALLER *et al.*, 2009; UMAR *et al.*, 2011).

3.8.1 O grupo dos coliformes.

Bactérias do grupo coliforme são definidas como bacilos aeróbios e anaeróbios facultativos, Gram-negativos, não formadores de esporos, capazes de crescer na presença de concentrações relativamente elevadas de sais biliares e fermentar a lactose na temperatura de 35°C – 37°C, com formação de ácido, gás e aldeído, em 24 a 48 horas (CETESB, 2007). A detecção de coliformes totais é útil para indicar a presença de indicadores de poluição fecal. No entanto, o emprego da quantificação da *Escherichia coli*, em complemento aos coliformes totais, melhora de maneira significativa a detecção da contaminação de origem fecal (GRISEY *et al.*, 2010).

3.8.2 *Escherichia coli.*

Escherichia coli são bastonetes Gram negativos, pertencentes à família *Enterobacteriaceae*. São amplamente utilizados como indicadores de contaminação fecal nos cursos d´água (IBEKWE *et al.*, 2011). Esses microrganismos são comumente presentes no trato gastrointestinal de animais de sangue quente, incluindo humanos e são liberados para o meio ambiente através da deposição de material fecal (KAPER, 2004). Como é eliminada em

grande quantidade nas fezes, sua presença no ambiente sinaliza a possibilidade de coexistência de diversos organismos patogênicos de origem humana e fecal e tem sido usada como um indicador de contaminação em rios para monitoramento da contaminação por lixiviado de aterros sanitários (GRISEY *et al.*, 2010) e em águas de abastecimento (ECONOMIDES *et al.*, 2012).

3.8.3 *Salmonella spp.*

Salmonelas são bactérias intestinais (enterobactérias) e vêm sendo empregadas como bioindicadores em microbiologia ambiental. Podem sobreviver durante várias semanas em condições secas e até vários meses na água (GRISEY *et al.*, 2010). São patógenos que estão entre as bactérias mais comumente responsabilizadas pelo elevado número de infecções gastrointestinais. A maioria dos casos em humanos está associada aos sorovares Enteritidis e Typhimurium (ECONOMIDES *et al.,* 2012).

3.8.4 O grupo dos enterococos.

Enterococos são habitantes normais do trato intestinal de seres humanos e animais (SANTOS, 2007) e são encontrados em uma variedade de condições ambientais, tais como esgotos, solo, água e alimentos (DA COSTA *et al.,* 2006; JACKSON *et al.*, 2012). Sua sobrevida no ambiente é maior do que a dos coliformes, o que os torna, além de indicadores de contaminação fecal, excelentes indicadores da presença de vírus (GRISEY *et al.*, 2010). A sua capacidade de sobreviver em uma ampla gama de condições físico-químicas, tais como temperaturas extremas, osmolaridade elevada e a presença de desinfetantes, permite que os enterococos sobrevivam em várias superfícies em hospitais e nas mãos de trabalhadores ligados à assistência à saúde.

3.8.5 *Pseudomonas aeruginosa.*

P. aeruginosa é a espécie bacteriana com a mais ampla gama de habitats, que vive e se prolifera como saprófitas em água e em solos úmidos (BREATHNACH *et al.,* 2012). A sua presença é geralmente abundante em águas residuárias, mas não é um indicador específico de contaminação fecal recente (GRISEY *et al.*, 2010).

3.9 DIVERSIDADE MICROBIANA.

Atualmente, entende-se que o microrganismo é um membro de um complexo de interações em um nicho ecológico, o que é crucial para o entendimento tanto da ecologia quanto da evolução do organismo (GÒMEZ *et al.*, 2010).

A ecologia microbiana é uma ciência que tem como objetivo compreender como as comunidades microbianas interagem entre si e com o ambiente (SANTOS, 2010). Atualmente, os estudos em ecologia microbiana permitem responder a questionamentos, tais como, quais fatores influenciam a diversidade microbiana, quão estáveis as comunidades microbianas se apresentam na natureza e com o que a filogenética microbiana contribui para o funcionamento das comunidades microbianas (RITTMANN, 2006).

Afirmam Rosado e Duarte (2002): A diversidade microbiana é tão vasta quanto desconhecida. Os microrganismos são o grupo mais diversificado e abundante de organismos na Terra (JACKSON, 2012) e com a mais longa história evolucionária (cerca de 3,5 bilhões de anos) (COUTINHO *et al.*, 1999). Sabe-se que um pequeno percentual das espécies bacterianas do planeta foi identificado, deixando vasta porção dessa biota desconhecida e não estudada (AMANN *et al.*, 1995). Segundo Coutinho (1999) somente 1% dos microrganismos presentes no meio ambiente podem ser cultivados por meio de técnicas convencionais de cultivo e de plaqueamento. A utilização de metodologias de cultivo impõe às populações microbianas uma pressão seletiva, impedindo a detecção de muitos microrganismos "não cultiváveis" (ZAK *et al.*, 1994; SANTOS *et al.*, 2009). Torna-se, então, limitante o estudo da diversidade associada a determinado ambiente com a utilização de meios de cultivo seletivos a grupos particulares.

A análise da diversidade em comunidades microbianas complexas pode ser examinada em vários níveis. As análises mais simples usam perfis de DNA para identificar diferenças na composição das comunidades. Abordagens mais refinadas descrevem as diferenças não só na composição da comunidade, mas também na sua organização através da medida do número (riqueza) e abundância relativa de espécies ou filotipos (DUNBAR *et al.*, 2000). As novas tecnologias desenvolvidas têm conferido à diversidade microbiana uma posição prioritária para o avanço da biotecnologia (BASSIN *et al.*, 2011).

3.10 FERRAMENTAS MOLECULARES EM ESTUDOS DE COMUNIDADES MICROBIANAS EM RESÍDUOS.

A evolução da biologia molecular nas últimas décadas propiciou avanços nos estudos da microbiologia ambiental e da ecologia microbiana. A ecologia microbiana

molecular é baseada na compreensão das relações entre microrganismos e suas interações com o ambiente, através da análise de moléculas representativas de organismos (proteínas, enzimas ou ácidos nucleicos) ou de processos por eles desencadeados (SANTOS, 2010).

Os métodos moleculares, independentes de cultivo, em geral utilizam como etapa inicial a amplificação por PCR (Polymarese Chain Reaction) de genes marcadores. Após a extração do DNA total de uma dada amostra, o material extraído serve como molde para a reação de PCR. A região a ser amplificada deverá conter sequências conservadas que irão permitir o pareamento dos iniciadores, e regiões variáveis que serão utilizadas pela filogenia (YE *et al.*, 2012). A extração de DNA de amostras ambientais, com posterior amplificação e análise do material genético, tem sido uma alternativa ou complemento ao clássico método de cultivo e análises fisiológicas de microrganismos (ZILLI *et al.*, 2003; ERCOLINI, 2004).

As principais razões para o uso de técnicas independentes do cultivo são a ausência de conhecimento das condições reais sob as quais a maioria das bactérias está crescendo no seu habitat natural e a dificuldade para se desenvolverem meios de cultura adequados que simulem estas condições (ERCOLINI, 2004). Esse é o caso do lixiviado de aterro, podendo ser considerado um meio de cultivo microbiano de composição e condições indeterminadas e variáveis. Diferentes técnicas moleculares vêm recentemente sendo aplicadas ao lixiviado de aterro, destacando-se: a Análise do Polimorfismo de Comprimento do Fragmento de Restrição (T-RFLP ou TRF – "Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism") (SAWAMURA *et al.*, 2010); biblioteca de clones do gene RNAr 16S (HUANG *et al.,* 2005; LIU *et al.*, 2011), Hibridização fluorescente *in situ* - FISH (SANZ e KOCHLING, 2007), Análise da Restrição do DNA Ribossomal Amplificado (Amplified Ribossomal DNA Restriction Analysis – ARDRA) (WALSH *et al.*, 2002); a Eletroforese do Gel de Gradiente Desnaturante – DGGE (RÖLING *et al.*, 2001; BRAT *et al.*, 2008; MEHMOOD *et al.*, 2009) e pirosequenciamento (SANTOS, 2010).

3.10.1 Eletroforese em gel com gradiente desnaturante – DGGE.

Uma das técnicas mais empregadas nos estudos da diversidade estrutural de comunidades microbianas em amostras ambientais é o padrão de bandeamento por DGGE, associado ao sequenciamento das bandas e análise filogenética (MUYZER *et al.*, 1993; SANTOS;PEIXOTO;ROSADO, 2009).

O princípio da técnica de DGGE-PCR é a separação de fragmentos de DNA por mobilidade, previamente amplificados pela PCR, por eletroforese em gel de poliacrilamida com gradiente linear de desnaturação (ERCOLINI, 2004). Isto é, os fragmentos são

submetidos a um ambiente com níveis crescentes de agentes químicos desnaturantes (ureia e formamida) e a sequência de nucleotídeos definirá o momento em que o mesmo passará de uma conformação helicoidal para uma parcialmente desnaturada, parando a migração. Logo, aqueles que possuem o mesmo tamanho e sequências nucleotídicas diferentes podem ser separados pela diferença na mobilidade das moléculas, assumindo perfis eletroforéticos distintos. O resultado é um perfil eletroforético característico de cada amostra analisada, ou seja, verdadeiras impressões digitais de comunidades microbianas (BASSIN; ROSADO, 2011).

3.10.2 O gene que codifica o 16S RNAr e sua utilização na identificação de espécies bacterianas.

O RNA ribossomal (RNAr) é bastante conservado tanto funcionalmente como em sua sequência e está associado a regiões de moderada variação (WARD E BATESON, 1990). Assim, a comparação de sequências de RNAr se tornou uma poderosa ferramenta para deduzir relações filogenéticas e evolutivas de organismos, assim como, sua própria identificação (PATEL *et al.*, 2000). Como marcador molecular, o gene que codifica o RNAr, o DNAr, tem sido extensivamente aplicado na detecção, identificação e na avaliação da diversidade microbiana em amostras ambientais pelo seu tamanho e por ser melhor manejável experimentalmente (PEIXOTO *et al.*, 2002).

Para a análise de comunidades, tanto o DNA como o RNA podem ser extraídos. Não há nenhum consenso acerca de uma determinada metodologia, mas uma vez que seja selecionada para um projeto, deve ser mantida para garantir a reprodutibilidade dos resultados (MUYZER E SMALLA, 1998). O principal fator que influencia a metodologia de escolha é obter o máximo de lise celular e o mínimo de contaminação química a partir da amostra ambiental. Outros fatores que devem ser considerados são a quantidade de amostra, o tempo para realizar a extração, a habilidade na execução da técnica e os custos (PINHATI, 2008).

Quando se pretende amplificar o DNAr 16S completo, as sequências conservadas do gene são utilizadas para o desenho dos oligonucleotídios iniciadores. De fato, embora existam posições filogeneticamente informativas ao longo de todo o gene, a maior variabilidade se concentra nas primeiras 500 bases nucleotídicas (PATEL *et al.*, 2002). O DNAr 16S tem sido sequenciado para um grande número de linhagens. *GenBank*, o maior banco de dados de sequências, tem aproximadamente 20 milhões de sequências depositadas, das quais 90.000 são referentes ao gene que codifica o RNAr 16S, o que permite a comparação da sequência das linhagens desconhecidas com as sequências disponíveis.

3.10.3 Sequenciamento de fragmentos de DNAr 16S.

A técnica de sequenciamento faz parte da mais recente geração de tecnologias para o estudo de comunidades microbianas em amostras ambientais. As etapas a seguir foram descritas por Shendure; Ji (2008) para a técnica pioneira de sequenciamento de Sanger (1975). Cada ciclo dessa técnica inclui as mesmas etapas da PCR, isto é, desnaturação, pareamento do iniciador e polimerização. Cada etapa de polimerização é aleatoriamente terminada com a incorporação de dideoxinucleotídeos (ddNTPs) marcados com fluorescência. Os dideoxinucleotideos são análogos aos dNTPs normais e diferem apenas pelo fato de não possuírem um grupamento hidroxila no carbono 3' impedindo assim que qualquer ddNTP ou dNTP incorporado à cadeia de DNA crescente participe da ligação fosfodiéster com o nucleotídeo previamente incorporado. A terminação da cadeia ocorre de forma aleatória em qualquer base e em qualquer fita de DNA crescente, resultando em uma mixtura de fragmentos de diferentes tamanhos marcados pela fluorescência do ddNTPs incorporado. A sequência é determinada após a separação desses fragmentos em uma eletroforese de alta resolução executada em gel contido em um capilar. Na saída do capilar os fragmentos marcados são excitados por um laser e o espectro emitido, correspondente ao ddNTP incorporado, é detectado.

Recentemente, a tecnologia de pirosequenciamento vem se destacando por ser um sistema capaz de sequenciar 25 milhões de bases em um período de quatro horas, ou seja, cerca de 100 vezes mais rápido do que o tempo gasto no sequenciamento convencional (ROGERS; VENTER, 2005). Quando utilizada na avaliação das comunidades microbianas em lixiviado de aterro sanitário, a tecnologia de pirosequenciamento revela uma maior diversidade microbiana quando comparada ao sequenciamento tradicional (SANTOS, 2010; XIE *et al.*, 2013).

Conhecer as comunidades microbianas e a prevalência de patógenos e microrganismos resistentes a antimicrobianos nos resíduos sólidos é uma nova área de investigação, particularmente, quando se coloca a questão sobre a periculosidade dos RSS dispostos em aterro, sem tratamento prévio. As informações geradas por esses estudos podem fornecer subsídios para balizar ou se contrapor às legislações ambientais para descarte de RSS e, assim, minimizar os elevados custos de implantação e de manutenção de tratamento e de disposição final diferenciados.

4 MATERIAL E MÉTODOS.

4.1 IMPLANTAÇÃO DAS CÉLULAS EXPERIMENTAIS.

A área destinada à construção das células experimentais situa-se na Usina de Reciclagem e de Compostagem de Jacarepaguá pertencente à COMLURB, no bairro de Vargem Pequena, zona Oeste do Município do Rio de Janeiro (Figura 9).

Figura 9. Usina de Reciclagem e Compostagem de Jacarepaguá da Companhia Municipal de Limpeza Urbana. A elipse amarela indica a área destinada à construção das células experimentais. Fonte: Companhia Municipal de Limpeza Urbana - COMLURB

A construção das células obedeceu aos critérios básicos de construção de aterros sanitários (ABNT- NBR 15849:2010): impermeabilização do solo, compactação dos resíduos, drenagem de lixiviado, drenagem de gases, drenagem de águas pluviais, controle de entrada dos resíduos (pesagem do veículo), a descarga dos resíduos sólidos, espalhamento, a compactação dos resíduos sólidos, o cobrimento com uma camada de solo e monitoramento ambiental.

Para a execução do projeto, foram necessários levantamentos em nível de campo e o estabelecimento de premissas básicas a serem observadas durante a implantação das células, como o controle dos riscos ambientais, da biossegurança ocupacional e da presença de vetores.

Como controles do experimento foram consideradas as etapas de segurança ambiental, que consistiram na montagem da base das células (bermas) e dos taludes com resíduos de material de construção e terra compactados a uma altura de aproximadamente 1 metro em relação ao solo; impermeabilização da base receptora dos resíduos com polietileno de alta densidade; instalação de sistemas de drenagem de lixiviado e de gases com

queimadores; transporte dos líquidos lixiviados à estação de tratamento de esgoto local e monitoramento mensal das águas do rio próximo ao experimento (Rio Calembá)

Com relação à biossegurança ocupacional, todos os colaboradores envolvidos no projeto utilizaram equipamentos de proteção individual adequados para cada fase do experimento.

Durante todas as fases de implantação do projeto, foram realizadas inspeções para verificação de focos de moscas (*Musca domestica* e *Chrisomia megacephala*) e vestígios de roedores (*Rattus rattus, Rattus norvegicus* e *Mus musculus*). Diversos pontos de iscagem para controle de roedores foram instalados no entorno das células, e nos ralos e bueiros próximos. O controle de moscas foi realizado através da aplicação de mosquicida granulado, disposto no entorno das células e pela colocação de painéis de atratividade para estes vetores.

O controle de urubus e garças foi realizado através da manutenção da poda de galhos das árvores próximas ao experimento e instalação de trama de nylon sobre toda a área experimental.

Foram montadas 3 células, dispostas lado a lado, separadas por uma distância de 2,0m de base (talude), numa área plana total de 129m^2, conforme modelo apresentado na Figura 10. Cada célula apresenta as seguintes dimensões: 4,5 m de base menor, 6,0m de base maior, 5,0m de altura e 6,0 m de profundidade, totalizando uma capacidade de volume de 157,5m^3. Para formação dos taludes e das bermas foram utilizados resíduos de construção civil.

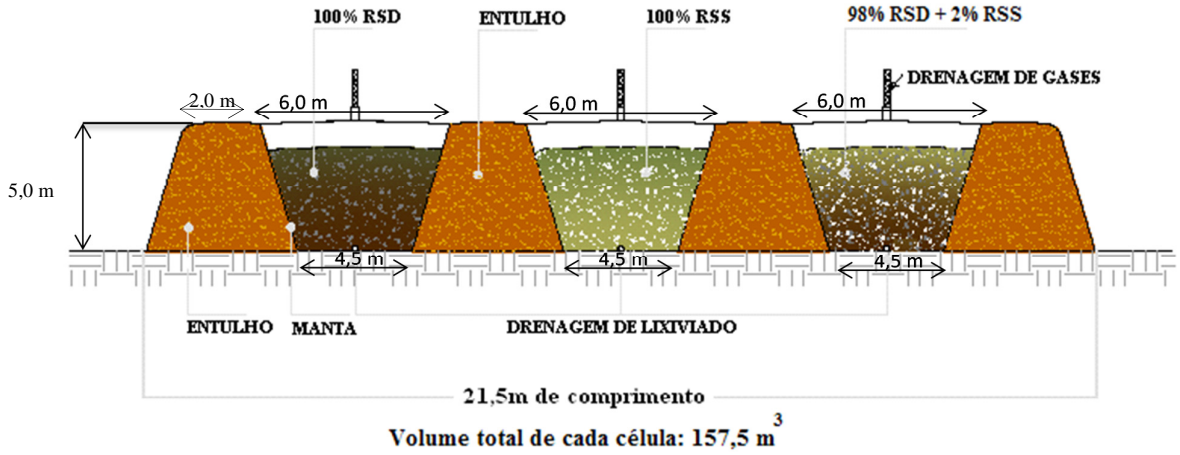


Figura 10. Modelo de aterro experimental. Fonte: Sérgio de Oliveira Cordeiro

Sobre os taludes e as bermas, foi colocada inicialmente uma camada de solo argiloso (cerca de 15 cm de espessura), compactado, para evitar possíveis danos e perfurações na manta impermeabilizadora. As Figuras 11 a 15 ilustram a sequência de atividades.

Figura 11. Disposição de resíduos de construção civil. Fonte: elaboração própria.

Figura 12. Formação do talude e das bermas. Fonte: elaboração própria.

Figura 13. Face interna das células. Fonte: elaboração própria.

Figura 14. Acomodação dos resíduos de construção civil sob a forma de pirâmides. Fonte: elaboração própria.

Figura 15. Vista panorâmica das células. Preparação para recebimento da manta. Fonte: elaboração própria.

A base e as laterais das células foram impermeabilizadas com uma manta de polietileno de alta densidade (PEAD), com 1,0 mm de espessura. A manta foi estendida sobre a área, acompanhando a topografia das células (Figura 16).

Figura 16. Colocação da manta de PEAD sobre as células. Fonte: elaboração própria.

Após a conclusão dessa etapa, as células receberam uma camada de 20 cm de solo argiloso, comprimido sobre a manta com o auxílio de um compactador manual. Com essa medida, os líquidos que percolam verticalmente através da massa de resíduos não conseguem prosseguir devido à camada impermeável de argila (Figura 17) e escoam, horizontalmente, paras as valetas de coleta do lixiviado.

Figura 17. Cobertura de argila sobre a manta PEAD. Fonte: elaboração própria.

As valetas de drenagem foram escavadas manualmente, no centro da célula, com profundidade de 30 cm de largura e 4,0 m de comprimento. Após a impermeabilização com manta PEAD (polietileno de alta densidade), as valetas de drenagem foram preenchidas por uma camada de manta geotêxtil (BIDIM 400, 5 m x 2,5 m). Em sequência, foi instalado o sistema de drenagem, composto por um tubo do tipo canaflex (Figura 18), conectado a um receptor de tubo PVC 50 mm acoplado a uma união-registro de PVC 50 mm e a uma torneira com saída curva de 90° (Figura 19), para coleta das amostras. As valetas contendo os tubos foram preenchidas com brita n◦3 (Figura 20), iniciando com uma altura de 10 cm (parte posterior da célula), e se aprofundando até 30cm (parte anterior da célula). O BIDIM foi, então, dobrado sobre a cama de brita, envolvendo-a completamente. Esse dispositivo além de filtrar o efluente, facilita seu escoamento, evitando a colmatação.

Figura 18. Valeta para drenagem com tubo "canaflex" revestida por manta geotêxtil. Fonte: elaboração própria.

Figura 19. Torneira para coleta das amostras. Fonte: elaboração própria.

Figura 20. Finalização do sistema de drenagem: preparação do leito de brita. Fonte: elaboração própria.

Foram construídos drenos verticais, de seção circular, com tubulação de PVC DN 100 mm perfurada (furos de 3/8 mm), com 2,3 m de comprimento e uma tela de arame de 1 m de largura e 2 m de comprimento. O sistema se estendia desde a base da massa de resíduos a até 20 cm acima da camada superficial de argila. O tubo foi disposto no centro da célula, sobre a valeta de drenagem de lixiviado. Em seguida, a tela de arame foi arrumada em torno do tubo, com uma distância de 10 cm, e suas laterais costuradas com arame de forma a envolver todo o tubo (Figura 21). O espaço entre o tubo e a tela foi preenchido com brita n◦3. Esse trabalho foi realizado na medida em que os resíduos iam sendo depositados, dando suporte ao sistema. Após o enchimento das células e a impermeabilização superficial, foram colocados queimadores de ferro galvanizado acoplados ao tubo de PVC, uma vez que não está prevista a coleta dos gases gerados.

Figura 21. Implantação do sistema de drenagem de gases. Fonte: elaboração própria.

4.2 DISPOSIÇÃO DOS RESÍDUOS NAS CÉLULAS.

4.2.1 Conteúdo das Células.

As células foram identificadas como RSD, para o confinamento exclusivo de Resíduos Sólidos Domiciliares; RSS, para o confinamento exclusivo de Resíduos Sólidos de Serviço de Saúde e COD, como sendo a célula de codisposição destes resíduos. As diferentes concentrações de RSD e RSS em cada célula estão demonstradas na Tabela 3, com destaque para a célula de codisposição, que apresenta a relação percentual real de RSD e RSS coletadas diariamente pela Companhia Municipal de Limpeza Urbana.

Tabela 3. Massa dos resíduos sólidos (ton) destinados ao preenchimento das Células RSD, RSS e COD.

Célula	Massa (ton)	RSD (%)	RSS (%)
RSD	43,350	100	0
RSS	13,680	0	100
COD (RSD+RSS)	42,360 + 0,847	98	2

4.2.2 Obtenção das amostras de RSD.

Em dias típicos de coleta, os RSD chegavam à Usina de Reciclagem e Compostagem de Jacarepaguá em caminhões após cumprir o roteiro em área residencial. Os roteiros eram desenhados com o objetivo de concluir a coleta nos diferentes bairros de cada área de planejamento (APs) do município do Rio de Janeiro, conforme mostra Anexo A (PREFEITURA DA CIDADE DO RIO DE JANEIRO). Essa carga de resíduos era despejada na Estação de Transferência, de onde os resíduos eram retirados e depositados em uma carreta

para serem transportados ao Aterro Metropolitano de Gramacho, município de Duque de Caxias.

Para o experimento, os caminhões de coleta de RSD foram selecionados ao acaso, ou seja, não havia escolha de itinerário. Da balança, os caminhões se dirigiam à área do experimento e todo o seu conteúdo era esvaziado no solo (Figura 22). Com o auxílio de um gadanho, um tipo de ferramenta rural , os sacos para resíduos foram rompidos com o objetivo de expor o seu conteúdo. Isso porque, na prática de manejo dos resíduos acondicionados em sacos plásticos, a exposição do conteúdo se inicia com a compactação realizada pelos compartimentos dos caminhões coletores e termina com a compactação nas células dos aterros.

Figura 22. Caminhão com RSD eliminando os resíduos no solo. Fonte: elaboração própria.

O transporte dos resíduos do solo para o interior das células foi realizado com o auxílio de uma pá mecânica e uma retro-escavadeira.

A Célula RSD recebeu 43,35 toneladas de resíduos, correspondendo a cerca de 4 caminhões de coleta com capacidade de aproximadamente 12 toneladas, conforme mostra a Tabela 4.

Tabela 4. Identificação do roteiro dos caminhões e massa de resíduos destinada à Célula RSD

Roteiro (Bairro de coleta)	Massa de RSD (ton)
Barra da Tijuca	11,97
Recreio	11,24
Recreio	11,36
Recreio	8,78
Total	43,35

A Célula COD foi inicialmente preenchida com 42,360 toneladas de RSD. Os RSS foram depositados por último, sobre a massa de RSD, num total de 0,847 toneladas, correspondendo ao percentual de 2% em relação aos RSD, que é coletado diariamente no município do Rio de Janeiro (Tabela 5).

Tabela 5. Identificação do roteiro dos caminhões e massa de resíduos destinada à Célula COD.

Roteiro (Bairro de coleta)	Massa de RSD (ton)	Massa de RSS (ton)
Recreio	10,55	-
Freguesia	10,22	-
Recreio	9,93	-
Barra da Tijuca	9,66	-
Recreio	2,00	-
Não determinado	-	0,847
Total	43,35	

4.2.3 Obtenção das amostras de RSS

À época do experimento, o destino dos RSS coletados pela COMLURB era a célula especial do aterro de Gramacho, situado no município de Duque de Caxias. Dessa forma, houve uma alteração no roteiro das viaturas que transportam os RSS, que passaram a ir diretamente para a área do experimento após cumprir o roteiro de coleta hospitalar. Os RSS coletados pela COMLURB são oriundos de hospitais e maternidades do município do Rio de Janeiro, de clínicas médicas, de residências onde existam usuários de “home care” e portadores de doenças infecto-contagiosas ou portadores de diabetes. Os resíduos foram expostos através do rompimento dos sacos hospitalares e a pá mecânica realizava a transferência para a base das células.

Os RSS foram depositados na célula conforme coletados nas unidades geradoras e pertenciam aos grupos A, D e E. De acordo com a legislação, os resíduos do grupo A1 não podem deixar a unidade geradora sem tratamento prévio. Essses resíduos são autoclavados, mas deixam as unidades ainda como pertencentes ao grupo A1. Os demais grupos, os quais não se havia exigência de tratamento prévio, foram depositados conforme coletados na unidade geradora. Os RSS do grupo E são descartados em caixas de papelão na unidade geradora e não recebem tratamento prévio à disposição final.

Na Célula RSS foram depositadas 13,680 toneladas de RSS, atingindo a sua capacidade máxima. Para tanto, foram utilizados 48 veículos de capacidade média de 285 kg. Diariamente, eram depositadas cerca de 1,71 toneladas. O sistema foi preenchido com os RSS em 8 dias. A Figura 23 mostra os RSS sendo depositados na célula.

Figura 23. Disposição dos resíduos sólidos de serviço de na Célula RSS. Fonte: elaboração própria.

4.2.4 Composição física dos RSD e de RSS.

A composição física consistiu na determinação das frações percentuais de diferentes tipos de resíduos obtidos por meio de amostragens das coletas realizadas nos seguintes bairros do município do Rio de Janeiro: Barra da Tijuca e Recreio dos Bandeirantes.

Do conteúdo de cada caminhão, foi retirado 1 contêiner de 240L de RSD. Os resíduos foram homogeneizados com o apoio de uma pá mecânica.

As coletas dos RSS foram realizadas em 2 dias consecutivos a partir do roteiro de diversos estabelecimentos relacionados à assistência à saúde.

As amostras foram coletadas segundo o método de quarteamento (ASTM, 2003). Após a homogenização, os resíduos foram divididos em quatro partes iguais. De cada parte desta, retiraram-se duas amostras de posições diametralmente opostas. Cada amostra equivaleu a um contêiner de 200L. O total amostrado nesta etapa foi de aproximadamente 1600L. O procedimento de quarteamento foi repetido por mais três vezes nas amostras fracionadas, com diminuição do total amostrado para 800L, 400L e 200L (amostra final). Da amostra de 200L, realiza-se a separação dos materiais (Figuras 24 e 25) e a diferenciação em 11 componentes:

- Papel
- Papelão
- Plástico (polietileno, polipropileno, poliestireno)
- Vidro (incolor/colorido)
- Metal (ferroso/não ferroso)
- Têxtil
- Matéria orgânica putrescível
- Madeira
- Eletroeletrônico
- Materiais inertes
- Outros.

Figura 24. Processo de determinação da composição física através do método de quarteamento. Fonte: elaboração própria.

Figura 25. Plataforma de separação dos resíduos. Fonte: elaboração própria.

Após a separação, os materiais segregados foram pesados individualmente em balança analítica (Toledo® 25 kg), obtendo-se as frações dos itens identificados nas amostras. Em seguida, os resíduos utilizados na caracterização foram devolvidos à pilha de resíduos destinada a cada célula.

4.2.5 Caracterização dos materiais potencialmente infectantes ou químicos presentes nos RSD.

Os componentes separados pela metodologia proposta neste projeto para a determinação da composição física dos RSD foram avaliados quanto à presença de materiais potencialmente infectantes ou químicos, sendo caracterizados pela presença de elementos previamente determinados, como mostra o Quadro 1:

Quadro 1. Caracterização dos componentes físicos dos RSD quanto à presença de materiais potencialmente infeciosos ou químicos.

Componente	Caracterização por material potencialmente infeccioso ou químico
Papel	Papel higiênico;Toalha de papel
Plástico	Seringa descartável;Aparelho de barbear; Hastes flexíveis; Frascos de soro; Absorvente; Fralda descartável; Luvas de tintura de cabelo; Aplicador vaginal; Curativos;Frascos de produto químico
Vidro	Cacos; Ampola; Lâmpada; Frascos de medicamentos
Matéria orgânica putrescível	Fezes de animais; Carcaças; Partes de animais
Metais	Agulha; Alfinete; Lata aberta; Prego, parafuso, tacha; grampo; Talher; Lâminas de barbear; Vergalhão; Frascos de produtos químicos; Cartela de comprimidos.
Borracha	Luvas de procedimento
Material têxtil	Atadura; gaze; algodão; esparadrapo; estopa
Outros	Areia de gato; cacos de cerâmica, farpas de madeira,

4.2.6 Compactação e cobertura final.

À medida que os resíduos foram depositados, o sistema de drenagem de gases foi erguido e as laterais do talude, impermeabilizadas com PEAD, receberam a camada de argila, compactada manualmente (Figura 26).

Figura 26. Acomodação de argila nas laterais da célula. Fonte: elaboração própria.

O nível de compactação da massa de resíduos e da cobertura superficial, previsto para o dimensionamento das células, foi obtido com a operação de uma pá mecânica e de uma retro-escavadeira (Figura 27). A cada colocação dos resíduos, as pás pressionavam o conteúdo sobre a base das células até a última camada de resíduo e de selagem com argila. O fim da etapa de selagem foi tido como a data de início de operacionalização de cada célula (Figura 28).

Figura 27. Operação com a retro-escavadeira. Cobertura dos resíduos com argila. Fonte: elaboração própria.

Figura 28. Vista panorâmica das células após finalização com argila. Fonte: elaboração própria.

Foram realizadas inspeções visuais diárias com o objetivo de detectar possíveis focos de emissão de lixiviado e de exposição dos resíduos devido ao processo de recalque da massa e/ou pontos de remoção da cobertura argilosa.

4.3 DETERMINAÇÃO DO VOLUME DE LIXIVIADO GERADO NAS CÉLULAS.

Os líquidos lixiviados foram drenados da valeta de coleta através da torneira até o seu completo esvaziamento. Decorridas 24 horas, o procedimento era repetido com a retenção do volume escoado para aferição.

Para entender a correspondência entre a precipitação de chuvas no mês e o volume de lixiviado gerado, foi consultado o site <http/www.2.rio.rj.gov.br/georio/site/alerta/alerta.htm>. A Estação Recreio foi selecionada pela proximidade com a área experimental, cerca de 5,1 Km de distância (Figura 29).

Figura 29. Principais estações pluviométricas localizadas no entorno da área experimental. Fonte:<http://maps.google.com.br/>.

Para a determinação da temperatura do lixiviado na valeta de drenagem foi utilizado um termômetro de mercúrio em vidro, com escala de -10 a 100°C introduzido no volume de líquido tomado para a aferição da vazão. A temperatura no ambiente externo também foi aferida.

Os procedimentos de medição do volume do lixiviado e de aferição da temperatura foram realizados cinco vezes por semana.

4.3.1 Análise estatística dos dados. Cálculo de coeficiente de correlação de Pearson.

Os dados obtidos com a determinação do volume de lixiviado e a precipitação de chuvas no local foram analisados através do coeficiente de correlação de Pearson, que é uma medida de associação entre duas variáveis. Os valores variam de -1 a 1, sendo -1 interpretado como uma associação inversa e 1, como uma correlação perfeita entre as variáveis comparadas. De acordo com Bussab (1987), valores iguais ou maiores do que 0,8 indicam uma tendência a uma associação perfeita, na qual à medida que os valores de uma variável aumentam, aumentam também os valores da segunda variável comparada. O cálculo foi realizado pelo programa Microsoft Excel Windows 7.0.

4.4 COLETA DAS AMOSTRAS PARA ANÁLISES.

4.4.1 Amostras de lixiviado do caminhão de coleta de RSD e de RSS.

As análises foram realizadas com o lixiviado gerado a partir dos resíduos destinados ao preenchimento das células, como se segue:

- ✓ Foram coletadas 8 amostras do líquido gerado a partir da compactação dos RSD nas bacias dos caminhões coletores que forneceram os resíduos para a deposição nas Células RSD e COD. A coleta da amostra está ilustrada na Figura 30.
- ✓ Foram coletadas 8 amostras do lixiviado obtido com os RSS de preenchimento das células, selecionados de forma aleatória nas viaturas de transporte de resíduos especiais. Os lixiviados foram obtidos com base na metodologia AFNOR X-31-210/92 - Essai de lixiviation (CAUDURO; ROBERTO, 2002), como se segue: A amostra (100 g) foi misturada com o fluído de extração (água desmineralizada) na proporção de 1:10. A agitação permitiu um movimento rotacional, com frequência de agitação de 60 ciclos por minuto. A duração do contato da agitação foi de 24 h.

Figura 30. Coleta de lixiviado de RSD na bacia do Caminhão. Fonte: elaboração própria.

4.4.2 Amostras de lixiviado das células

A primeira amostra correspondeu ao líquido gerado 15 dias após a cobertura das células com a camada de argila, conforme está ilustrado na Figura 31. Todas as amostras seguintes foram compostas pelo líquido gerado nas células em 24 horas. As amostras foram coletadas em frascos de polietileno esterilizados contendo tiossulfato de sódio para neutralização de substâncias cloradas. Em seguida, as amostras foram encaminhadas ao

Laboratório de Microbiologia da Gerência de Pesquisas Aplicadas da COMLURB para processamento.

Figura 31. Coleta do lixiviado gerado após 15 dias de confinamento dos resíduos na Célula RSD. Fonte: elaboração própria.

4.5 CARACTERIZAÇÃO DA MICROBIOTA DO LIXIVIADO - MÉTODOS DEPENDENTES DE CULTIVO.

As análises foram realizadas segundo o Standard Methods for the Examination of Water & Wasterwater (2012). As populações de coliformes totais, *Escherichia coli* e enterococos foram expressas em Números Mais Prováveis por 100 mililitros de amostra (NMP100mL-1) e determinadas pela Técnica dos Tubos Múltiplos.

4.5.1 Determinação de coliformes totais e *Escherichia coli.*

O ensaio presuntivo para determinação dos Coliformes totais e *Escherichia coli* consistiu na inoculação de 1mL do lixiviado bruto uma série de 5 tubos de caldo lauril-triptose com tubos de Durhan, seguido da inoculação de 1mL das diluições, variando de 10^{-1} a 10^{-7}, em séries de 5 tubos do mesmo meio de cultivo. Os tubos foram incubados a 35± 0,5°C, durante 24-48 horas. A acidificação com produção de gás a partir da fermentação da lactose em caldo lauril triptose após 24 ou 48 horas (mudança da cor do meio de roxo para amarelo) é prova presuntiva positiva da presença de bactérias do grupo coliforme. Como controle positivo foi utilizada a *Escherichia coli* (ATCC-American Type Culture Collection 25922) e como controle negativo foi empregada a estirpe de *Salmonella enterica* subsp *enterica* sorovar Choleraesuis (ATCC 10408).

As culturas dos tubos que apresentaram resultado presuntivo positivo foram transferidas para tubos, através de alça calibrada para 10µL, contendo caldo de cultura cromo-fluorogênico (Fluorocult LMX, da Merck). Os tubos foram incubados a 35 ± 0,5°C durante 48 horas. A produção de coloração verde azulada nesse meio é prova confirmativa positiva da presença de bactérias do grupo coliforme e a fluorescência, observada através de luz ultravioleta, e o teste do Indol confirmam a presença de *E.* coli. Como controle positivo foi utilizada *Escherichia coli* (ATCC 25922) e como controle negativo foi empregada a estirpe de *Salmonella enterica* subsp *enterica* sorovar Choleraesuis (ATCC 10408). Os resultados foram expressos em Números Mais Prováveis por 100 mililitros de amostra (NMP100mL^{-1}).

4.5.2 Determinação de enterococos

Enterococos foram determinados pela técnica dos tubos múltiplos, conforme descrito para os coliformes e consistiu na inoculação direta do lixiviado e da diluição seriada, em caldo azida dextrose (5 tubos por diluição) acompanhado de incubação a 35 ±0,5ºC por 24-48 horas. A turvação do meio de cultivo é prova presuntiva positiva da presença de enterococos.

A confirmação da presença de bactérias pertencentes ao gênero *Enterococcus* foi realizada com o emprego do caldo Chromocult Enterococci (MERCK, 2000) seguido de incubação a 35 ± 0,5ºC por 24 horas. A coloração azul esverdeado indica a presença de *Enterococcus sp*. Como controle positivo foi utilizada a estirpe de *Enterococcus faecalis* (ATCC 11700) e a *Escherichia coli* (ATCC 25922), como controle negativo. Os resultados foram expressos em Números Mais Prováveis por 100 mililitros de amostra (NMP100mL^{-1}).

4.5.3 Determinação de *Pseudomonas aeruginosa*

Foi determinada pela técnica de tubos múltiplos de acordo com a ISO - International Organization for Standardization - ISO 16266:2006 (CASANOVAS-MASSANA *et al.*, 2010) e consistiu na inoculação da diluição seriada, em caldo asparagina (5 tubos por diluição) acompanhado de incubação a 36ºC ± 0,5/24-48h. Os tubos positivos (produção de pigmento fluorescente esverdeado evidenciado sob luz ultravioleta 365nm) foram semeados em Ágar Cetrimide (MERCK, 2000) e incubados a 36 ºC ± 0,5/24-48h. A confirmação foi dada pela presença de colônias fluorescentes sob luz ultravioleta. Os

resultados foram expressos em Números Mais Prováveis por 100 mililitros de amostra (NMP100mL^{-1}). Como controle positivo, foi utilizada a estirpe de *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 15442) e a estirpe de *Escherichia coli* (ATCC 25922), como controle negativo.

4.5.4 Determinação de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas totais

Foi empregada a técnica do plaqueamento em profundidade com ágar triptona glicose extrato de levedura ("Plate Count Agar") a partir das diluições 10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3} e 10^{-4}. As amostras foram analisadas em duplicata para cada diluição e incubadas 36 ºC ± 0,5/24-48h. As populações de bactérias heterotróficas foram expressas em Unidades Formadoras de Colônias por mililitro de amostra (UFCmL^{-1}).

4.5.5 Pesquisa de enterobactérias

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

As colônias suspeitas foram selecionadas e a identificação das espécies bacterianas foi obtida a partir das características fenotípicas fornecidas por provas bioquímicas convencionais de acordo com o Manual da ANVISA (2013) para detecção e identificação de bactérias de importância médica, que indica os seguintes testes como principais na identificação de enterobactérias: oxidase, fermentação da lactose, fermentação da glicose, descarboxilação da L-lisina, produção de gás, utilização do citrato como única fonte de carbono, produção de indol, produção de gás sulfeto de hidrogênio (H_2S), produção de urease, produção de fenilalanina desaminase e motilidade. Como provas complementares, foram empregados os testes da beta galactosidase (ONPG), descarboxilação da ornitina, fermentação da arabinose e desaminação do triptofano.

A confirmação da identificação foi realizada com o auxílio do programa para detecção das similaridades entre as espécies, oferecido pelo Sistema API.

A pesquisa de *Salmonella* teve por base a ISO 6579:2002. Consistiu no enriquecimento seletivo de 1mL da amostra bruta em 10mL de caldo tetrationato de Kauffmann, adicionado de solução aquosa de iodo e solução de verde brilhante a 0,1% e incubados a 35°C ± 0,5 por 18 a 24 horas. Após incubação, um inóculo do caldo foi transferido para placas com os meios seletivos-indicadores ágar *Salmonella-Shigella* (ágar

SS) e ágar xilose lisina desoxicolato (XLD), seguido de incubação a 35-37°C por 24 horas. Colônias indicativas de *Salmonella* foram confirmadas através de testes de aglutinação em lâmina empregando-se soro polivalente "O" (Probac do Brasil Produtos Bacteriológicos Ltda.).

4.5.6 Pesquisa de *Staphylococcus aureus*

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

A Tabela 6 apresenta o resumo dos métodos dependentes de cultivo empregados em 54 amostras de lixiviado de cada célula. As amostras eram processadas imediatamente após a coleta. A proximidade dos laboratórios com o experimento favoreceu a conservação das amostras.

Tabela 6. Métodos dependentes de cultivo aplicados ao lixiviado das células.

Grupo	Método	Meios de cultivo	Referência
Coliformes Totais e *E. coli*	Tubos múltiplos (quantitativo)	Caldo lactosado Meio cromo-fluorogênico	Standard Methods (2012)
Enterococos	Tubos múltiplos (quantitativo)	Caldo azida; Meio cromo-fluorogênico	Standard Methods (2012)
P. aeruginosa	Tubos múltiplos (quantitativo)	Caldo asparagina - ágar cetrimide	Standard Methods (2012)
Staphylococcus aureus	Enriquecimento	Caldo manitol-sal (ágar manitol-sal-lipovitelino)	Adaptado de MCFADDIN (1977)
Enterobactérias	Pesquisa direta e enriquecimento para *Salmonella*	Tetrationato de KauffmanÁgar EMB, XLD e SS;Provas bioquímicas	CETESB (2007) ANVISA (2013)
Bactérias heterotróficas	Plaqueamento em profundidade	Ágar triptona glicose extrato de levedura ("Plate Count Agar")	Standard Methods (2012)

4.5.7 Análise estatística dos dados

Os dados obtidos com a determinação dos parâmetros microbiológicos foram aplicados em gráficos do tipo Box Plot e submetidos à análise estatística utilizando testes não-paramétricos.

4.5.7.1 Teste de análise da variância de Kruskall-Wallis

O teste estatístico não paramétrico conhecido pelo nome Kruskall-Wallis (1952) avalia as diferenças entre distribuições de três ou mais grupos de amostras independentes extraídas de uma mesma população ou de mais de uma população. Esse teste foi selecionado para avaliar se as variações observadas nas populações de coliformes totais, *E. coli* e Enterococos e *P. aeruginosa*, extraídas aleatoriamente de cada célula de resíduos, corresponderiam às variações esperadas para amostras aleatórias originárias de uma mesma população.

Para tanto, supõe-se que a hipótese nula (H_0) deste teste é verificar se os resultados obtidos nos parâmetros avaliados são iguais nas k amostras com a mesma mediana. Em contrapartida, se a hipótese alternativa (H_1) for aceita, pelo menos um par de grupos de amostra possui medianas diferentes.

As 54 observações foram agrupadas por célula, como está demonstrado no Quadro 2.

Quadro 2. Demonstração do agrupamento das 54 observações.

Célula RSD	X_{11}	X_{12}	...	$X_{1,54}$
Célula RSS	X_{21}	X_{22}	...	$X_{2,54}$
Célula COD	X_{31}	X_{32}	...	$X_{3,54}$

Para aplicar o teste, todas as observações devem ser ordenadas crescentemente (162 observações) em cada parâmetro. As observações foram substituídas por postos (escores). Os escores das 3 células foram colocados juntos e organizados em uma única série de 1 a 162. Foram determinados os valores para a soma dos postos (Rj) e a média dos postos ($\bar{R}_j$) para cada uma das 3 Células. A estatística de teste foi realizada com o auxílio do programa Statistica 5.0.

A hipótese de não diferença entre as amostras foi testada no nível de significância fixado em 5%, ou seja, 95% de confiança no resultado obtido pelo teste. Se o p-valor for menor que o nível de significância pré-estabelecido, significa dizer que rejeita H_0 em favor da H_1.

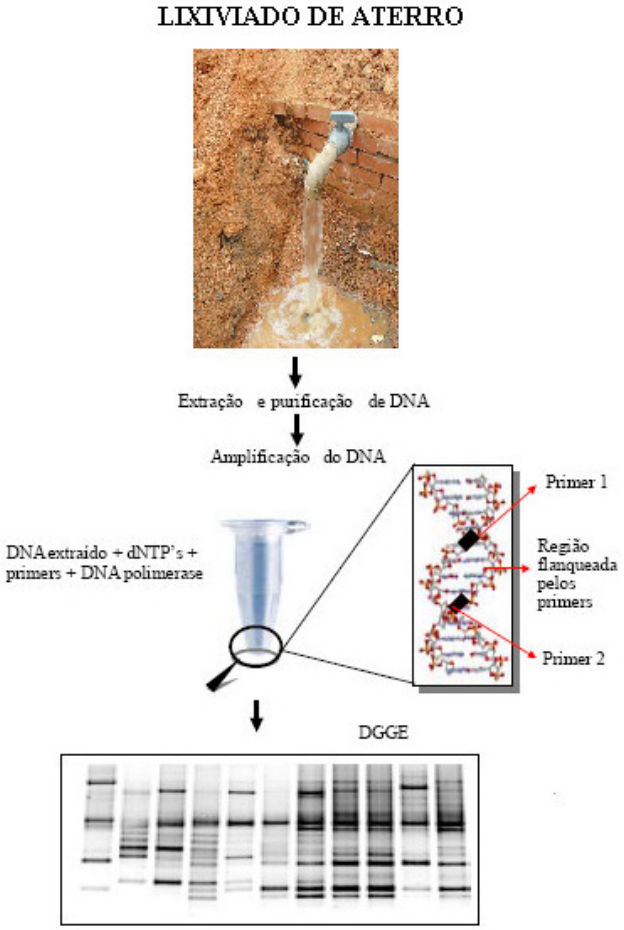
4.5.7.2 Teste de comparações múltiplas

Quando o valor da estatística do teste de Kruskal-Wallis indicar que pelo menos um par de grupos de amostra foi diferente dos demais, deve-se aplicar o teste de comparações múltiplas, como sugerido por Siegal; Castellan (1988).

4.6 CARACTERIZAÇÃO DA MICROBIOTA DO LIXIVIADO - MÉTODOS INDEPENDENTES DE CULTIVO

4.6.1 Eletroforese em gel com gradiente de desnaturação (DGGE)

O protocolo da PCR-DGGE foi conduzido em 6 etapas: coleta da amostra, extração do ácido nucléico, amplificação pela PCR do gene alvo, separação dos amplificados da PCR pela DGGE, visualização dos perfis, e análise de dados, conforme esquema apresentado na Figura 32.



Fonte: Adaptado de PINHATI (2008).

Figura 32. Etapas da análise do lixiviado por DGGE.

4.6.1.1 Coleta das amostras

A coleta das amostras foi realizada como descrito no item 4.4.2, empregando um frasco de 500mL previamente esterilizado por autoclavação e imediatamente encaminhadas ao laboratório (Figura 33).

As amostras de lixiviado foram divididas em 2 alíquotas de 250mL Para cada alíquota foram realizadas duas pré-filtragens com papel de filtro quantitativo de gramatura de 8.0µm (J Prolab) e duas filtragens com membrana de 0.7µm de porosidade (Whatman Schleicher & Schuell, US), ambas a fim de remover os sólidos em suspensão e pequenos eucariotos. Por fim, para a análise da DGGE-PCR, as duas alíquotas de 250mL pré- filtradas foram concentradas em um filtro 0.45µm de porosidade (Whatman Schleicher & Schuell, US). A extração do DNA foi realizada a partir do material depositado no filtro de 0.45µm de porosidade. Em sequência, as amostras foram mantidas a -20°C até a etapa de extração do DNA, que não excedeu 24 horas.

Figura 33. Coleta das amostras de lixiviado das células. Fonte: elaboração própria.

4.6.1.2 Extração do Ácido Nucléico

A extração do DNA total do lixiviado foi realizada através do método de extração direta, segundo o protocolo do Kit FastDNA®SPIN for soil da Bio 101 (Califórnia, EUA). O DNA foi analisado quanto à pureza e eficiência das extrações por meio de eletroforese em gel de agarose 0,8%.

4.6.1.3 Amplificação pela PCR

O DNA obtido a partir das amostras foi então amplificado pela reação de polimerização em cadeia (PCR) usando os iniciadores F968 e 1401R foram combinados em uma reação de PCR a fim de amplificar o segmento compreendido entre os nucleotídeos 968 e 1401 do DNAr 16S. Uma sequência de 31 nucleotídeos (grampo CG) foi adicionada na extremidade 5' do iniciador F968 com o objetivo de melhorar a detecção das pequenas variações nucleotídicas contidas nos fragmentos obtidos durante a DGGE (MUYZER; SMALLA, 1998). A sequência dos iniciadores utilizados está descrita no Quadro 3.

Quadro 3. Sequência de iniciadores empregados na reação de PCR para amplificação de fragmento do gene DNAr 16S.

Iniciador	Sequência nucleotídica
U968F	5' – AAC GCG AAG AAC CTT AC – 3'
1401R	5' - CGG TGT GTA CAA GAC CC – 3'
GC-grampo	5' – CGC CCG CCG CGC GCG GCG GGC GGG GCG GGG G – 3'

As amplificações foram conduzidas no termociclador "Eppendorf Mastercycler® Thermal Cyclers" (Eppendorf, DEU). Cada reação foi realizada em um volume de 50µL em um tubo contendo 5µL do Tampão de PCR com $(NH_4)2SO_4$ 10x, 2,5 mM de $MgCl_2$, 200 µM de cada um dos quatro dNTPs, 0,1µM dos iniciadores, 2,5U de *Taq* polimerase, 1% formamida, 0,5 µL de 1% BSA (New England Biolabs, US), 5µL de DNA e água bidestilada estéril q.s.p 50µL. O ciclo aplicado foi programado para as seguintes etapas: 1x (94˚C/2 minutos); 30x (94˚C/1 minuto, 55˚C/1 minuto, 72˚C/2 minutos); 1x (72˚C por 7 minutos) e 4˚C. Os fragmentos obtidos nas reações de PCR foram submetidos à eletroforese em gel de agarose, corados com brometo de etídio (0,5µg/mL) e as bandas visualizadas sob luz ultravioleta.

4.6.1.4 Separação dos amplificados da PCR pela DGGE

Os experimentos com DGGE foram realizados com o equipamento "Dcode™ Universal Mutation Detection System". Alíquotas dos produtos da PCR (15 – 25µL) foram misturadas com 5µL do corante de corrida e então aplicadas nos géis de poliacrilamida 6% (p/v) em tampão TAE 1X contendo um gradiente desnaturante linear de 45 – 65% (formamida e uréia). O gradiente dos géis foi preparado a partir das soluções estoques 0% e 100% de

desnaturantes (7M de ureia e 40% de formamida deionizada). Foram adicionados 60µl de APS 10%, 30µl de Temed e 50µL do corante "Dcode" à solução 65% desnaturante para visualização do gradiente. O tempo necessário para polimerização do gel foi de, no mínimo, 2 horas. Uma vez polimerizados, os géis foram acoplados ao aparelho de DGGE (Figura 27) e submetidos à eletroforese a 75 Volts durante 12 horas a 60˚C.

Ao término da eletroforese, os géis foram corados com SYBR GREEN® (Invitrogen, US), segundo especificação do fabricante, por aproximadamente 30 minutos, e em seguida observados sob luz UV e digitalizados em um sistema de captura de imagem *Storm*™ (*Amersham Pharmacia* Biotech, UK).

4.6.2 Sequenciamento

As bandas dos géis de PCR-DGGE foram identificadas pela análise da sequência dos nucleotídeos. Para tanto, foram selecionadas as bandas que apresentavam representatividade dentro dos perfis de bandeamento obtidos para cada amostra. Essas bandas foram excisadas do gel de acrilamida e purificadas com o kit Qiaex II DNA extraction (Qiagen), de acordo com as recomendações do fabricante. O DNA eluído de cada banda foi reamplificado com o mesmo par de iniciador, sem o grampo GC e sequenciado no ABI 373 DNA (Applied Biosystems). A identidade das sequências foi determinada pelo algoritmo BLASTN no banco de dados GenBank (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/).

4.6.3 Análise estatística de dados.

As imagens digitalizadas dos géis de DGGE foram analisadas com auxílio do pacote de programas BIONUMERICS 6.0 (Applied Math, BE). A partir do perfil de bandas apresentado nos géis uma matriz de similaridade foi calculada. Foi empregado o coeficiente de Jaccard para o cálculo da distância métrica e o UFGMA ("Unweighted Pair Group Method Average) para a construção dos dendrogramas, que demonstram os agrupamentos existentes e as proximidades entre as amostras avaliadas.

As sequências geradas pelo sequenciamento foram analisadas pelo software Sequencing Analysis 5.3.1 utilizando o Base Caller KB.

4.7 PESQUISA DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA NOS LIXIVIADOS

A atividade antimicrobiana do lixiviado das células foi avaliada com base na metodologia proposta por Barefoot e Klaenhammer (1993). As amostras coletadas das células corresponderam ao depósito de lixiviado no sistema de drenagem durante um período de 24 horas após 810 dias de confinamento. Com o propósito de comparação, a atividade inibitória foi também avaliada na amostra de lixiviado proveniente do Aterro de Seropédica, Rio de Janeiro.

Inicialmente, as amostras foram neutralizadas a um pH 7.0 com solução normal de hidróxido de sódio (NaOH 1N). Para a filtração, uma alíquota de 500ml de cada amostra foi submetida a duas pré- filtragen com papel de filtro quantitativo de gramatura de 8.0µm (J Prolab) e uma filtragem com membrana de 0,45 µm de porosidade (Whatman Schleicher & Schuell, US). A preparação das placas teste consistiu em uma camada de ágar nutriente solidificada, coberta por uma segunda camada de ágar semi-sólido previamente fundido contendo aproximadamente 10^8 células das estirpes-padrão *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 15442) e *Salmonella enterica* sorovar Choleraesuis (ATCC 10708). Após a solidificação, orifícios de 5mm de diâmetro foram feitos no agar e preenchidos com 100µL do filtrado. Em sequência, as placas foram mantidas por cerca de 1 hora sob-refrigeração a 4°C para completa difusão do filtrado no meio de cultura. As placas foram incubadas a 35-37°C por 18-24 horas. A verificação da atividade inibitória foi considerada pela formação de halo de inibição da estirpe-padrão em torno do orifício.

4.7.1 SUSCEPTIBILIDADE DAS ESTIRPES ISOLADAS AOS ANTIMICROBIANOS

Foi determinada utilizando o método de difusão em ágar segundo o CLSI - Clinical and Laboratory Standards Institute (2013). Colônias puras de bactérias provenientes de cultivo recente (18-24 horas) isoladas a partir de meio de cultura não seletivo foram suspensas em solução salina estéril (NaCl 0,85%) até se obter uma turvação compatível com o grau 0,5 da escala Mac Farland ($1,5X10^8$ UFC/mL). Um swab estéril foi embebido na suspensão bacteriana e semeado em seguida de forma suave em todas as direções na placa (cinco direções), procurando abranger toda a superfície. Os discos foram depositados sobre a superfície do meio inoculado. As placas com os discos foram incubadas em estufa bacteriológica a 36°C por 18 a 24 horas.

Com base nos diâmetros dos halos de inibição, as amostras foram definidas como susceptíveis ou resistentes a cada um dos antimicrobianos testados, utilizando-se padrões estabelecidos pelo CLSI (2012). Foram utilizadas as estirpes padrões de *E. coli* (ATCC 25922), *P. aeruginosa* (ATCC 27953) e *S. aureus* (ATCC 25923) como controle de qualidade. No presente trabalho, o perfil de susceptibilidade intermediária foi considerado como resistente.

Para as estirpes de enterobactérias isoladas no lixiviado, foram selecionados os seguintes antimicrobianos (marca: Laborclin) de acordo com CLSI (2013): Ampicilina (10µg); Amoxicilina-Ácido clavulânico (20/10µg); Cefoxitina (30µg); Cefazolina (30µg); Cefotaxima (30µg); Ceftazidima (30µg); Cefepime (30µg); Amicacina (30µg); Gentamicina (10µg); Meropenem (10 µg); Imipenem (10µg); Ciprofloxacina (5µg); Aztreonam (30µg) e Sulfametoxazol-Trimetoprim (25 µg).

Para as estirpes de enterococos isoladas no lixiviado, foram selecionados os seguintes antimicrobianos de acordo com CLSI (2013): Ampicilina (10µg); Oxacilina (10µg); Gentamicina (10µg); Estreptomicina (10µg); Cefoxitina (30µg); Ciprofloxacina (5µg); Teicoplanina (10µg); Sulfametoxazol-Trimetoprim (25 µg) e Vancomicina (30µg). Para a detecção de enterococos HLAR (estirpes resistentes a elevadas concentrações de aminoglicosídeos) foram empregados os discos de Gentamicina (120µg) e Estreptomicina (300µg).

Para as estirpes de *Pseudomonas aeruginosa* isoladas no lixiviado, foram selecionados os seguintes antimicrobianos de acordo com CLSI (2013): Amicacina (30µg); Gentamicina (10µg); Meropenem (10 µg); Imipenem (10µg); Ciprofloxacina (5µg); Aztreonam (30µg); Cefotaxima (30µg); Ceftazidima (30µg); Cefepime (30µg); Piperacilina/Tazobactam (100/10µg).

4.7.1.1 Pesquisa de enterobactérias produtoras de ESBL (enzimas beta-lactamases de espectro estendido)

O procedimento recomendado pelo CLSI (2012) incluiu um teste inicial de triagem por meio de disco difusão através da análise dos halos de inibição obtidos utilizando discos de cefalosporinas de terceira geração e aztreonam. A presença de halos de inibição menores que 22 mm para o disco de ceftazidima (30 µg), < 27 mm para disco de cefotaxima (30µg),< 25 mm para disco de ceftriaxona (30µg) ou < 27 mm para disco de aztreonam (30µg) deve levantar a suspeita de produção de ESBL (CLSI, 2013).

Para confirmação do fenótipo, foi utilizado o teste de aproximação do disco, proposto por Jarlier *et al.* (1988) (ZEMELMAN *et al.*, 2002; DALMARCO *et al.*, 2006). Nesse método, um disco contendo amoxicilina associada ao ácido clavulânico foi posicionado no centro de uma placa de ágar Mueller-Hinton. Ao redor deste, os antimicrobianos marcadores (Aztreonan, Cefepime, Ceftazidima e Cefotaxima) foram posicionados a uma distância de 20 mm do disco de amoxicilina-clavulanato. O aparecimento de uma "zona fantasma" ou o alargamento do halo de inibição da cefalosporina, confirma a produção de ESBL. Como controle positivo do teste, a estirpe padrão *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 700603) foi utilizada, e *Escherichia coli* (ATCC 25922), como controle negativo.

A Figura 34 mostra o teste de disco aproximação positivo para produção de ESBL em *E. coli*. Ainda que não seja a técnica padronizada pelo CLSI, a disco aproximação é utilizada como teste de triagem em diversos estudos com o objetivo de investigar a prevalência de produção de ESBL em bactérias isoladas de amostras clínicas (PICÃO; GALES, 2007).

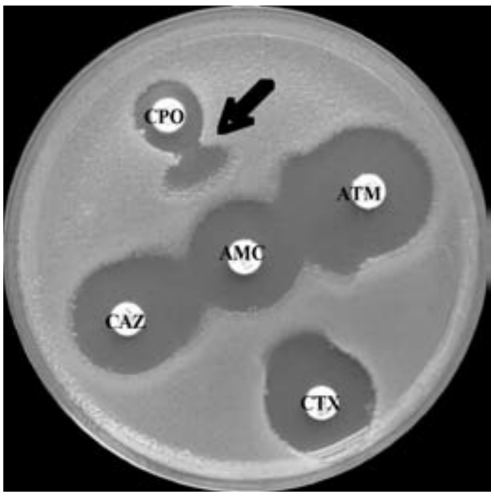


Figura 34. Exemplificação da metodologia de aproximação do disco (Classe A e D de Ambler) baseada no Método de Jarlier (1988).
Na foto foi empregada uma estirpe de *Escherichia coli* produtora da ESBL. AMC = Amoxacilina + Ácido Clavulânico; CTX = Cefotaxima; ATM = Aztreonam; CAZ = Ceftazidima; CPO = Cefpodoxima. A seta negra demonstra o aparecimento do fenômeno conhecido como "Zona Fantasma", que caracteriza a produção de ESBL pela estirpe bacteriana isolada. Fonte: DALMARCO *et al.* (2006).

4.7.1.2 Pesquisa de enterobactérias produtoras de carbapenemases

A triagem foi realizada com base no teste de disco difusão, com resultados de padrão de resistência ou intermediário a imipenem (10µg) e/ou meropenem (10 µg) e padrão de resistência a um ou mais cefalosporinas de terceira geração (ceftazidima e cefotaxima). Para as amostras nas quais o teste de triagem for positivo para produção de carbapenemase,

foi realizado o teste confirmatório fenotípico ou método de Hogde modificado, de acordo com o CLSI (2013). Preparou-se uma suspensão de *Escherichia coli* (ATCC 25922) em soro fisiológico estéril (NaCl 0,9%), a partir de colônias isoladas em placa de ágar não seletivo, ajustada para a escala 0,5 de McFarland. A suspensão foi diluída 1:10 em soro fisiológico estéril. Em seguida, essa diluição foi inoculada na superfície de uma placa de ágar Mueller Hinton. Um disco de Imipenem (10 µg) foi aplicado no centro da placa. Ao redor deste disco, colônias das amostras suspeitas foram inoculadas em uma linha reta de 20mm da borda do disco para fora e incubadas a 37°C por 18 a 24 horas.

O teste é considerado positivo quando houver um alargamento da área de crescimento bacteriano na inserção com o limite externo do halo de inibição. Como controle positivo do teste, a estirpe padrão *Klebsiella pneumoniae* (ATCC BAA-1705) foi utilizada, e *Klebsiella pneumoniae* (ATCC BAA-1706), como controle negativo. A Figura 35 mostra os resultados possíveis para o método de Hodge modificado.

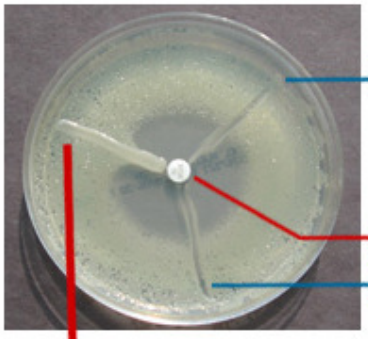


Figura 35. Teste confirmatório para a suspeita da produção de carbapenemases (Teste de Hodge modificado).
***K. pneumoniae* ATCC BAA-1705 é produtora de carbapenemase e por isso há uma ampliação do crescimento bacteriano na margem da zona de inibição. A amostra e o controle negativos não exibem distorções no halo de inibição. Disponível em: <http://www.bionovuslifesciences.com.au/products-and-applications/mbl-products-and-applications/feature> (adaptado).**

4.7.1.3 Detecção de enterobactérias produtoras de AmpC

As ESBLs– Classe Molecular C, de Ambler (AmpC) são também conhecidas como Beta-lactamases cromossomais induzidas. Esse fenômeno foi verificado em nível fenotípico nas estirpes de *K. pneumoniae* através da metodologia da aproximação do disco,

modificada (YAN *et al.*, 2002; DALMARCO *et al.*, 2006). Utilizando-se a mesma metodologia para o teste de suscptibilidade aos antimicrobianos, um disco de cefoxitina (30µg), agente indutor, foi depositado na placa próximo a um disco de aztreonam (30µg) (15 mm de distância entre os discos). O aparecimento de uma zona de entroncamento entre os dois discos é presuntivo da presença de ESBL, da classe C de Ambler, como ilustra o exemplo na Figura 36.

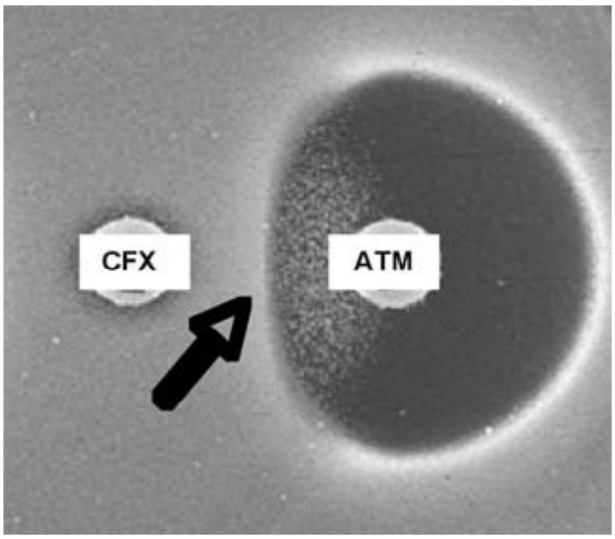


Figura 36. Detecção de Beta-Lactamase do grupo C de Ambler (Induzida).
CFX = Cefoxitina, antibiótico da classe das cefalosporinas (Cefamicina), que é forte indutora da produção de Beta-lactamases do grupo C; ATM = Aztreonam, fármaco beta-lactâmico, o qual, inicialmente a bactéria se mostrava sensível. A seta negra, demonstra a zona onde ocorreu diminuição na sensibilidade (Zona Truncada), causada pela exposição da bactéria ao antibiótico cefoxitina (indutora).

4.7.1.4 Análise estatística dos dados

4.7.1.4.1 Teste de probabilidade exata de Fisher

Este método foi aplicado na verificação das semelhanças entre os perfis de susceptibilidade aos antimicrobianos. Esse teste exige que as amostras sejam aleatórias e independentes, onde as classes sejam mutuamente exclusivas e os níveis de mensuração estejam em uma escala nominal (SIEGEL; CASTELLAN, 2008). Uma grande vantagem deste teste é não haver restrições em relação ao tamanho da amostra de cada célula.

As células foram organizadas duas a duas de acordo com o perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos. Por exemplo, ao analisar a Célula RSD e a Célula RSS, agruparam-se os dados utilizando o Quadro 4.

Quadro 4. Organização dos pares de células de acordo com o padrão de susceptibilidade aos antimicrobianos.

Reação da Bactéria ao antibiótico	Tipos de célula		Total
	Célula RSD	Célula RSS	
Sensível	A	B	A+B
Resistente	C	D	C+D
Total	A + C	B+D	N

O mesmo procedimento foi aplicado na comparação entre as Células RSD e COD e Células RSS e COD para cada antimicrobiano.

A partir das classes obtidas em cada amostra duas a duas calculam-se as probabilidades de homogeneidade entre as amostras a partir das frequências observadas para cada classe, através da distribuição hipergeométrica, dada por:

$$1)\quad P = \frac{(A+B)!(C+D)!(A+C)!(B+D)!}{N!A!B!C!D!}$$

A hipótese de não diferença entre as amostras foi testada no nível de significância fixado em 10%, indicada pelo teste. Se o p-valor for menor que o nível de significância pré-estabelecido, significa dizer que rejeita H_0 em favor da H_1.

Os resultados foram obtidos com o auxílio do programa STATISTICA 5.0

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 IMPLANTAÇÃO DAS CÉLULAS

O termo "Célula" é utilizado aqui para descrever uma unidade de confinamento para disposição final dos "resíduos sólidos", projetada e construída com base no modelo de concepção dos aterros sanitários. Com o objetivo de causar o mínimo impacto ao meio ambiente, as células foram caracterizadas pela presença de uma camada impermeabilizadora e de sistemas de coleta de lixiviado e de gases.

O confinamento de resíduos em uma área de $129m^2$ foi acompanhado durante um período de 810 dias.

No Apêndice A podem ser visualizadas imagens da área das células experimentais após a finalização das coletas (810 dias).

5.1.1 Sistema de impermeabilização de base

Sistemas de impermeabilização são necessários para a confecção de aterros de RSU devido ao elevado potencial poluente do lixiviado, e ao fato de minimizarem a contaminação ambiental (OLIVEIRA E JUCÁ, 2004) e, devido à necessidade de segurança

exigida para sistemas de contenção de resíduos, os estudos sobre a contaminação das águas superficiais e profundas nos arredores dos aterros são cada vez mais explorados (SALEM *et al.,* 2008; ZHAO *et al.,* 2013). As amostras de águas superficiais, à montante e à jusante do aterro experimental, apresentaram valores em acordo com os padrões de lançamento de efluentes segundo a Norma Técnica NT-202, R-10 e DZ-205, R06 do Instituto Estadual do Ambiente (INEA).

5.1.2 Sistema de drenagem de lixiviado

5.1.2.1 Volume de lixiviado

O volume de lixiviado produzido em aterros sanitários, aterros controlados ou lixões depende dos seguintes fatores: precipitação e evapotranspiração na área do aterro; escoamento superficial; infiltração subterrânea; umidade natural da massa de resíduos; grau de compactação dos resíduos; capacidade de retenção de umidade na massa de resíduo (LINS, 2003; RAFIZUL; ALAMGIR, 2012) .

Além desses, a qualidade da operação de um aterro interfere na quantidade de lixiviado produzido. O cuidado operacional com o recobrimento adequado pode diminuir a quantidade de lixiviado a ser gerado, mesmo nas condições de chuvas intensas (GOMES; SILVA; 2005).

No presente trabalho, a geração de lixiviado foi constante e comprova a eficiência do sistema de drenagem e captação instalado nas células. O monitoramento diário do volume de lixiviado gerado está apresentado no Apêndice B do presente trabalho.

A Tabela 7 apresenta as medidas médias mensais de volume realizadas durante o experimento, considerando que as células estavam submetidas às mesmas condições climáticas. Durante as estações menos chuvosas, uma quantidade inferior foi gerada nos sistemas das 3 células e durante os períodos mais chuvosos do ano no município do Rio de Janeiro, os valores atingiram pontos máximos.

Segundo Oliveira e Pasqual (2000), os resíduos sólidos inicialmente absorvem água, até que o material atinja um teor de umidade, conhecido como capacidade de retenção. Entretanto, LINS (2003) afirma que devido à heterogeneidade da massa de resíduos, a percolação poderá acontecer antes que a capacidade de retenção seja atingida, pois alguns dos canais da massa de resíduos podem não absorver a água instantaneamente.

Como fatores de igualdade entre as células podem-se citar: as condições ambientais (precipitação local, temperatura externa e regime de ventos), material da camada de cobertura constante, ausência de camada de cobertura vegetal e os aspectos construtivos

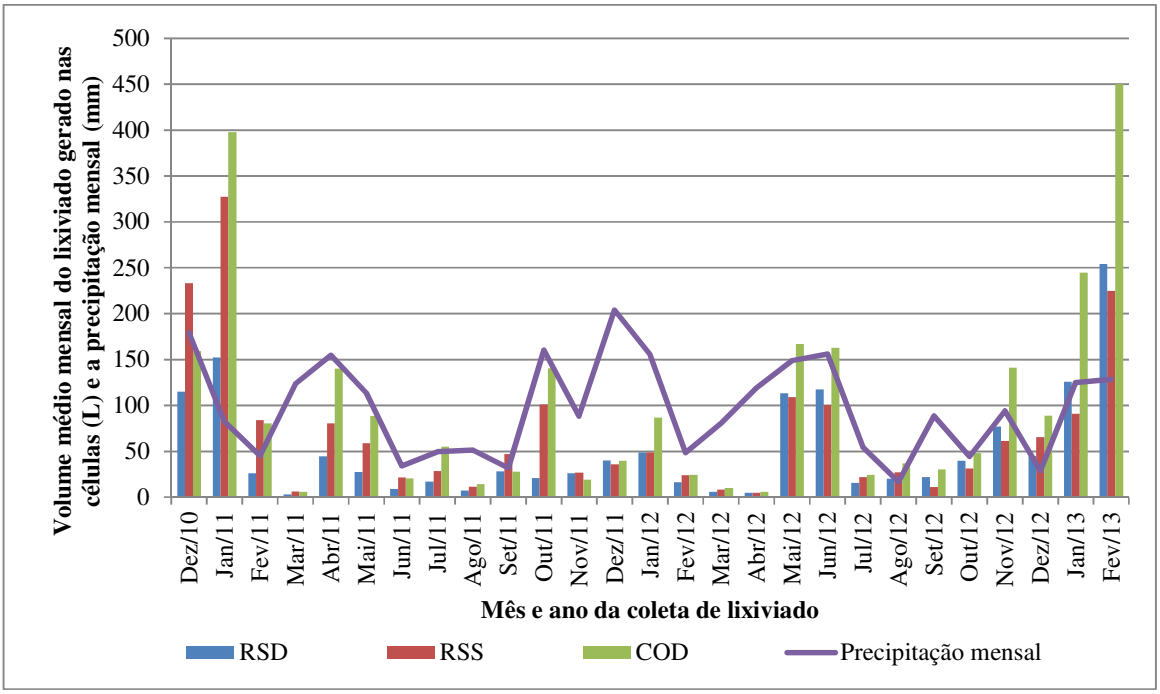
(área ocupada, inclinação do talude, sistema de drenagem e impermeabilização de base). Como variáveis, destacam-se: o percentual de material reciclável e orgânico em cada célula e o grau de compactação dos resíduos e da camada de cobertura.

Tabela 7. Volume médio e número de observações mensais de lixiviado gerado nas células ao longo de 810 dias de monitoramento. Nas estações menos chuvosas, uma quantidade inferior foi gerada nos sistemas das 3 células (meses destacados em vermelho) e durante os períodos em que há grandes aportes de chuva, os valores atingiram pontos máximos (meses destacados em amarelo).

Mês/ano	Número de observações	Volume (L/dia)		
		Célula RSD	**Célula RSS**	**Célula COD**
Dez/10	2	115,0	233,0	159,5
Jan/11	4	152,5	327,5	398,0
Fev/11	2	26,0	84,0	80,5
Mar/11	1	3,0	6,2	5,8
Abr/11	16	44,7	80,4	139,9
Mai/11	20	27,4	58,9	88,6
Jun/11	20	8,9	21,6	20,4
Jul/11	13	17,0	28,6	55,2
Ago/11	18	7,4	11,6	14,3
Set/11	11	28,3	47,0	27,8
Out/11	11	20,7	100,9	140,5
Nov/11	12	26,0	26,9	19,0
Dez/11	16	40,2	35,9	39,6
Jan/12	20	48,9	48,9	87,0
Fev/12	16	16,5	23,9	24,3
Mar/12	16	6,0	8,1	9,9
Abr/12	16	5,1	4,9	6,0
Mai/12	20	113,0	109,2	167,0
Jun/12	12	117,4	100,5	162,5
Jul/12	4	15,8	22,0	24,3
Ago/12	16	19,9	27,2	36,7
Set/12	17	22,0	11,2	30,3
Out/12	13	39,6	31,3	47,8
Nov/12	12	77,0	61,5	141,0
Dez/12	15	45,0	65,5	88,9
Jan/13	15	126,0	91,0	245,0
Fev/13	4	254,0	225,0	450,0
	Média	52,7	70,1	100,4

Como descrito por Rafizul e Alamgir (2012), a produção de lixiviados está fortemente relacionada à precipitação de chuva e ao sistema de cobertura, apesar de não poder ser considerada um fluxo constante. De fato, ao longo do experimento, foi observada associação entre o volume de lixiviado gerado e a chuva percebida no local.

No entanto, o acompanhamento da correlação entre os volumes de lixiviado gerados nas células mensalmente e a precipitação em mm medida na Estação de Pluviometria do Recreio (Rio de Janeiro, RJ), apresentado na Figura 37, não demonstra uma associação direta e imediata em todos os meses observados.



RSD – Resíduos Sólidos Domiciliares RSS – Resíduos Sólidos de Serviço de Saúde COD – Codisposição de RSD e RSS

Figura 37. Relação entre as médias mensais de volumes de lixiviado gerado nas células com a precipitação média mensal (mm) da Estação Pluviométrica Barra/Riocentro.

A análise de correlação de Pearson mostrou fraca correspondência, inferior a 0,35, entre a precipitação de chuva na região e o volume obtido após 24 horas de percolação nas 3 células. Isso pode indicar que a estação selecionada para comparação não refletiu a precipitação real na área do experimento. Outras estações próximas ao experimento (Riocentro e Grota Funda) também foram avaliadas e demonstraram correlação negativa.

Comparando-se os volumes médios de lixiviado gerados no mês através da análise da correlação de pares, nota-se associação positiva perfeita entre os valores (>0,8), indicando que elas se comportaram de modo semelhante quanto à geração de lixiviado.

5.1.3 Sistema de drenagem de gases

O propósito das inspeções foi comprovar que os níveis de produção de biogás se mantivessem baixos, sem risco de combustão ou mau odor.

Neste experimento, não foi detectada a formação de gás inflamável captado pelos sistemas de drenagem em nenhuma das três células. Possivelmente, a geração de biogás foi

pequena e se diluiu na atmosfera. No entanto, o calor desprendido (fumaça) pela massa de resíduos nas células foi notado inicialmente, logo após a cobertura superficial com argila, pela sua liberação através dos drenos. Esse desprendimento inicial de calor corrobora as afirmações de Pohland e Harper (1985), ao avaliar a estabilização dos resíduos em aterro em função do tempo. Segundo esses autores, durante a fase de ajustamento inicial, os microrganismos aeróbios e facultativos degradam a matéria orgânica liberando grande quantidade de calor.

No caso de haver emissão de gás a partir das células, o procedimento adotado seria a queima controlada.

5.2 DISPOSIÇÃO DOS RESÍDUOS NAS CÉLULAS.

5.2.1 Conteúdo das células

Os RSD selecionados para o experimento foram gerados nos bairros correspondentes à Área de Planejamento 4 do município do Rio de Janeiro. Os RSS coletados pela COMLURB foram gerados em hospitais e maternidades, em postos de saúde, centros de saúde, bancos de sangue e em residências com usuários de "home care". Todos esses estabelecimentos eram pertencentes à esfera pública.

A quantidade de massa de resíduos necessária para preencher as Células RSD e COD foi aproximadamente 3 vezes superior à massa de RSS necessária ao preenchimento da Célula RSS. Isso é explicado pelas diferenças das massas específicas dos RSS e dos RSD. A massa específica é a razão entre a massa de resíduos e o volume, geralmente expressa em kg/m^3. Essa característica está relacionada às propriedades de compressão ou compactação dos resíduos. Os RSD depositados nas Células RSD e COD apresentaram massa específica de 320 kg/m^3, enquanto que os resíduos dispostos na Célula RSS apresentaram massa específica de 101 kg/m^3.

5.2.2 Composição física dos RSD e dos RSS destinados às células

A Figura 38 apresenta a composição física dos RSD destinados às células. O maior percentual encontrado entre os componentes dos RSD foi a matéria orgânica putrescível, representada pelos restos de alimentos processados, alimentos fora da validade, cascas de frutas e legumes e fezes. Quanto aos componentes recicláveis dos RSD, o plástico aparece com maior valor percentual dentre os materiais potencialmente recicláveis (19,14%), seguido pelo papel (15,99%).

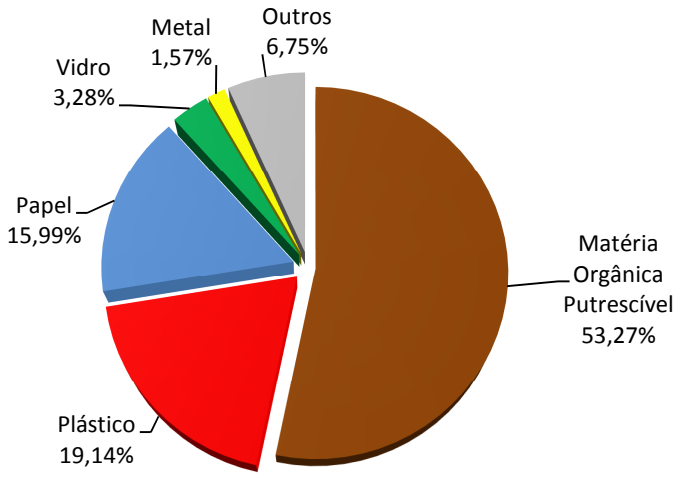


Figura 38. Composição física dos RSD destinados ao preenchimento das Células RSD e COD.

Devido às modificações a que os RSD estão sujeitos, houve a necessidade de verificar se a composição física dos resíduos utilizados no preenchimento das células, originários da Zona Oeste da cidade, era compatível com a dos RSD gerados no município do Rio de Janeiro. Para tanto, foram utilizados os dados apresentados pelo trabalho de composição física dos RSD do Município do Rio de Janeiro dos últimos cinco anos (COMLURB, 2013). A Tabela 2, apresentada anteriormente, mostra o percentual dos componentes identificados nos RSD durante os anos de 2009 a 2013.

O percentual médio de matéria orgânica putrescível do município do Rio de Janeiro nos últimos cinco anos foi de 53,48%, compatibilizando-se com o valor encontrado para os RSD utilizados neste experimento. Do mesmo modo, os percentuais de papel/papelão identificados nos RSD destinados ao experimento (15,99%) e de plástico (19,14%) se encontraram dentro da média verificada ao longo dos 5 anos de pesquisa (Tabela 2). Assim sendo, foi assegurada a semelhança dos resíduos de preenchimento com o que é disposto nos aterros sanitários do Rio de Janeiro.

Quanto aos RSS, a Figura 39 apresenta os percentuais dos componentes identificados nestes resíduos. Do total de materiais recicláveis nos RSS, os produtos plásticos corresponderam a maior fração (38,07%), seguida pelos componentes “Outros” (30,63%). Em contraposição aos RSD, o componente “matéria orgânica” nos RSS, representada por peças anatômicas, sangue, vísceras e restos de alimentos, encontra-se em menor percentual em relação aos materiais recicláveis, contribuindo com 12,61%.

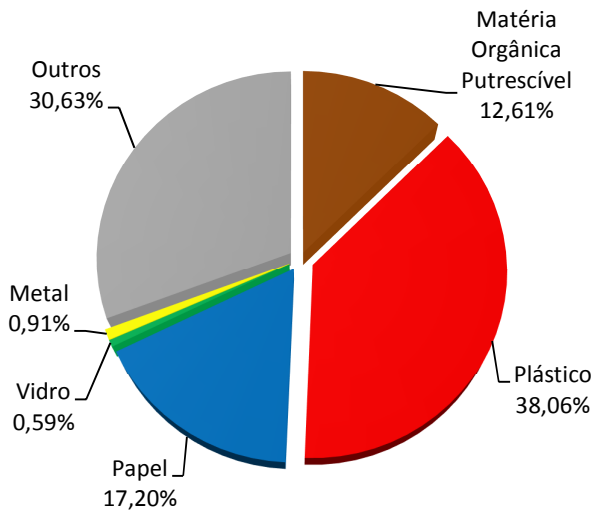


Figura 39 – Composição física dos RSS destinados ao preenchimento das Células RSS e COD.

A Tabela 8 mostra a quantidade de matéria orgânica contida nas células com base no percentual de componentes presentes nos resíduos sólidos destinados aos experimentos. Os valores exibidos demonstram a contribuição de cada célula na disponibilidade de componentes orgânicos no lixiviado que possam influenciar os parâmetros biológicos avaliados neste trabalho.

Tabela 8. Quantidade de matéria orgânica contida nas células.

Célula	Quantidade de matéria orgânica putrescível (ton)
RSD	23,1
RSS	1,7
COD	22,7

As Figuras 40 e 41 mostram o percentual de cada componente identificado nos RSD e nos RSS pertencentes à categoria "Outros". Nessa categoria foram inseridos os componentes que, pela metodologia de caracterização proposta não pertenciam à classificação dos recicláveis, embora alguns deles, como eletroeletrônicos e parafina podem ser reutilizados ou reciclados.

Comparando-se esse componente nos dois tipos de resíduos, nota-se a diversidade de materiais presentes nos RSD (Figura 40), retratando a disponibilidade e a variabilidade de produtos consumidos em domicílio. No RSS, destaca-se a detecção do componente borracha, representado pelas luvas de borracah para procedimentos e garrotes e do componente material têxtil, representado por jalecos em tecido, roupas de cama, atadura e gaze (Figura 41). No aterro sanitário, a presença de materiais como a borracha e a madeira, por serem de difícil

compactação, compromete a cobertura dos resíduos devido a possibilidade de aflorarem nos pontos onde estão aterradas (CUSSIOL, 2005).

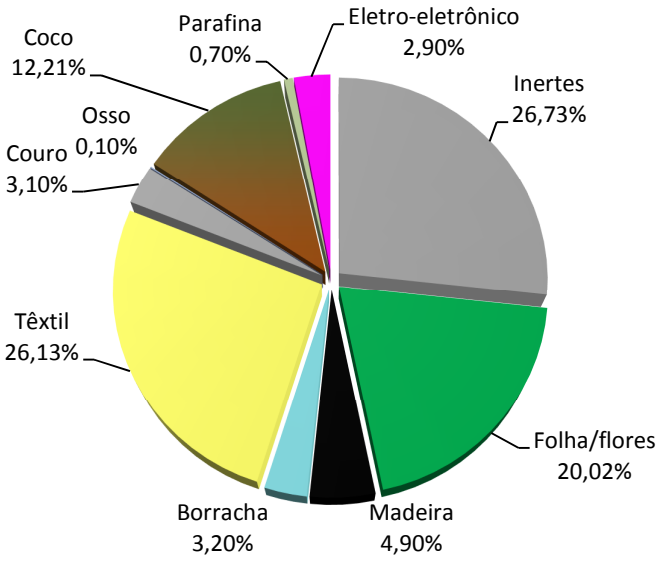


Figura 40 – Percentual de componentes pertencentes à categoria "Outros" identificados nos RSD de preenchimento das Células RSD e COD.

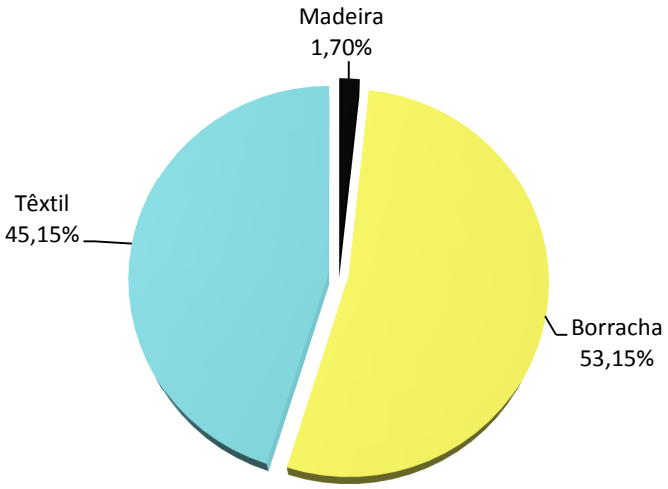


Figura 41 – Percentual de componentes pertencentes à categoria "Outros" identificados nos RSS de preenchimento das Células RSS e COD.

O Quadro 5 apresenta as especificações dos componentes identificados nas amostras de RSD e RSS. Quanto aos RSS, verificou-se que estes resíduos estão representados pelas classes A, B, D e E, segundo a RDC ANVISA 306/2004 e Resolução 358/2005 do CONAMA. Resíduos sólidos comuns (classe D) também foram encontrados junto aos RSS, como garrafas de refrigerantes e embalagens de alimentos. Hossain e outros (2011) investigaram o gerenciamento de RSS em clínicas de assistência à saúde para determinar os

riscos de um manejo inadequado e observaram que a geração de RSS aumentou devido à ampla utilização de produtos descartáveis de uso único e que a sua gestão, especialmente nos países do terceiro mundo, é considerada imprópria já que os materiais clínicos e não-clínicos são misturados antes de serem descartados. A presença de restos de alimentos, potes de iogurte, embalagens de biscoito e garrafas de refrigerante nos RSS revela o mau gerenciamento destes resíduos nos ambientes hospitalares, particularmente, pelo despreparo dos profissionais da saúde.

Quadro 5. Componentes e materiais identificados nos RSD e RSS destinados às células.

Componente	Materiais	
	RSS	RSD
Papel	Papel sanitário, encartes, papel carbono e papel ofício.	Papel sanitário, encartes, jornais, revistas, livros e papel ofício.
Papelão	Cartolina, caixas coletoras de perfurocortante, embalagens e sacolas.	Cartolina, embalagens, sacolas e embalagens assépticas tipo longa vida.
Plástico (polietileno, polipropileno, poliestirene)	Descartáveis (copos, talheres e pratos), embalagem de alimentos (iogurte), frascos de soro, seringas, frascos de solução injetável, frasco coletor de urina e fezes, frascos de álcool e de desinfetantes, embalagem plástica para autoclavagem e garrafas de refrigerante.	Frascos de bebida, alimento, cosméticos e desinfetantes, sacolas e descartáveis (copos, talheres e pratos) e garrafas de refrigerante.
Vidro (incolor/ colorido)	Ampolas de injeção e medicamentos	Garrafas de bebidas, copos, frascos de medicamentos, de condimentos e de cosméticos
Metal (ferroso/não ferroso)	Agulhas, cartelas de comprimidos e latas de bebida	Latas de bebida e de alimentos.
Matéria orgânica putrescível	Peças anatômicas, sangue coagulado, vísceras, restos de alimentos processados.	Restos de alimentos processados, alimentos fora da validade, cascas de vegetais, fezes humanas e animais.
Outros	Esparadrapo, atadura, gaze, avental, jalecos, fraldas em tecido, máscaras, luvas, garrotes, fraldas descartáveis e papéis para fins sanitários.	Tecidos, madeira, velas, louça, cerâmica, borracha, coco, esponjas de limpeza, fraldas descartáveis, equipamentos eletroeletrônicos, celulares, pilhas, baterias, e papéis para fins sanitários.

A Figura 42 (a, b, c e d) mostra os materiais encontrados nos RSS antes da deposição nas células de acordo com o Quadro 5.

Figura 42 – Composição física dos RSS do município do Rio de Janeiro. a) caixas de remédios; b) frascos de soro e seringas; c) caixa de perfuro cortante, garrote, luvas de procedimento, garrafa de refrigerante, embalagem de seringa; d) sangue, embalagem de luva.

Os materiais perfurocortantes estavam adequadamente acondicionados em caixas de paredes rígidas de acordo com a Norma ABNT NBR 13853, de 05/1997 – Coletores para resíduos de serviços de saúde perfurantes ou cortantes, sem ocorrência de recipientes inapropriados. Gomes e Esteves (2012) avaliaram as formas de gerenciamento dos RSS nos municípios da bacia hidrográfica do Rio dos Sinos, Rio Grande do Sul, Brasil e verificaram que 97,9% dos estabelecimentos de saúde pesquisados segregavam os materiais perfuro cortantes de maneira adequada, e os que não o faziam acondicionavam os resíduos em sacos plásticos comuns utilizados para os RSU sem nenhum tipo de identificação. Segundo esses autores, essa situação direciona para um descarte combinado com os RSU, criando situação de risco grave para os funcionários da coleta e gerando impacto ambiental nos locais de destino final.

5.2.3 Caracterização dos materiais potencialmente infecciosos nos Resíduos Sólidos Domiciliares do município do Rio de Janeiro

No contexto do presente trabalho, foi importante destacar a presença de materiais com potencial infeccioso ou perfurante ou escarificante originados em domicílio.

A caracterização da porção infectante dos RSD foi realizada em 858,72kg de RSD coletados em 22 bairros residenciais do município do Rio de Janeiro, conforme análise mostrada no Apêndice C. Cerca de 17% da massa de RSD coletada correspondeu a resíduos com características potencialmente infectantes ou de origem química. Houve predominância do componente plástico como material potencialmente infectante ou químico. As Figuras 43 a 45 apresentam os percentuais de identificação desses materiais de acordo com o componente principal.

Da amostra analisada, cerca de 25% dos componente papel/papelão e plástico foram identificados como potencialmente infectantes ou químicos (Figuras 43 e 44). Sobre a fração orgânica, 2,52% demonstrou característica infectante (Figura 45).

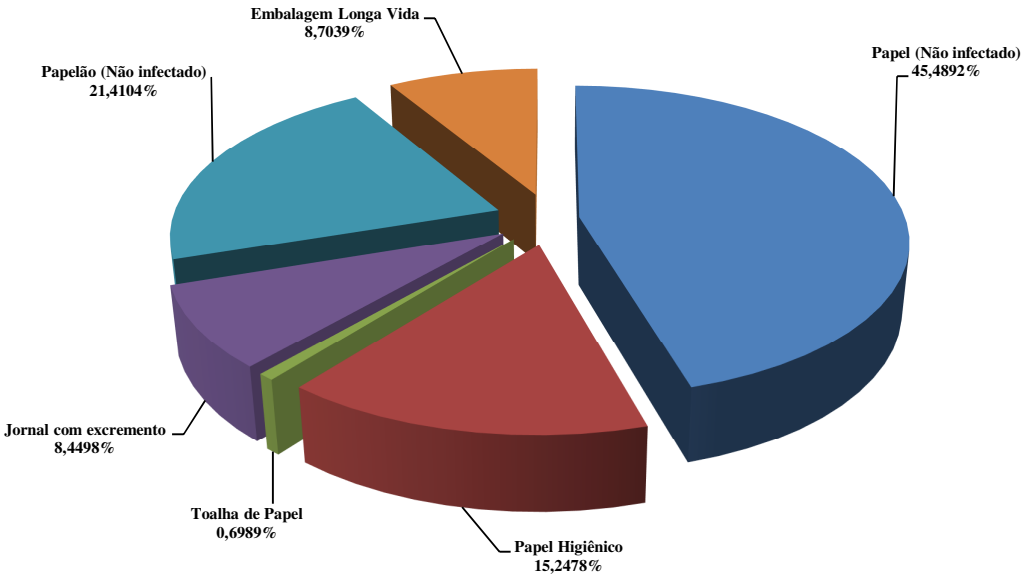


Figura 43. Percentuais de Papel/ Papelão potencialmente infectante e não infectante nos RSD.

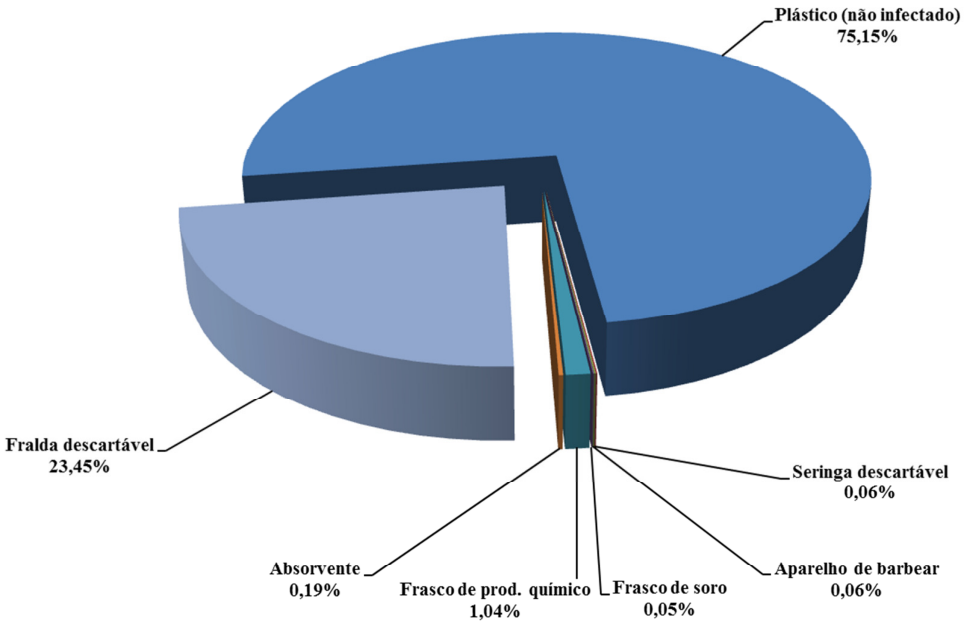


Figura 44. Percentuais de Plástico potencialmente infectante e não infectante nos RSD

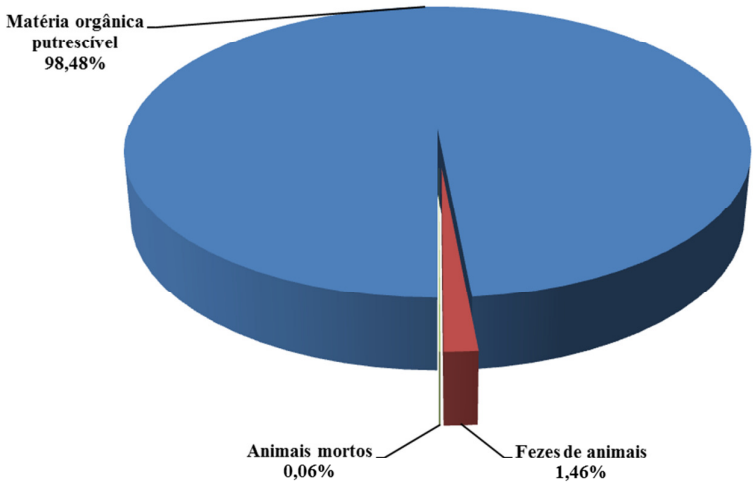


Figura 45. Percentuais de matéria orgânica putrescível potencialmente infectante e não infectante nos RSD

Materias como agulha, lâmina de barbear, aparelho de barbear, aplicador vaginal, seringa e luva descartáveis, hastes flexíveis, luva de tintura, caco de cerâmica e preservativo, foram detectados, mas apresentaram valores percentuais inferiores a 0,01%.

Um estudo realizado por Cussiol (2005) contemplando a composição física dos resíduos potencialmente infectantes presentes nos RSD revelou que 5,49% destes resíduos correspondem a materiais escarificantes e perfurantes, como lâminas e aparelhos de barbear e agulhas e materiais contaminados, como fraldas, absorventes e preservativos.

Com base nas informações das análises de composição dos RSD e dos RSS, ambos apresentaram, em sua composição, medicamentos, drogas, fraldas usadas, absorventes higiênicos, preservativos, peças descartáveis de vestuário, restos alimentares, papéis para fins sanitários, frascos de desinfetantes e outras substâncias químicas, como cresóis e amoníacos, solventes, pigmentos, baterias e materiais perfuro cortantes (agulhas hipodérmicas) e escarificantes (lâminas de barbear).

5.3 CARACTERIZAÇÃO DA MICROBIOTA DO LIXIVIADO – MÉTODOS DEPENDENTES DE CULTIVO

5.3.1 Lixiviado dos RSD e dos RSS antes de serem depositados na célula

5.3.1.1 Análise Quantitativa

Com o objetivo de traçar o perfil bacteriano dos RSD e dos RSS antes de serem depositados nas células, foram determinadas as populações de coliformes totais, *E. coli*, enterococos e *P. aeruginosa,* bem como a identificação de microrganismos potencialmente patogênicos, como as enterobactérias e o *Staphylococcus aureus* em amostras de lixiviado obtidas com os resíduos de preenchimento das células.

Os membros do grupo coliformes são frequentemente utilizados como indicadores de contaminação fecal. Embora os coliformes totais estejam presentes em quantidades elevadas nas fezes de animais de sangue quente, eles também são conhecidos pela origem não fecal e por isso sua ocorrência em ambientes não fecais fazem deles indicadores menos confiáveis de poluição fecal (LECLERQ *et al.*, 2001). *E. coli* é o indicador específico de contaminação fecal presente nas fezes de animais saudáveis de sangue quente, incluindo aves.

A Tabela 9 mostra a média dos valores de NMP $100mL^{-1}$ das análises bacteriológicas do lixiviado de RSD gerado a partir da compactação dos resíduos no caminhão de coleta. A escassez de dados na literatura e referências nas resoluções ambientais

em vigor para lançamento de efluentes dificulta a discussão sobre a presença desses microrganismos no lixiviado de aterro.

Tabela 9. Média das populações de coliformes totais, *E. coli*, enterococos e *P. aeruginosa* no líquido lixiviado de RSD, gerado na bacia do caminhão de coleta com destino às células experimentais.

Parâmetros	RSD		
(NMP 100mL^{-1})	Média	Máximo	Mínimo
Coliformes Totais	$1,7x10^9$	$2,8x10^9$	$2,3x10^8$
E. coli	$5,7x10^8$	$1,7x10^9$	$1,1x10^8$
Enterococos	$2,2x10^9$	$2,2x10^9$	$3,5x10^8$
P. aeruginosa	$1,8x10^5$	$8,0x10^5$	$1,7x10^4$

RSD – Resíduos Sólidos Domiciliares

A Tabela 10 mostra a média dos valores de NMP 100mL^{-1} das análises bacteriológicas do lixiviado de RSS gerado a partir de amostras sólidas antes da deposição nas células experimentais.

Tabela 10. Média das populações de coliformes totais, *E. coli*, Enterococos e *P. aeruginosa* no líquido lixiviado de RSS, a partir de amostras sólidas, coletadas antes da disposição nas células experimentais.

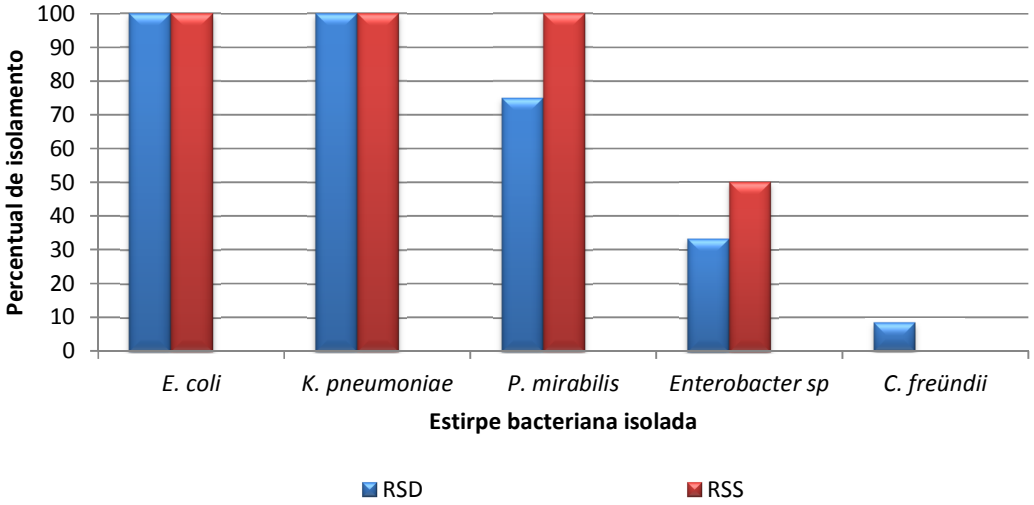
Parâmetros	RSS		
(NMP 100mL^{-1})	Média	Máximo	Mínimo
Coliformes Totais	$1,2x10^9$	$2,8x10^9$	$2,3x10^8$
E. coli	$3,7x10^8$	$1,1x10^9$	$1,1x10^8$
Enterococos	$1,4x10^9$	$3,0x10^9$	$1,9x10^8$
P. aeruginosa	$8,1x10^5$	$3,0x10^6$	$2,8x10^4$

RSS – Resíduos Sólidos de Serviço de Saúde

Escherichia coli está presente em quantidades elevadas nas fezes de humanos e animais e é considerada o indicador ideal de contaminação fecal. A detecção desse microrganismo nos lixiviados das células pode ser explicada pela presença de fezes humanas e animais, papéis para fins sanitários, vísceras de animais, areia de gato e fraldas descartáveis nos RSD e nos RSS, pela presença de fezes humanas, papéis sanitários, fraldas descartáveis, bolsas de colonoscopia.

5.3.1.2 Pesquisa de enterobactérias

A Figura 46 mostra o percentual de incidência das enterobactérias isoladas no lixiviado coletado na bacia dos caminhões de RSD e no lixiviado de RSS. Observa-se a prevalência de *Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae* e *Proteus mirabilis*.



RSD – Resíduos Sólidos Domiciliares RSS – Resíduos Sólidos de Serviço de Saúde

Figura 46 – Percentual de incidência das enterobactérias isoladas no lixiviado dos RSD e RSS antes de serem depositados nas células.

O perfil bacteriano dos lixiviados frescos dos RSD e dos RSS mostrou semelhanças quanto às análises quantitativas e qualitativas com os métodos dependentes de cultivos empregados no presente trabalho. No entanto, os percentuais encontrados para *P. mirabilis* e *Enterobacter sp* foram maiores no RSS, que pode estar relacionado com a origem hospitalar.

5.3.2 Lixiviados gerados nas células

5.3.2.1 Medidas de temperatura e pH

Os resultados de temperatura estão apresentados na Tabela 11. Os valores de temperatura indicam que não houve variações nas 342 medidas de temperatura aferidas diretamente nos líquidos lixiviados das células em 24 horas (Desvio padrão <1). Entre as células, os valores médios podem ser considerados estatisticamente iguais (Célula RSD=29,1±0,80; Célula RSS=28,4±0,52; Célula COD=28,6±0,62). As temperaturas médias dos líquidos lixiviados se encontraram na faixa mesofílica (entre 25 e 45°C), adequada ao crescimento da maioria dos microrganismos patogênicos e dos indicadores de contaminação ambiental.

Tabela 11.Valores de temperatura dos lixiviado das células ao longo de 810 dias de confinamento.

Célula	Número de observações	Temperatura(°C)				
		Média	Mediana	Máxima	Mínima	Desvio Padrão
RSD	342	29,1	29,0	32,0	25,0	0,80
RSS	342	28,4	28,3	31,0	25,0	0,52
COD	342	28,6	28,6	33,0	25,0	0,62

RSD – Resíduos Sólidos Domicliares RSS – Resíduos Sólidos de Serviço de Saúde COD – Codisposição de RSD e RSS

Os resultados de pH estão apresentados na Tabela 12 e no Apêndice D constam as informações das 51 observações. Os valores médios de pH indicam que houve semelhança entre os lixiviados das 3 células. Apenas uma observação de pH igual a 5,8 foi obtida na Célula RSD com 15 dias de confinamento e uma de pH 5,6 na Célula RSS com 45 dias de confinamento, o que pode ser explicado pela característica ácida do lixiviado nas fases iniciais de degradação biológica da matéria orgânica presente nos resíduos sólidos. Excetuando-se essas 2 observações, os resultados de pH do lixiviado gerado nas 3 células, apontam para a faixa ótima de crescimento bacteriano, entre 6,5 e 7,5 (KJELDSEN *et al.*, 2002).

Tabela 12. Valores de pH nos lixiviado das células ao longo de 810 dias de confinamento.

Célula	Número de observações	pH				
		Média	Mediana	Máxima	Mínima	Desvio Padrão
RSD	51	7,0	7,0	7,7	5,8	0,31
RSS	51	6,8	6,8	7,4	5,6	0,28
COD	51	7,2	7,3	7,7	6,7	0,20

RSD – Resíduos Sólidos Domicliares RSS – Resíduos Sólidos de Serviço de Saúde COD – Codisposição de RSD e RSS

5.3.2.2 Colimetria

As observações para os parâmetros biológicos estão apresentados no Apêndice E.

Na Tabela 13 estão apresentados os valores médios e as variações para as populações de coliformes totais nas 3 células. Na Célula RSD, a população de coliformes totais variou de 0 a $8x10^5$ NMP $100mL^{-1}$. Na Célula RSS esse parâmetro variou de 0 a $5x10^5$ NMP $100mL^{-1}$, enquanto que na Célula COD, variou de 0 a $3,5x10^5$ NMP $100mL^{-1}$.

As populações médias de coliformes foram similares entre as 3 células. Como os coliformes totais englobam microrganismos que têm origem ambiental e fecal, além da *E.*

coli, de origem exclusivamente fecal, a detecção deste parâmetro tanto nas Células RSD e COD, como na Célula RSS pode ser atribuída à qualquer material presente nos resíduos, incluindo os alimentos.

Valores inferiores aos obtidos no presente trabalho foram relatados por Umar e outros (2011), na análise quantitativa de indicadores patogênicos em lixiviado de um aterro semi-aeróbio na Malásia, com valores para coliformes totais de $6{,}6x10^3$ UFC $100mL^{-1}$ e para *E. coli*, $1{,}5x10^3$ UFC $100mL^{-1}$.

O aterro metropolitano de Gramacho, situado no município de Duque de Caxias, RJ, foi desativado em 2011 e recebeu os RSU do município do Rio de Janeiro durante 35 anos. As análises bacteriológicas do lixiviado gerado pelo aterro no final de sua operação revelaram valores de $1{,}6x10^5$ NMP $100mL^{-1}$ para coliformes totais, e $4{,}9x10^3$ NMP $100mL^{-1}$ para *E. coli*. O aterro de Seropédica, com 2 anos de operação, recebe, em média, 9.000 ton de RSU diariamente e os valores médios para coliformes totais no lixiviado bruto foram $5x10^2$ NMP$100mL^{-1}$.

Tabela 13. Valor médio de coliformes totais de acordo com as células de disposição de resíduos.

Célula	Número de observações	Coliformes totais (NMP $100mL^{-1}$.)			
		Média	Mediana	Mínimo	Máximo
RSD	54	$3{,}9x10^4$	$1{,}5x10^3$	0	$8{,}0x10^5$
RSS	54	$4{,}8x10^4$	$5{,}0x10^2$	0	$2{,}3x10^6$
COD	54	$3{,}1x10^4$	$1{,}7x10^3$	0	$3{,}5x10^5$

RSD – Resíduos Sólidos Domiciliares RSS – Resíduos Sólidos de Serviço de Saúde COD – Codisposição de RSD e RSS

A Figura 47 apresenta os dados quantitaivos de coliformes totais para as 3 células em 54 observações obtidas em 810 dias de monitoramento através de gráficos do tipo boxplot. Nesse caso, os boxplots apresentam uma grande interseção, não havendo diferenças notáveis entre as células.

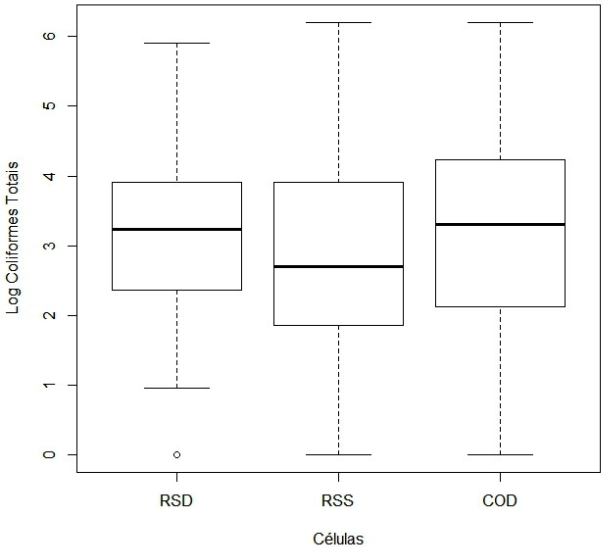


Figura 47 – Gráfico box plot para visualização das populações de coliformes totais em NMP 100mL^{-1} do lixiviado das células ao longo de 810 dias de confinamento.

A Tabela14 apresenta o NMP de *E. coli* em 100mL de lixiviado nas 3 células de resíduos. *E. coli* é o único membro do grupo coliforme que satisfaz a maior parte dos critérios para um indicador ideal de poluição bacteriana de origem exclusivamente fecal (PARUCH *et al*., 2012), sendo considerado o indicador mais sensível e a medida mais adequada de contaminação fecal em ambiente natural de água, solos e plantas (EDBERG *et al.*, 2000; HALLER *et al*., 2009).

E. coli apresentou valores similares nas 3 células, atribuindo-se à presença de materiais com contaminação de origem exclusivamente fecal nos RSD e nos RSS.

Tabela 14. Valor médio de *E. coli* em NMP 100mL^{-1} de acordo com as células de disposição de resíduos.

Célula	Número de observações	*E. coli* (NMP 100mL^{-1}.)			
		Média	Mediana	Mínimo	Máximo
RSD	54	$2,7x10^4$	$6,0x10^2$	0	$5,0x10^5$
RSS	54	$8,6x10^3$	$2,0x10^2$	0	$3,0x10^5$
COD	54	$1,4x10^4$	$8,0x10^2$	0	$3,0x10^5$

RSD – Resíduos Sólidos Domicliares RSS – Resíduos Sólidos de Serviço de Saúde COD – Codisposição de RSD e RSS

A Figura 48 apresenta os dados quantitativos de *E. coli* para as 3 células em 54 observações obtidas em 810 dias de monitoramento através de gráficos do tipo boxplot. Ressalta-se que os boxplots auxiliam visualmente na detecção de diferenças entre grupos. Pela

exposição dos gráficos, embora pareça existir uma diferença real entre as células, é provável que ela não seja significante.

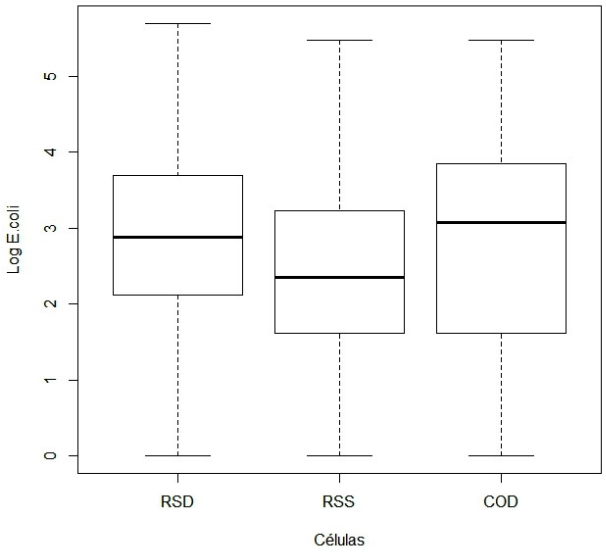


Figura 48 – Gráfico box plot para visualização das populações de *E. coli* em NMP 100mL^{-1} do lixiviado das células ao longo de 810 dias de confinamento.

Não foi possível estabelecer correlação entre os valores observados e o tempo de confinamento, tendo sido detectadas populações de coliformes totais e de *E. coli* com 15 dias de confinamento (primeira observação) e com 810 dias de confinamento (última observação) nas 3 células. Os resultados obtidos apontam para entender o aterro de resíduos sólidos como um sistema biológico dinâmico, em que diferentes fases de crescimento microbiano ocorrem simultaneamente.

Em oposição, nos trabalhos de Bidone e outros (2005), os valores obtidos para coliformes totais e termotolerantes obedeceram a curvas que evidenciaram quatro fases distintas do crescimento bacteriano: ausência inicial de bactérias, caracterizando a fase lag, momento em que há recuperação de danos celulares e síntese de enzimas para o desencadeamento da próxima fase, em que há a multiplicação em crescimento balanceado, fase logarítmica, seguida da fase estacionária e da fase de declínio, quando os nutrientes do sistema se esgotam.

Outro ponto a ser abordado é a presença de *Escherichia* coli na maioria das observações, além de ter apresentado o maior valor populacional dentre os microrganismos do grupo dos coliformes. Isso indica que os resíduos sólidos confinados em aterro oferecem as

condições para que *E. coli* sobreviva e se desenvolva, ainda que fora do trato intestinal. Aliás, o trato intestinal é o habitat primário deste microrganismo e, até recentemente, *Escherichia coli* não demonstrava capacidade de sobreviver bem no ambiente, ou seja, em habitats secundárias, tais como água de superfície, sedimentos e solo (ISHII *et al.*, 2008). No entanto, tem sido demonstrado que *E. coli* pode sobreviver nesses ambientes durante longos períodos de tempo e crescer, mesmo em clima temperado (IBEKWE *et al.*, 2011).

5.3.2.3 Determinação de enterococos

Enterococos são abundantes em fezes humanas e animais, em condicionadores de solo a base de esterco, em carcaças de animais, na água de esgoto, e nas águas de superfície e tem sido utilizado como indicadores de poluição fecal para qualificação da balneabilidade das águas (WERNERA *et al.*, 2013).

A Tabela 15 mostra os resultados para os ensaios de determinação do NMP de enterococos em 100mL de lixiviado. Houve uma variação de 0 a $1{,}3x10^5$ $NMP100^{-1}mL$ na Célula COD, que apresentou valores similares ao da Célula RSD para este parâmetro. Grisey e outros (2010), na análise quantitativa de lixiviado de aterro fora de operação, demonstraram baixos valores de enterococos nas amostras, variando de 30 a 349 UFC $100mL^{-1}$.

Tabela 15. Valor médio de enterococos em NMP $100mL^{-1}$ de acordo com as células de disposição de resíduos.

Célula	Número de observações	Enterococos (NMP $100mL^{-1}$)			
		Média	Mediana	Mínimo	Máximo
RSD	54	$7{,}0x10^3$	$8{,}0x10^2$	0	$1{,}1x10^5$
RSS	54	$2{,}1x10^3$	$8{,}0x10^1$	0	$5{,}0x10^4$
COD	54	$6{,}3x10^3$	$7{,}0x10^2$	0	$1{,}3x10^5$

RSD – Resíduos Sólidos Domiciliares RSS – Resíduos Sólidos de Serviço de Saúde COD – Codisposição de RSD e RSS

Na Figura 49 podem ser visualizados os gráficos de Box Plot para os valores de enterococos (NMP $100mL^{-1}$), com destaque para a Célula RSS, que mostra que 75% das suas observações estão abaixo das observações das demais células.

Esse grupo de microrganismos foi menor na Célula RSS na maioria das observações. Isso pode estar associado à ausência de fezes *in natura* nos RSS, em contraposição aos RSD, que apresentam em sua composição física, fezes humanas e, principalmente, fezes de animais mamíferos e aves, além de materiais provenientes de animais domésticos (areia e absorventes para higiene). O aumento da população de animais

em domicílio vem sendo considerada como um problema de saúde pública pela presença de microrganismos patogênicos e por serem reservatórios de bactérias resistentes aos antimicrobianos, como os enterococos resistentes à vancomicina (VRE) (CINQUEPALMI *et al.*, 2013).

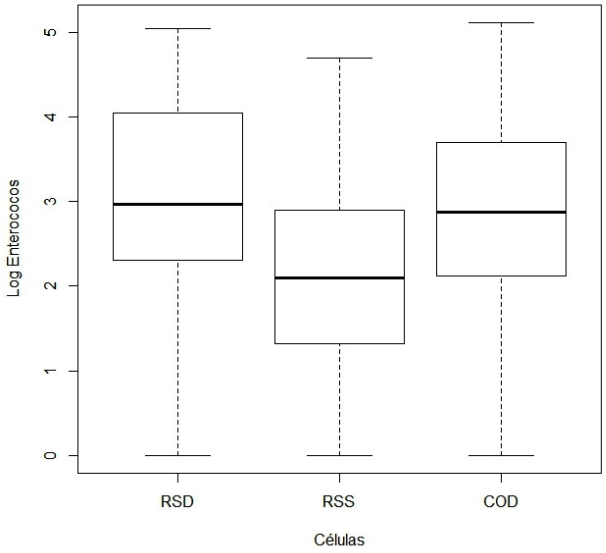


Figura 49 – Gráfico box plot para visualização das populações de enterococos em NMP 100mL^{-1} do lixiviado das células ao longo de 810 dias de confinamento.

5.3.2.4 Pesquisa de *Pseudomonas aeruginosa*

Na Tabela 16 estão anotados os valores médios da população de *P. aeruginosa* quantificada no lixiviado das células. A avaliação comparativa entre as células mostrou semelhanças entre os valores observados, ressaltando a versatilidade bioquímica desse microrganismo e capacidade de sobreviver em diferentes ambientes.

Por ser um microrganismo aeróbio estrito, a detecção de *P. aeruginosa* ao longo de todo o experimento indica que o aterro apresenta pontos de aerobiose entre os diversos materiais acumulados, além do oxigênio dissolvido na água da chuva suprindo suas necessidades de crescimento.

Tabela 16. Valor médio de *P. aeruginosa* nos lixiviados gerados nas células de disposição de resíduos.

Célula	Número de observações	*P. aeruginosa* (NMP 100mL^{-1}.)			
		Média	Mediana	Mínimo	Máximo
RSD	54	$9,1x10^3$	$4,0x10^1$	0	$2,4x10^5$
RSS	54	$6,5x10^3$	$1,3x10^2$	0	$2,4x10^5$
COD	54	$4,8x10^3$	$1,3x10^2$	0	$8,0x10^4$

RSD – Resíduos Sólidos Domicliares RSS – Resíduos Sólidos de Serviço de Saúde COD – Codisposição de RSD e RSS

A Figura 50 apresenta os dados quantitativos de *P.aeruginosa* (Log) para as 3 células em 54 observações obtidas em 810 dias de monitoramento através de gráficos do tipo boxplot. É possível observar que um percentual superior a 25% dos dados (base da caixa) foi igual a zero nas 3 células. A distribuição de dados para este parâmetro foi similar comparando-se as 3 células.

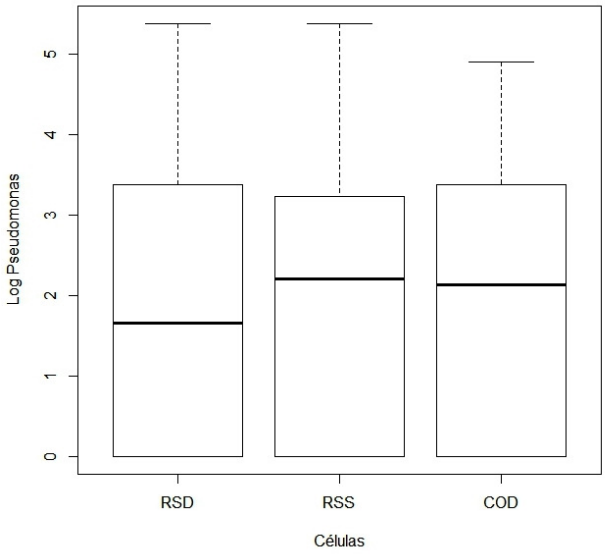


Figura 50 – Gráfico box plot para visualização das populações de *P. aeruginosa* em NMP 100mL^{-1} do lixiviado das células ao longo de 810 dias de confinamento.

Devido ao percentual de 25% de amostras com valores nulos para *Pseudomonas aeruginosa*, foram observadas as médias dos valores em 2 períodos distintos: 15 a 299 dias de confinamento e 390 a 810 dias de confinamento, conforme mostra a Tabela 17. Verificou-se que os maiores valores das populações de *P. aeruginosa* foram obtidos a partir dos 390 dias de confinamento, particularmente, paras as Células RSD e RSS. Possivelmente a formação de biofilme nos materiais recicláveis presentes nos resíduos com maior tempo de confinamento

nas células foi o responsável pela retenção deste microrganismo e sua liberação de acordo com os movimentos de lixiviação na massa de resíduos.

Tabela 17. Média dos valores de *P. aeruginosa* nas células obtidos em 2 períodos distintos: 15 a 299 dias de confinamento e 390 a 810 dias de confinamento.

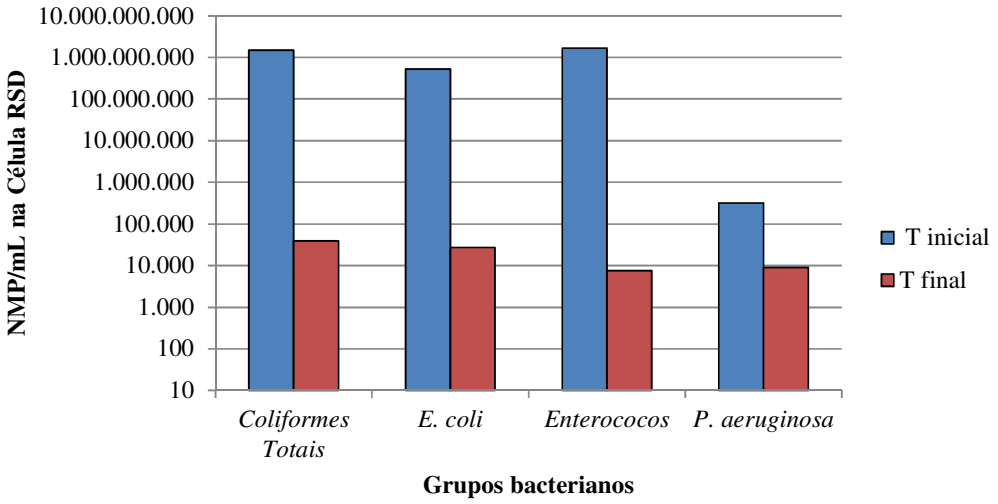
Célula	Média das observações	
	15-299 dias	390-810
RSD	$9{,}9x10^2$	$1{,}6x10^4$
RSS	$4{,}9x10^2$	$1{,}1x10^4$
COD	$5{,}9x10^2$	$3{,}9x10^3$

RSD – Resíduos Sólidos Domicliares RSS – Resíduos Sólidos de Serviço de Saúde COD – Codisposição de RSD e RSS

Grisa e Zoppas (2011), ao avaliar a degradação microbiológica do policloreto de vinila (PVC) em um aterro sanitário durante 330 dias de confinamento de RSU, afirmam que os polímeros aterrados sofrem um ataque pela presença dos microrganismos, particularmente *P. aeruginosa* e o fungo *Aureobasidium pullulans*, colonizando a superfície na forma de um biofilme (microrganismos embebidos numa matriz polimérica) e contaminando o meio adjacente.

5.3.2.5 Comparação entre os dados quantitativos de populações antes e depois do confinamento nas células

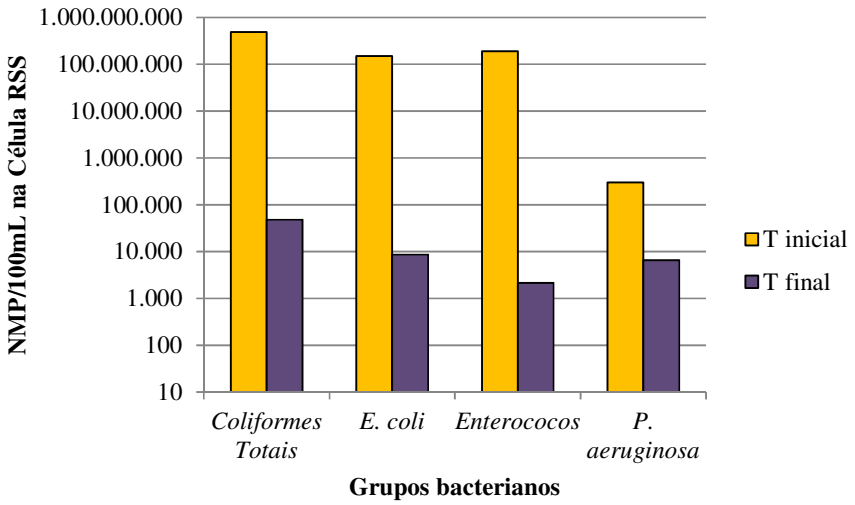
Foram realizadas comparações entre os valores médios das populações bacterianas dos resíduos que preencheram as células com a média dos valores observados em 810 dias de monitoramento. A Figura 51 mostra que o confinamento dos resíduos reduziu as populações bacterianas na Célula RSD. Como descrito por MANGIMBULUDE e outros (2009), é possível ser observado um decréscimo na carga absoluta de parâmetros como microrganismos, amônia e metais pesados no lixiviado de aterros.



RSD – Resdíduos Sólidos Domiciliares

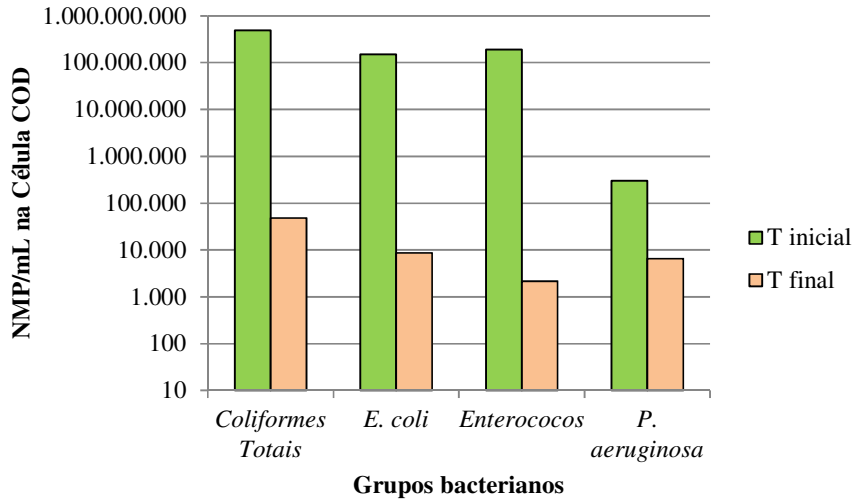
Figura 51 – Valor médio de microrganismos indicadores no lixiviado de RSD antes (T inicial) e depois (T final) do confinamento na Célula RSD.

Do mesmo modo, as Células RSS e COD mostraram comportamentos semelhantes quanto à redução da carga de microrganismos indicadores de contaminação ambiental, como pode ser observado nas Figuras 52 e 53.



RSS – Resíduos Sólidos de Serviço de Saúde

Figura 52 – Valor médio de microrganismos indicadores no lixiviado de RSS antes (T inicial) e depois (T final) do confinamento na Célula RSS.



COD – Codisposição de Resíduos Sólidos Domiciliares e de Resíduos Sólidos de Serviço de Saúde

Figura 53. Valores médios de microrganismos indicadores no lixiviado de RSD antes (T inicial) e depois (T final) do confinamento na Célula COD.

Com base nesses dados, é possível supor que o confinamento dos resíduos em aterro sanitário funciona como um mecanismo atenuador da contaminação microbiana nos líquidos lixiviados e estabeleceu comportamentos semelhantes de redução da carga microbiana, apesar da heterogeneidade dos resíduos dispostos nas células.

5.3.2.6 Contagem de bactérias heterotróficas

A Tabela 18 apresenta as populações bacterianas heterotróficas detectadas nos lixiviados das células. Comparando-se as 3 células, essas bactérias foram detectadas em todas as observações e apresentaram valores médios compatíveis considerando os desvios-padrão. Os valores máximos foram observados nas 3 células após 165 dias de confinamento e os valores mínimos após 300 dias para a Célula RSD e com 480 dias de confinamento para as demais. As observações para este parâmetro estão demonstradas no Apêndice F.

Tabela 18. Valor médio de bactérias heterotróficas em UFCmL^{-1}de lixiviado gerado nas células de disposição de resíduos.

Célula	Número de observações	UFC mL^{-1}			
		Média	Mediana	Mínimo	Máximo
RSD	43	1,3x10^{6}	8,7x10^{4}	20	2,6x10^{7}
RSS	43	1,0x10^{6}	7,2x10^{4}	30	2,5x10^{7}
COD	43	9,6x10^{5}	5,0x10^{4}	50	2,8x10^{7}

RSD – Resíduos Sólidos Domicliares RSS – Resíduos Sólidos de Serviço de Saúde COD – Codisposição de RSD e RSS

Os resultados obtidos são semelhantes aos obtidos por Cussiol (2005), que constatou a presença de $2,2x10^4$ para lixi viado de RSD e $5,8x10^4$ para o lixiviado de codisposição de RSD e RSS.

5.3.2.7 Pesquisa de enterobactérias no lixiviado das células

Para Adeyeba e Akimbo (2002), o lixiviado de aterros sanitários é geralmente considerado livre de organismos patogênicos, devido à sua inativação sob as condições adversas que ocorrem durante a degradação de resíduos. No entanto, no presente trabalho foram isoladas 192 estirpes de enterobactérias de importância médica nas amostras de lixiviado das 3 células, sendo 77 na Célula RSD, 56 na Célula RSS e 59 na Célula COD (Tabela 19).

Tabela 19. Identificação das estirpes de enterobactérias isoladas nas células durante 810 dias de monitoramento.

Enterobactérias	Nº Isolados e (%)			% de aproximação no sistema API
	Célula RSD	Célula RSS	Célula COD	
Pantoae sp	1 (1)	0 (0)	2 (3)	83,4
C. freündii	2 (3)	0 (0)	3 (5)	96,3
E. coli	17 (22)	22 (39)	14 (24)	90,0
Enterobacter sp	21 (27)	10 (18)	12 (20)	Fraca discriminação para a espécie
K. oxytoca	1 (1)	1 (2)	3 (5)	96,0
K.pneumoniae	21 (27)	16 (29)	17 (29)	98,2
P. mirabilis	4 (5)	4 (7)	4 (7)	99,9
P. vulgaris	7 (9)	2 (4)	2 (3)	97,8
Providencia rettgeri	2 (3)	0 (0)	1 (2)	83,7
Salmonella sp	1 (1)	0 (0)	1 (2)	85,8
Serratia sp	0 (0)	1 (2)	0 (0)	87,4
Total	77 (100)	56 (100)	59 (100)	-

RSD – Resíduos Sólidos Domicliares RSS – Resíduos Sólidos de Serviço de Saúde COD – Codisposição de RSD e RSS

A Figura 54 mostra o número de estirpes isoladas nos lixiviados das células em 54 observações coletadas ao longo de 810 dias de monitoramento, com destaque para a prevalência de 3 estirpes: *E. coli*, *K. pneumoniae* e *Enterobacter sp.*

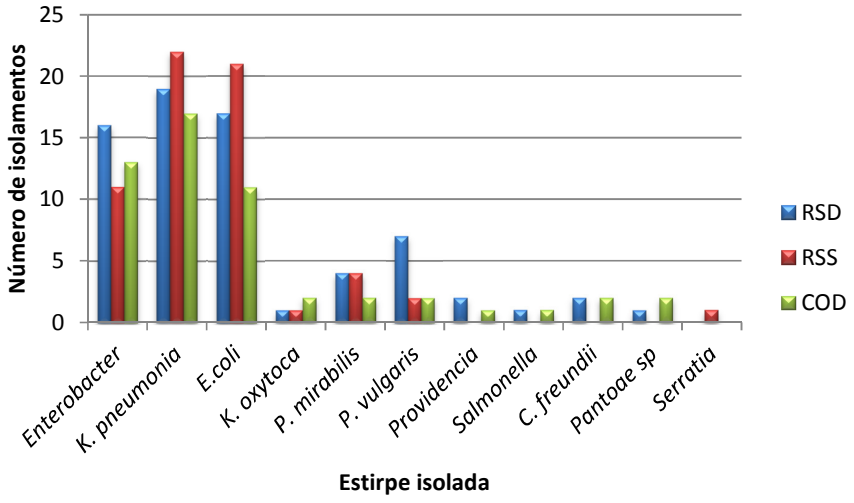


Figura 54 – Número de estirpes de enterobactérias isoladas no lixiviado das células ao longo de 810 dias de monitoramento.

A fim de visualizar os perfis de bactérias identificadas nas células associando-se ao tempo de confinamento, foram gerados padrões de isolamentos em dois períodos: dezembro de 2010 a dezembro de 2011 e janeiro de 2012 a fevereiro de 2013, como pode ser observado na Tabela 20. Os padrões observados no período de 2012 a 2013 apresentaram maior diversidade do que no período anterior para as 3 células. *Enterobacter sp*, *K. pneumoniae*, *E. coli*, *P. mirabilis* foram identificados em todos as amostras. A detecção de estirpes de *Salmonella spp*, *Providencia rettgeri*, *K oxytoca, C. freündii* e *Pantoae sp* ocorreu no período de 2012 a 2013 nas Células RSD e COD e de *Serratia sp* e *K. oxytoca* na Célula RSS.

A ocorrência de microrganismos patogênicos no lixiviado de aterro RSS foi relatada por Nascimento e outros (2010), que identificaram estirpes de *Citrobacter sp*, *Providencia sp*, *Klebsiella sp*, *Proteus sp*, *E. coli*, *Hafnia sp*, *Morganella sp*, *Salmonella sp*, *Shigella sp* e *Serratia sp*.

Tabela 20. Perfil de bactérias isoladas no lixiviado da células de acordo com o período de isolamento.

Célula	Período de isolamento das enterobactérias	
	2010-2011	2012-2013
RSD	*Enterobacter sp*, *K. pneumoniae*, *E. coli*, *P. mirabilis*, *P. vulgaris*	*Enterobacter sp*, *K. pneumoniae*, *E. coli*, *P. mirabilis*, *P. vulgaris*, *K. oxytoca, Providencia rettgeri, Salmonella spp, C. freündii, Pantoae sp*
RSS	*Enterobacter sp*, *K. pneumoniae*, *E. coli*, *P. mirabilis*, *P. vulgaris*	*Enterobacter sp*, *K. pneumoniae*, *E. coli*, *P. mirabilis*, *P. vulgaris*, *K. oxytoca, Serratia sp*
COD	*Enterobacter sp*, *K. pneumoniae*, *E. coli*, *P. mirabilis*	*Enterobacter sp*, *K. pneumoniae*, *E. coli*, *P. mirabilis*, *P. vulgaris*, *K. oxytoca, Providencia rettgeri, Salmonella spp, C. freündii, Pantoae sp*

RSD – Resíduos Sólidos Domicliares RSS – Resíduos Sólidos de Serviço de Saúde COD – Codisposição de RSD e RSS

5.3.2.8 Pesquisa de *Staphylococcus aureus*

Com a metodologia empregada, não foi isolado *Staphylococcus aureus* nas 54 amostras de lixiviados gerados em cada célula. Esse resultado sugere a dificuldade de recuperação ou de sobrevivência dessa estirpe bacteriana no lixiviado devido a fatores adversos tais como: competição microbiana, produtos de metabolismo, atividade antibiótica da microbiota, pH, condutividade, metais pesados, medicamentos, desinfetantes e outros saneantes, tintas e solventes. Esse resultado se compatibiliza com o obtido por Grisey e outros (2010) ao avaliar o trânsito e a sobrevivência de populações bacterianas patogênicas em um aquífero sob o aterro de Etueffont, na França. Como descrito por Cussiol (2005), os lixiviados de aterro não oferecem nutrientes adequados e/ou suficientes para o desenvolvimento de *S. aureus.*

5.3.3 Análise estatística dos dados das populações bacterianas

5.3.3.1 Análise da variância do fator de Kruskal-Wallis por postos, considerando dados de populações bacterianas por célula

Os valores médios das populações bacterianas de coliformes totais, *E. coli* e *P. aeruginosa* nas três células não mostraram diferença estatisticamente significativa ($p > 0,05$) ao longo de 810 dias de monitoramento (54 observações), quando submetidos ao teste de

Kruskal-Wallis. A Tabela 21 mostra o valor e a probabilidade relativos ao teste de Kruskal-Wallis em relação às observações geradas nas Células RSD, RSS e COD para os parâmetros de coliformes totais, *E. coli*, enterococos e *P. aeruginosa*. Os dados revelam que somente para a população de enterococos a probabilidade associada à estatística de Kruskal-Wallis é menor que 5%, nível de significância do teste.

Isso indica que para enterococos os lixiviados das células apresentaram valores diferenciados, ou seja, ao menos uma das células apresentou comportamento diferente no que tange ao parâmetro de valor médio populacional deste grupo de microrganismos.

Tabela 21. Valor da Estatística Kruskal-Wallis (KW) para cada parâmetro avaliado nas 3 células e a probabilidade associada ao teste (nível de significância de 5%)

Parâmetro	*KW*	P- valor (%)
Coliforme total	2,95	22,91
Escherichia coli	4,66	9,73
Enterococos	16,60	0,02
Pseudomonas aeruginosa	0,26	87,9

Com o objetivo de se determinar em qual(is) células essa diferença ocorreu, recorreu-se ao teste de comparações múltiplas sugerido por Siegal e Castellan (1988). De acordo com a Tabela 22, as diferenças dos valores para enterococos foram provenientes do lixiviado gerado pela Célula RSS. O teste mostra um valor (diferença observada) que deve ser comparado com o valor crítico (21,61). Uma vez que as diferenças entre as Células RSD e RSS e entre as Células RSS e COD excedem o valor crítico, ambas as comparações foram significantes e pode-se inferir que a diferença foi gerada pelos dados originários da Célula RSS.

Tabela 22. Teste de comparações múltiplas entre as células para enterococos.

Células comparadas	Diferença observada	Diferença crítica
RSD – RSS	35,27	21,61
RSD – COD	8,76	21,61
RSS – COD	26,51	21,61

RSD – Resíduos Sólidos Domiciliares RSS – Resíduos Sólidos de Serviço de Saúde COD – Codisposição de RSD e RSS

A análise da média indicou que a população de enterococos foi menor na Célula RSS do que nas outras (Tabela 23). Esse resultado não era esperado levando-se em conta que enterococos são encontrados regularmente em materiais clínicos e no ambiente hospitalar (BOUCHER *et al.*, 2013). No entanto, microrganismos patogênicos não resistem às condições ambientais externas ao corpo humano e de outros animais, o que torna a contaminação ambiental a médio e longo prazo equivalente à do RSD (SOUZA, 2003).

Tabela 23. Média dos valores de enterococos obtidos em 54observações nos lixiviados das células

Célula	Média das observações
RSD	$7,5x10^3$
RSS	$2,1x10^3$
COD	$6,3x10^3$

RSD – Resíduos Sólidos Domiciliares RSS – Resíduos Sólidos de Serviço de Saúde COD – Codisposição de RSD e RSS

5.3.3.2 Análise da variância de um fator de Kruskal-Wallis por postos, considerando dados temporais por célula

Nesta etapa, os dados referentes às 54 observações foram divididos em dois períodos de tempo, como se segue: 25 observações referentes ao período de dezembro de 2010 a dezembro de 2011 e 29 observações referentes ao período de janeiro de 2012 a fevereiro de 2013.

No primeiro período avaliado (dez 2010-dez2011), os valores médios das populações bacterianas de coliformes totais, *E. coli* e *P. aeruginosa* nas três células não demonstraram diferença estatisticamente significativa (p> 0,05 ou 5%), quando submetidos ao teste de Kruskal-Wallis. A Tabela 24 mostra o valor e a probabilidade relativos ao teste de Kruskal-Wallis em relação às observações geradas nas Células RSD, RSS e COD para os parâmetros de coliformes totais, *E. coli*, enterococos e *P. aeruginosa*.

Tabela 24. Valor da Estatística Kruskal-Wallis (KW) para cada parâmetro avaliado nas 3 células durante o período de dezembro de 2010 a dezembro de 2011 e a probabilidade associada ao teste (nível de significância de 5%)

Parâmetro	*KW*	P- valor (%)
Coliforme total	0,72	69,79
E. coli	0,06	97,21
Enterococos	1,68	43,08
P. aeruginosa	0,29	86,4

No entanto, no segundo período avaliado (Jan 2012 – Fev 2013), os dados revelam que somente para a população de *P. aeruginosa* a probabilidade associada à estatística de Kruskal-Wallis é maior que 5%, nível de significância do teste, indicando que os valores são significativamente iguais.

Para os parâmetros de coliformes totais, *E. coli* e Enterococos os lixiviados das células apresentaram valores diferenciados, ou seja, ao menos uma das células apresentou comportamento diferente, conforme mostra a Tabela 25.

Tabela 25. Valor da Estatística Kruskal-Wallis (KW) para cada parâmetro avaliado nas 3 células durante o período de janeiro de 2012 a fevereiro de 2013 e a probabilidade associada ao teste (nível de significância de 5%)

Parâmetro	*KW*	P- valor (%)
Coliforme total	8,32	1,56
E. coli	9,76	0,77
Enterococos	18,02	0,01
P. aeruginosa	0,41	81,54

Com o objetivo de se determinar em qual(is) células houve as diferenças, recorreu-se ao teste de comparações múltiplas sugerido por Siegal e Castellan (1988). De acordo com a Tabela 26, não há diferenças entre os valores das Células RSD e COD para nenhuma das populações bacterianas avaliadas. No entanto, observa-se que, comparando-se as Células RSD e RSS, houve diferenças para os valores nessas populações bacterianas. Comparando-se as Células RSS e COD, houve diferenças nos valores obtidos nas populações de coliformes totais e Enterococos, enquanto que para o parâmetro *E. coli*, os valores foram significativamente iguais.

Tabela 26. Teste de comparações múltiplas entre as células para Coliformes totais, *E. coli* e Enterococos no período de janeiro de 2012 a fevereiro de 2013.

Células comparadas	Diferença observada			Diferença crítica
	Coliformes totais	*E. coli*	Enterococos	
RSD – RSS	17,03	20,22	27,43	15,88
RSD – COD	1,02	6,36	8,62	15,88
RSS – COD	16,02	13,86	18,81	15,88

RSD – Resíduos Sólidos Domiciliares RSS – Resíduos Sólidos de Serviço de Saúde COD – Codisposição de RSD e RSS

A análise da média das 29 observações em cada célula indicou que a quantidade de coliformes totais e de *E.* coli foi maior na Célula RSD do que nas outras.

A Célula RSS apresentou os menores valores dentre as 3 células no período de janeiro de 2012 a fevereiro de 2013, que se refere ao período que se inicia com 390 dias de confinamento e vai até 810 dias de confinamento (Tabela 27). Saini e outros. (2004) confirmaram que os resíduos de origem não hospitalar contêm mais patógenos do que os RSS, e que a microbiota presente nos RSS e nos resíduos de origem não hospitalar são semelhantes.

Tabela 27. Média dos valores de coliformes totais, *E.coli* e Enterococos obtidos em 29 observações nas células durante o período de janeiro de 2012 a fevereiro de 2013.

Célula	Média das observações		
	Coliformes totais	*E.coli*	Enterococos
RSD	$2,9x10^4$	$2,9x10^4$	$7,9x10^3$
RSS	$3,9x10^3$	$3,2x10^3$	$2,3x10^3$
COD	$1,3x10^4$	$4,8x10^3$	$8,6x10^3$

RSD – Resíduos Sólidos Domiciliares RSS – Resíduos Sólidos de Serviço de Saúde COD – Codisposição de RSD e RSS

Com base nos dados obtidos com a caracterização da microbiota por métodos dependentes do cultivo, os lixiviados gerados na Célula RSS apresentaram valores inferiores para coliformes totais, *Escherichia coli* e enterococos em relação às demais células. Os valores dos mesmos parâmetros foram significativamente semelhantes para RSD e COD. Sendo assim, pode-se considerar que a codisposição de RSS e RSD não se diferencia da disposição de RSD e que a fração de RSS coletada no município do Rio de Janeiro não interfere na microbiota do lixiviado de aterro.

5.4 CARACTERIZAÇÃO DA MICROBIOTA DO LIXIVIADO – MÉTODOS INDEPENDENTES DE CULTIVO

5.4.1 Eletroforese em gel com gradiente de desnaturação (DGGE)

Para comparar as comunidades microbianas presentes no lixiviado das 3 células foram analisados os perfis de bandas obtidos pela técnica de DGGE em 2 tempos distintos: 2011, com 270 dias de confinamento dos resíduos e 2013, com 810 dias de confinamento. Uma vez que os ecossistemas encontrados nos aterros são heterogêneos e que as comunidades microbianas presentes nesses ecossistemas parecem não estar distribuídas uniformemente nas camadas de resíduos (SAWAMURA *et al.*, 2010), o lixiviado apresenta-se como um

concentrador dessa diversidade, constituindo um bom meio para o estudo da diversidade microbiana presente nos aterros (SANTOS, 2010).

O método de extração de DNA empregado neste experimento foi desenvolvido para isolar o DNA genômico de bactérias, fungos, plantas e animais a partir de solo e outras amostras ambientais, tendo demonstrado eficácia na extração do DNA genômico de microrganismos presentes em amostras de lixiviado após filtração em membranas de porosidade 0,45µm. O DNA extraído das amostras de lixiviado foi amplificado através da técnica de PCR (U968 – GC e L1401, Quadro 3) gerando fragmentos do gene RNAr 16S de cerca de 400pb. Esses fragmentos foram submetidos à eletroforese em gel de gradiente desnaturante (DGGE) de 45 a 65%, originando perfis de bandeamento para cada amostra analisada.

A similaridade entre as estruturas das comunidades bacterianas presentes nas amostras foi determinada com base na presença ou ausência das bandas detectadas no gel. Ao considerar a presença/ausência, semelhanças entre os padrões de bandas, tomadas em pares, podem ser expressas em um valor percentual utilizando-se um coeficiente de similaridade (DIEZ *et al.*, 2010). Foi utilizado o coeficiente de similaridade de Jaccard e como método de classificação hierárquica, o UPGMA (Unweighted Pair-Group Method Average). Os resultados dessas análises geraram, em forma gráfica, um dendrograma para cada grupo de perfis de bandeamento. As análises foram realizadas com o auxilio do software BIONUMERICS 6.0 (Applied Math, BE).

Com o objetivo de avaliar as similaridades dos perfis de bandeamento para comparação entre as células, foram analisados os agrupamentos em cada ano, conforme apresentado na Figura 55 para o ano de 2011 e na Figura 56 para o ano de 2013.

Os dados obtidos com a aplicação do coeficiente Jaccard mostram alto valor de similaridade entre os *fingerprints* do DGGE gerados em duplicata das 3 células e nos dois períodos, confirmando a reprodutibilidade da técnica de DGGE para amostras de lixiviado de resíduos sólidos.

O perfil de bandas obtido com análise do DNA das comunidades microbianas das amostras das Células RSD, RSS e COD coletadas no ano de 2011 apresentaram baixo coeficiente de similaridade (<35%) entre elas. RSD e COD foram reunidas em um mesmo grupo, mas com baixo coeficiente de similaridade (32%). RSS não foi incluída nesse grupo principal e mostrou um coeficiente de similaridade de 29% (Figura 55).

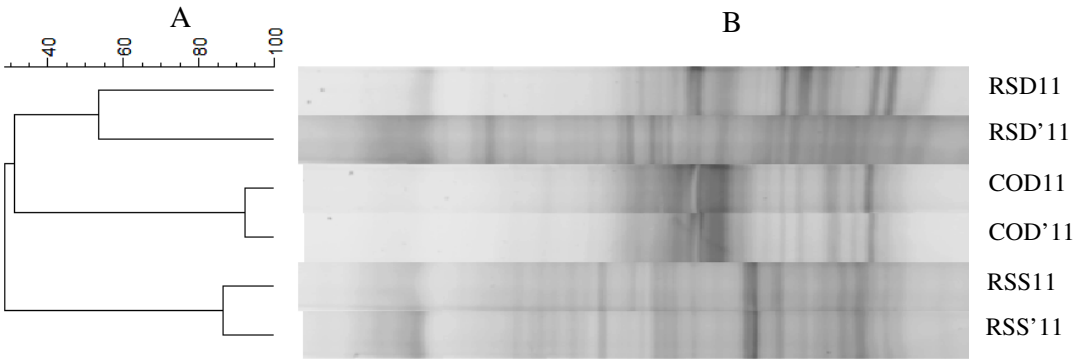


Figura 55. Estrutura das comunidades bacterianas do lixiviado coletado em 2011 com base nos perfis de fragmentos 16S DNAr das amostras de lixiviados das células.
A)Dendrograma gerado a partir dos valores de similaridade obtido com o perfil de bandas observado obtido com o coeficiente de similaridade Jaccard e método de classificação hierárquica, UPGMA. B) Perfil de bandas observado no DGGE: RSD11 e RSD'11, duplicatas da amostra do lixiviado coletada no ano de 2011 na Célula RSD; COD11 e COD'11, duplicatas da amostra do lixiviado coletada no ano de 2011 na Célula COD; RSS11 e RSS'11, duplicatas da amostra do lixiviado coletada no ano de 2011 na Célula RSS.

O perfil das comunidades microbianas no ano de 2013 (Figura 56) demonstrou baixa similaridade entre as células. É possível notar a formação de um agrupamento para as amostras das Células RSS e COD com similaridade de 42% enquanto que a Célula RSD se distanciou mais, apresentando um coeficiente de similaridade de 35%.

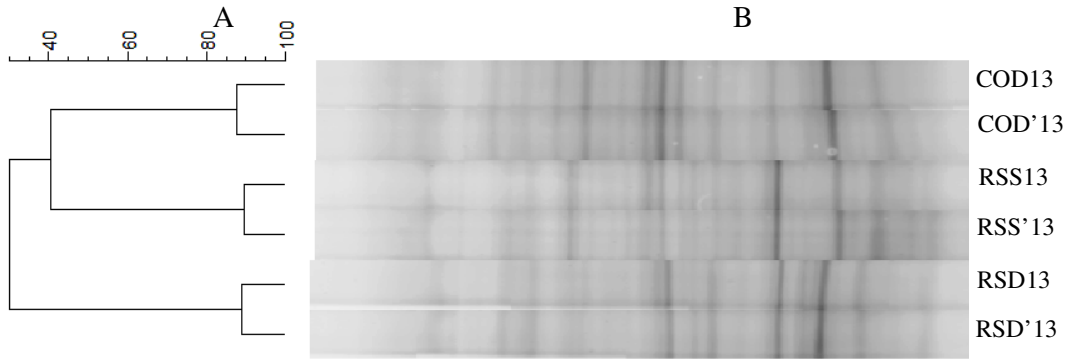


Figura 56. Estrutura das comunidades bacterianas do lixiviado coletado em 2013 com base nos perfis de fragmentos 16S DNAr das amostras de lixiviados das células.
A)Dendrograma gerado a partir dos valores de similaridade obtido com o perfil de bandas observado obtido com o coeficiente de similaridade Jaccard e método de classificação hierárquica, UPGMA. B) Perfil de bandas observado no DGGE: COD13 e COD'13, duplicatas da amostra do lixiviado coletada no ano de 2013 na Célula COD; RSS13 e RSS'13, duplicatas da amostra do lixiviado coletada no ano de 2013 na Célula RSS; RSD13 e RSD'13, duplicatas da amostra do lixiviado coletada no ano de 2013 na Célula RSD.

A análise dos agrupamentos foi aplicada a cada célula com o objetivo de verificar as modificações da microbiota ao longo do tempo. Os padrões de bandeamento da Célula RSD estão ilustrados na Figura 57; da Célula RSS, na Figura 58 e da Célula COD, na Figura 59.

A análise da similaridade entre as células mostrou que o maior coeficiente de similaridade observado foi entre as amostras de RSS de 2011 e de 2013 (Figura 57). O menor valor de similaridade observado foi entre o lixiviado da Célula COD de 2013 e os demais. No entanto, os valores de similaridade gerados foram baixos em todas as comparações observadas. Esse resultado sugere uma estruturação diferencial das comunidades microbianas em cada amostra de lixiviado analisada, indicando que as microbiotas destas amostras são diferentes e que modificaram ao longo do tempo de confinamento dos resíduos.

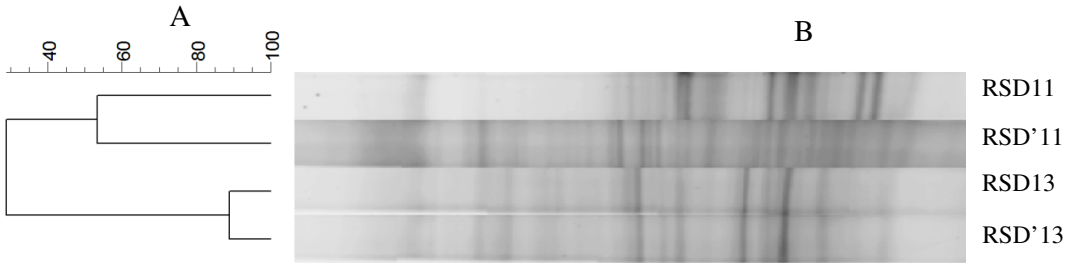


Figura 57. Estrutura das comunidades bacterianas com base nos perfis de fragmentos 16S DNAr das amostras de lixiviados da Célula RSD.
A)Dendrograma gerado a partir dos valores de similaridade obtido com o perfil de bandas observado com o coeficiente de similaridade Jaccard e método de classificação hierárquica, UPGMA. B) Perfil de bandas observado no DGGE: RSD11 e RSD'11, duplicatas da amostra do lixiviado coletada no ano de 201; RSD13 e RSD'13, duplicatas da amostra do lixiviado coletada no ano de 2013.

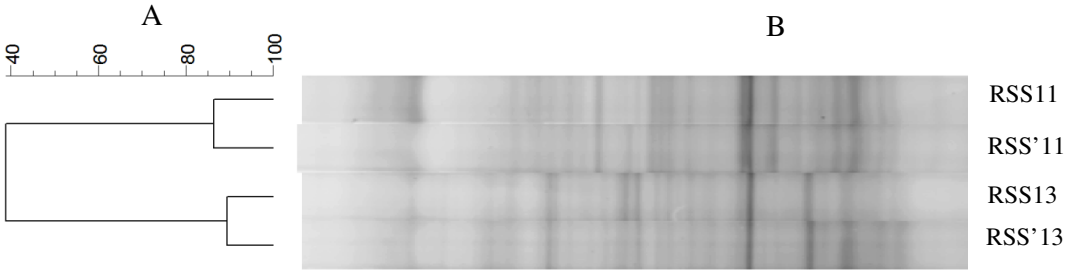


Figura 58. Estrutura das comunidades bacterianas com base nos perfis de fragmentos 16S DNAr das amostras de lixiviados da Célula RSS.
A)Dendrograma gerado a partir dos valores de similaridade obtido com o perfil de bandas observado com o coeficiente de similaridade Jaccard e método de classificação hierárquica, UPGMA. B) Perfil de bandas observado no DGGE: RSS11 e RSS'11, duplicatas da amostra do lixiviado coletada no ano de 2011; RSS13 e RSS'13, duplicatas da amostra do lixiviado coletada no ano de 2013.

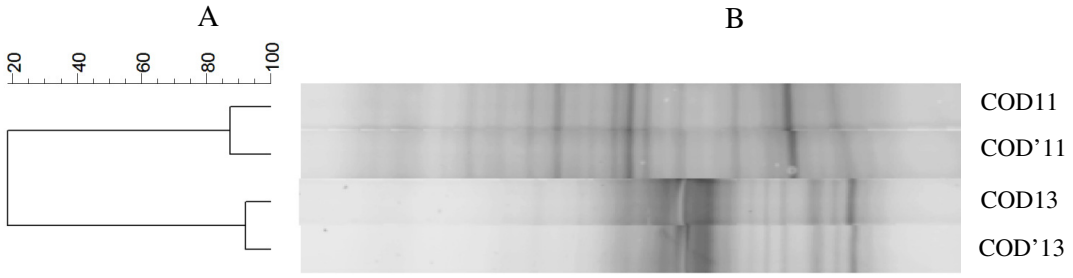


Figura 59. Estrutura das comunidades bacterianas com base nos perfis de fragmentos 16S DNAr das amostras de lixiviados da Célula COD.
A)Dendrograma gerado a partir dos valores de similaridade obtido com o perfil de bandas observado com o coeficiente de similaridade Jaccard e método de classificação hierárquica, UPGMA. B) Perfil de bandas observado no DGGE: COD11 e COD'11, duplicatas da amostra do lixiviado coletada no ano de 2011; COD13 e COD'13, duplicatas da amostra do lixiviado coletada no ano de 2013.

A riqueza e o dinamismo das comunidades microbianas refletem o comportamento que deve ser esperado em amostras ambientais (DUNBAR *et al.*, 2000), como é o caso do lixiviado de aterro de resíduos sólidos, em que diferentes variáveis concorrem para influenciar os ecossistemas, como, por exemplo, a composição física dos resíduos, o regime de chuvas locais e a percolação da água, a compactação dos resíduos, a presença de poluentes e a disponibilidade de nutrientes. De acordo com Bassin e Rosado (2011), o número de bandas diferentes geradas pelo PCR-DGGE pode estimar a riqueza da comunidade microbiana.

No entanto, como descrito por Santos (2010), perfis de DGGE semelhantes podem ficar agrupados com valores baixos de similaridade quando apenas a presença ou ausência das bandas é levada em consideração. No caso do presente estudo, todas as comparações revelaram baixas similaridades, indicando que nenhuma inferência sobre riqueza (número de bandas) deve ser realizada com a informação obtida a partir dos perfis gerados pela técnica de DGGE. Dessa forma, os resultados do DGGE foram considerados como um apoio para a análise exploratória da heterogeneidade microbiana, devendo ser associados à análise de sequenciamento dos fragmentos de DNA.

5.4.2 Sequenciamento do DNA

Na Figura 60 estão destacadas 20 bandas no gel de DGGE. Essas bandas foram excisadas do gel e, após análise de sequenciamento, 6 sequências apresentaram qualidade satisfatória para comparação com o DNA dos microrganismos depositados no Genbank, através do programa disponibilizado pelo site <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi#alnHdr_449075425>.

Em vista da baixa confiabilidade nos resultados do sequenciamento para as demais bandas, novas análises deverão ser realizadas e, desta forma, a análise final dos dados está em processamento.

A identificação e os perfis de similaridade das bandas 5, 6, 7, 8, 9 e 15 estão indicados na Tabela 28.

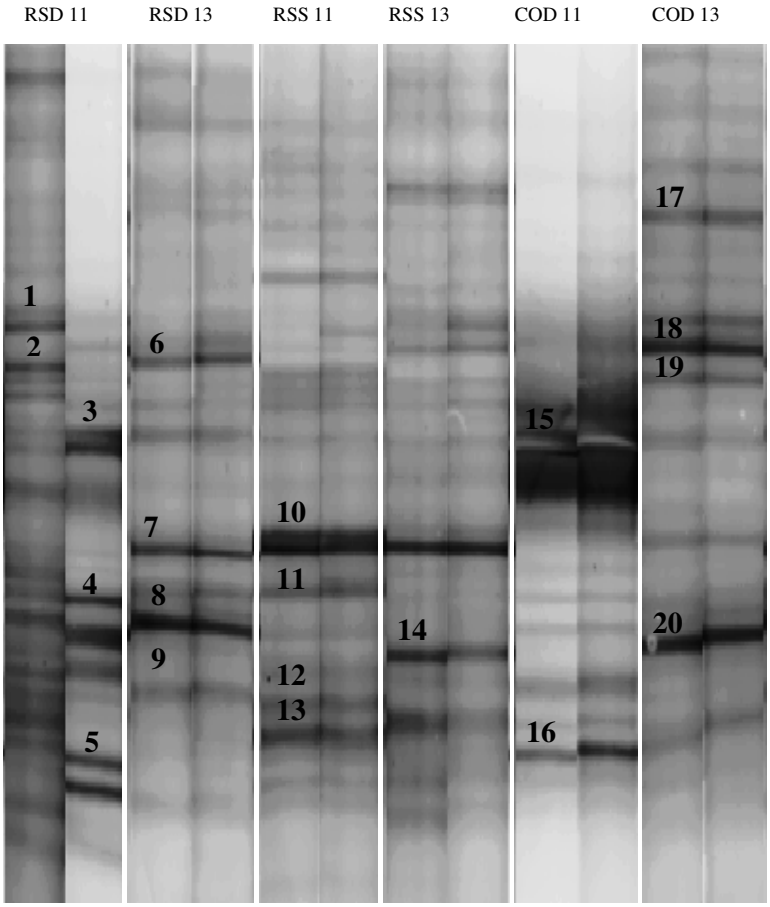


Figura 60. Bandas selecionadas para o sequenciamento do DNAr16S.

RSD11 – lixiviado da Célula RSD coletado em 2011; RSD13– lixiviado da Célula RSD coletado em 2013; RSS11– lixiviado da Célula RSS coletado em 2011; RSS13 – lixiviado da Célula RSS coletado em 2013; COD11– lixiviado da Célula COD coletado em 2011; COD13– lixiviado da Célula COD coletado em 2013.

Tabela 28. Identificação dos microrganismos de acordo com a similaridade das sequências de DNA depositadas no Genbank.

Número da banda	Microrganismo de referência	% de similaridade	Código de acesso no site (BLAST)	Número de pares de bases
5	*Pseudomonas sp*	100	KF313011.1	378
6	Beta-proteobactéria não cultivável	91	JX434260.1	332
7	Bactéria não cultivável	99	JX434215.1	302
8	Bactéria não cultivável de solo	99	FQ659422.1	404
9	Bacteria não cultivável denitrificante	93	FJ802266.1	299
15	*Acinetobacter sp*	100	KF688133.1	159

Os *fingerprints* obtidos no DGGE das comunidades microbianas das 3 células foram complexos, com perfis variáveis. Com base na observação da presença e ausência das bandas (Figura 60) em cada perfil, é possível notar que poucas bandas foram compartilhadas, destacando-se as bandas 7 e 10. Isso sugere que há populações microbianas comuns à Célula RSD e à Célula RSS, tendo sido identificadas pelo Genbank como sequências de DNA de bactérias não cultiváveis.

Das 6 bandas identificadas, 4 foram classificads como bactérias não cultiváveis. Isso confirma a vantagem da técnica de PCR-DGGE, como já discutido anteriormente, em eliminar a necessidade de isolamento, evitando erros inerentes ao método tradicional de cultivo, uma vez que algumas espécies, não são capazes de crescer sob condições experimentais específicas.

Pseudomonas sp (banda 5) foi detectada em 2011 na Célula RSD, não tendo sido observada nas outras células e no ano de 2013. No entanto, com o emprego da metodologia cultivável, esse microrganismo foi observado ao longo do experimento nas 3 células. É possível que o número de células de certas espécies microbianas no lixiviado estivesse abaixo do limite de detecção da técnica PCR-DGGE; ou que a grande quantidade de DNA molde proveniente das espécies mais abundantes, competiram pelos iniciadores durante a reação de amplificação, resultando na formação de produtos de PCR, somente das populações dominantes (BASSIN; ROSADO, 2011).

5.5 CARACTERIZAÇÃO DO LIXIVIADO DAS CÉLULAS

5.5.1 Atividade inibitória do lixiviado

O lixiviado gerado pelas células após 810 dias de confinamento dos resíduos não apresentou atividade inibitória frente às estirpes de *S. aureus* (ATCC 6538), *Salmonella enterica* sorovar Choleraesuis (ATCC 10408) e *P. aeruginosa* (ATCC 15442) (Apêndice G).

Para efeito comparativo, foram coletadas 2 amostras de lixiviado geradas no ponto de entrada na lagoa de acumulação do Aterro Sanitário de Seropédica com intervalo de 30 dias entre uma coleta e outra. As atividades desse aterro foram iniciadas em 2011 e geram 300 m^3 de lixiviado por dia. As amostras coletadas não apresentaram atividade antimicrobiana frente às estirpes empregadas.

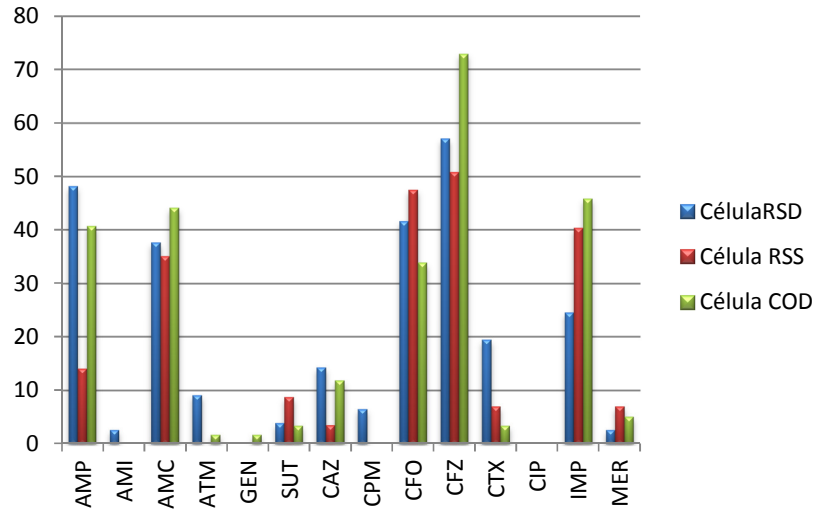
No entanto, um estudo realizado por Silva e outros (2011), contemplando a caracterização microbiológica de lixiviados frescos gerados por RSD e RSS do município do Rio de Janeiro, mostra que 93% das amostras originárias dos RSS apresentam níveis de atividade antimicrobiana frente às estirpes testadas, enquanto que 7% das amostras de lixiviado de RSD apresentaram atividade inibitória contra *S.* aureus e 7% contra *P. aeruginosa*, e nenhuma amostra exibiu inibição frente *Salmonella* sorovar Choleraesuis.

Os resultados negativos para as amostras de lixiviado das células e do aterro de Seropédica podem ser atribuídos à degradação natural das substâncias antimicrobianas presentes em poluentes químicos e biológicos.

5.5.2 Susceptibilidade aos antimicrobianos

Os percentuais de resistência aos antimicrobianos obtidos para as estirpes de enterobactérias isoladas nas Células RSD, RSS e COD estão ilustrados na Figura 61.

A totalidade das amostras foi sensível à gentamicina (GEN) e à ciprofloxacina (CIP) na Célula RSD, à amicacina (AMI), aztreonam (ATM), GEN, cefepime (CPM) e CIP, na Célula RSS e na Célula COD, a sensibilidade total das amostras foi observada para AMI, CPM e CIP. O antimicrobiano cefazolina (CFZ) demonstrou o maior percentual de resistência em todas as células. Nos Apêndices H a J podem ser visualizados os resultados desses testes.



AMP- Ampicilina; AMI – Amicacina; AMC – Amoxicilina+ácido clavulânico; GEN – Gentamicina; SUT – Sulfametoxazol-trimetoprim; CAZ – Ceftazidima; CPM – Cefepime; CFO – Cefoxitina; CFZ – Cefazolina; CTX – Cefotaxima; CIP – Cipfrofloxacina; IMP – Imipenem; MER – Meropenem

Figura 61. Percentual de estirpes de enterobactérias isoladas nas Células RSD, RSS e COD que apresentaram resistência de acordo com os antimicrobianos testados.

Dentre os 192 isolados de enterobactérias foram observados fenótipos de sensível (S), resistência a um único antimicrobiano (R1), resistência a dois antimicrobianos (R2) e multirresistência (MRA) nas 3 células. A Tabela 29 mostra os fenótipos identificados em cada célula. As 3 células apresentaram perfil de multirresistência como o perfil de maior incidência. A presença de estirpes sensíveis aos antimicrobianos testados foi menor na Célula COD.

Tabela 29. Percentual de perfis de susceptibilidade aos antimicrobianos identificados nas enterobactérias para cada célula

Célula	MRA	R1	R2	S
RSD	48	14	13	40
RSS	48	14	7	30
COD	51	22	14	14

RSD – Resíduos Sólidos Domiciliares RSS – Resíduos Sólidos de Serviço de Saúde COD – Codisposição de RSD e RSS

Os microrganismos do grupo dos enterococos apresentam diversos mecanismos de resistência aos antimicrobianos. Alguns desses são inerentes ao grupo, como a sua resistência às cefalosporinas, ao aztreonarn, à oxacilina e a baixos níveis de aminoglicosídeos e clindamicina (MURRAY, 1997). O CLSI (2013) recomenda os seguintes antimicrobianos

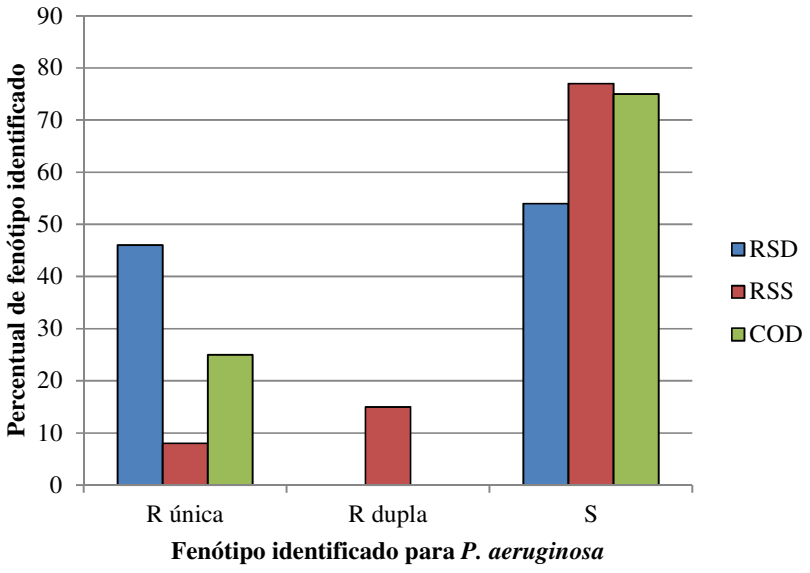
como apropriados para testes de susceptibilidade de rotina primários, assim como, são considerados moléculas clinicamente importantes, particularmente nas infecções nosocomiais por Enterococos: penicilina, ampicilina, vancomicina, teicoplamina e daptomicina. Desses, foram selecionados para o presente estudo os antimicrobianos ampicilina, vancomicina, teicoplamina e foi incluída a ciprofloxacina, que é uma fluoroquinolona, indicada pelo CLSI no tratamento de infecções do trato urinário.

Em 54 observações coletadas em 810 dias de monitoramento, foram isoladas 32 estirpes de *Enterococcus sp*, na Célula RSD; 28 estirpes na Célula RSS e 38 estirpes na Célula COD. Nos Apêndice K a M podem ser visualizados os resultados dos testes de susceptibilidade aos antimicrobianos para enterococos. Verificou-se que 100% das estirpes isoladas nas 3 células se apresentaram sensíveis aos seguintes antimicrobianos: CIP, TEC e VAN. Na Célula RSD, observou-se que 9,4% das estirpes apresentaram perfil de resistência à AMP; 7,1% das estirpes isoladas na Célula RSS foram resistentes a este antimicrobiano e 7,9%, na Célula COD. Murray (1997) afirma que a resistência à vancomicina nos Enterococos (VRE) associada à resistência à ampicilina é uma combinação de consequência terapêutica devastadora. No entanto, nenhuma estirpe resistente à vancomicina foi detectada nos líquidos lixiviados das 3 células.

Os microrganismos do grupo dos enterococos foram os primeiros a adquirirem resistência à vancomicina provavelmente pelo aumento da utilização deste antimicrobiano no tratamento enterocolite por *Clostridium difficile*, bem como ao uso agrícola do glicopeptídeo avoparcina, principalmente na Europa e nos Estados Unidos (KUCH *et al.*, 2012). Enterococos foram reconhecidos como reservatório de genes de resistência aos antimicrobianos com potencial para transferi-los para outras bactérias em ambientes contendo alimentos (ASLAM *et al.*, 2012).

Enterococos com resistência a elevadas concentrações de aminoglicosídeos (HLAR) foram descritos em estirpes isoladas de seres humanos e animais (HAN *et al.*, 2011). Não foram detectadas estirpes HLAR nos lixiviados das células.

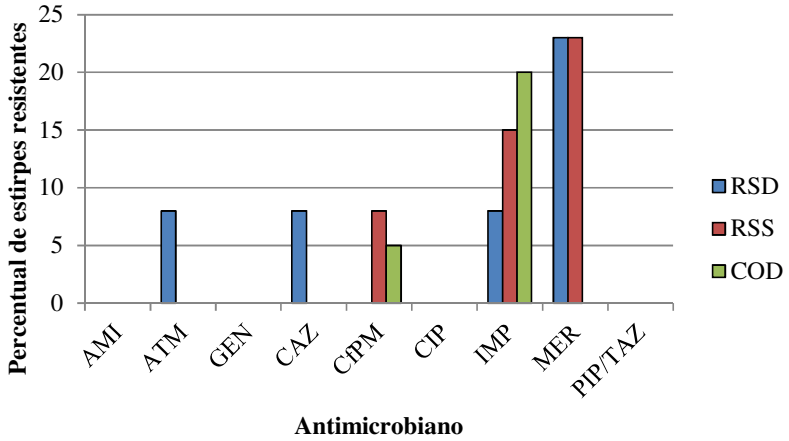
A Figura 62 mostra o percentual de fenótipos identificados para *P. aeruginosa* em cada célula. O fenótipo de multirresistência não foi verificado nas espécies de *P. aeruginosa* isoladas nas 3 células ao longo do tempo de acompanhamento. O perfil de maior incidência nas 3 células foi o de sensibilidade a todos os antimicrobianos testados.



RSD – Resíduos Sólidos Domiciliares RSS – Resíduos Sólidos de Serviço de Saúde COD – Codisposição de RSD e RSS

Figura 62 – Percentual de fenótipos identificados para *P. aeruginosa*

Todas as amostras das 3 células foram sensíveis à AMI, GEN, CIP e PIP/TAZ. Os antimicrobianos carbapenêmicos (IMI e MER) apresentaram o maior percentual de resistência, com destaque para as estirpes isoladas na Célula RSS (Figura 63). Entretanto, Zhang e outros (2001) observaram a resistência à CIP em estirpes de *P. aeruginosa* isoladas de efluente hospitalar, associando este perfil à exposição a altas concentrações de fluoroquinolonas em ambiente hospitalar. Além disso, desinfetantes como o triclosan e os compostos quaternários de amônio, utilizados em ambiente hospitalar, são substratos para mecanismos de resistência em *P. aeruginosa* (FUENTEFRIA *et al.*, 2011).



RSD – Resíduos Sólidos Domiciliares RSS – Resíduos Sólidos de Serviço de Saúde COD – Codisposição de RSD e RSS

Figura 63 – Percentual de estirpes de *P. aeruginosa* isoladas no lixiviado das células RSD, RSS e COD que apresentaram resistência de acordo com os antimicrobianos testados.

P. aeruginosa é um microrganismo importante no monitoramento de resistência aos antimicrobianos no ambiente. Neste estudo foram isoladas estirpes de *P. aeruginosa* no lixiviado das 3 Células que apresentaram resistência aos antimicrobianos carbapenêmicos, às cefalosporinas de 3ª geração e aos monobactâmicos. Fuentefria e outros (2011) estudaram a disseminação da resistência aos antimicrobianos em *P. aeruginosa* em águas residuárias de hospital e em águas superficiais e verificaram a presença de estirpes resistentes em ambos ambientes, com padrão de resistência a diferentes classes de antibióticos, principalmente, aos beta-lactâmicos, podendo contribuir, em um nível ambiental, à difusão de genes de resistência

5.5.2.1 Detecção de enterobactérias produtoras de ESBL

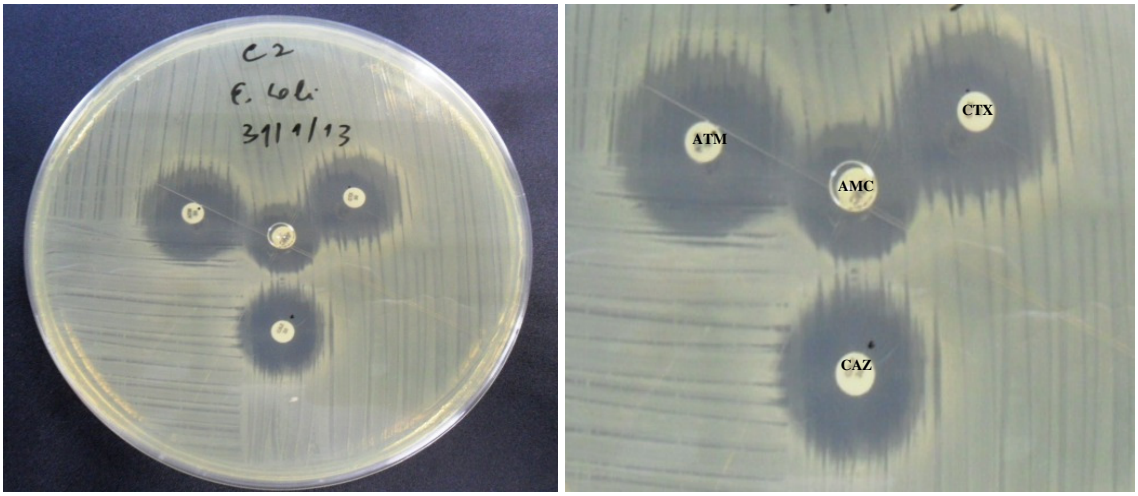
A Tabela 30 ilustra o número e percentual de estirpes de enterobactérias selecionadas como produtoras de ESBL (enzima beta-lactamase de espectro estendido) e confirmadas pelo método de aproximação do disco (ZEMELMAN *et al.*, 2002). A triagem para o fenótipo ESBL revelou que 32% das enterobactérias isoladas na Célula RSD foram caracterizadas como prováveis produtoras de ESBL, de acordo com o CLSI (2013); 30% na Célula RSS e 44% na Célula COD. A técnica de aproximação do disco confirmou a suspeita da presença de enterobactérias produtoras de ESBL em 15,6% das estirpes isoladas na Célula RSD; 10,7% na Célula RSS e 13,6% na Célula COD.

Tabela 30. Número e percentual de estirpes de enterobactérias selecionadas como produtoras de ESBL e confirmação pelo Método de aproximação do disco.

Célula	Total de enterobactérias por célula	Triagem ESBL Número (%)	Confirmação Número (%, em relação ao total)
RSD	77	25 (32)	12 (15,6)
RSS	56	17 (30)	6(10,7)
COD	59	26 (44)	8 (13,6)

RSD – Resíduos Sólidos Domiciliares RSS – Resíduos Sólidos de Serviço de Saúde COD – Codisposição de RSD e RSS

A Figura 64 exibe o resultado positivo para o método de aproximação de disco, na qual se observa o aumento da zona de inibição das oxiamino-cefalosporinas (CTX e CAZ) e do monobactam (ATM) como resultado da sinergia com o ácido clavulânico no disco conjugado de amoxicilina-ácido clavulânico.



Fonte: elaboração própria.

Figura 64. Confirmação da produção de ESBL pelo método de aproximação do disco. Formação de zona de sinergia com o ácido clavulânico no disco conjugado de amoxicilina-ácido clavulânico pela ação da enzima beta-lactamase.

A produção de enzimas beta-lactamases de espectro estendido é um dos mecanismos mais importantes da resistência às cefalosporinas de terceira geração entre membros da família *Enterobacteriaceae*, especialmente, *Klebsiella pneumoniae* (VESPERO *et al.*, 2007). Apesar da detecção de estirpes produtoras de ESBL nas 3 células, 81% das 68 estirpes de enterobactérias suspeitas se apresentaram negativas pelo método empregado. Chagas e outros (2011) investigaram os padrões de resistência aos antimicrobianos em bactérias Gram negativas isoladas da estação de tratamento de esgoto hospitalar e constataram que 44% das bactérias isoladas foram caracterizadas como produtoras de ESBL, com destaque para *K. pneumoniae* e *Enterobacter cloacae.*

5.5.2.2 Detecção de enterobactérias produtoras de carbapenemases

A triagem para a produção de carbapenemase revelou que 26,7% das bactérias isoladas foram caracterizadas como prováveis produtoras de carbapenemase na Célula RSD, 39,3% na Célula RSS e 51 % na Célula COD. O teste de Hodge modificado foi capaz de detectar as estirpes produtoras de carbapenemase, como mostra a Tabela 31. A Figura 65 ilustra a produção da enzima carbapenemase.

Tabela 31. Número e percentual de estirpes de enterobactérias selecionadas como produtoras de carbapenemases e confirmação pelo Método Hodge modificado (CLSI, 2013).

Célula	Total de enterobactérias por célula	Triagem ESBL Número (%)	Confirmação Número (%, em relação ao total)
RSD	77	19 (26,7)	15 (19,4)
RSS	56	22 (39,3)	13 (23,2)
COD	59	30 (51)	16 (27,1)

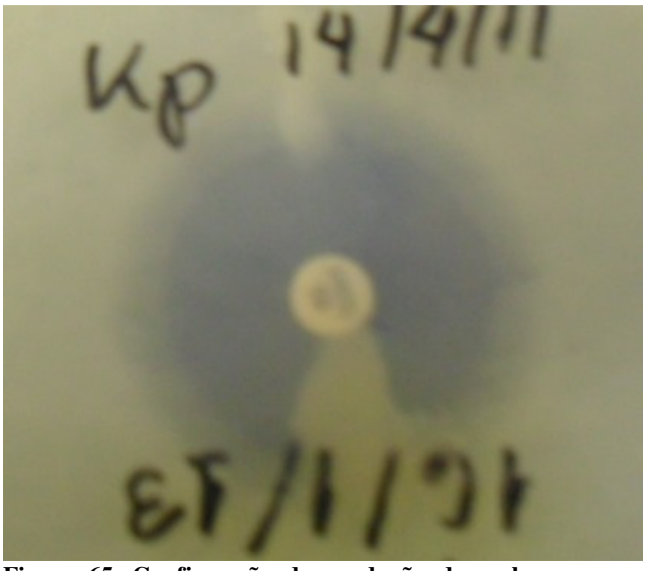


Figura 65. Confirmação da produção de carbapenemase por *K. pneumoniae*. Fonte: elaboração própria.

5.5.2.3 Detecção de enterobactérias produtoras de AmpC (*ESBLS*), Classe C de AMBLER

Para a detecção da produção destas enzimas em outras bactérias, que não apresentam este fenômeno constitutivamente, como é o caso da *K. pneumoniae,* a melhor maneira é visualizar a resistência às cefamicinas, como a cefoxitina (CFO), pois trata-se do melhor indutor da produção de beta-lactamases do grupo C. Em nível fenotípico, esse fenômeno foi observado nas estirpes de *K. pneumoniae*, com triagem positiva para ESBL (CLSI, 2013), através da metodologia da aproximação do disco, modificada. A Figura 66 mostra o resultado positivo para a presunção da presença de *ESBL*, da classe C de Ambler . Em 15% das estirpes de *K. pneumoniae* isoladas do lixiviado da Célula RSD, em 7,5% da Célula RSS e em 10% da Célula COD ocorreu o aparecimento de uma zona de entroncamento entre CFO e ATM (Aztreonam, fármaco beta-lactâmico), ao qual, inicialmente a bactéria era sensível,

demonstrando a diminuição na sensibilidade, causada pela exposição da bactéria ao antibiótico indutor (CFO).

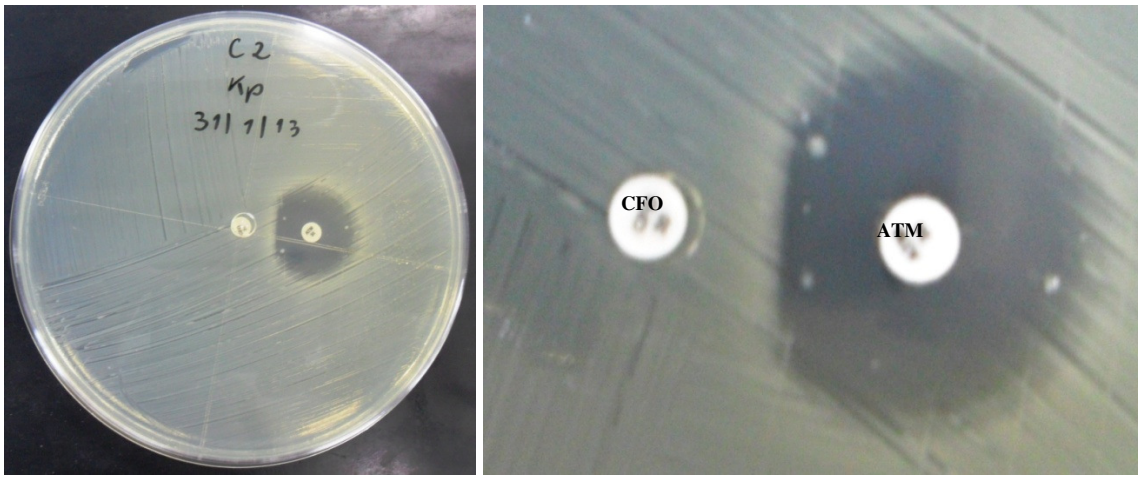


Figura 66 – Detecção de beta-lactamase da classe C de Ambler (induzida). A seta indica a zona de diminuição da sensibilidade induzida pela Cefoxitina (CFO). Fonte: elaboração própria.

5.5.3 Analise dos dados do perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos

5.5.3.1 Teste de probabilidade exata de Fisher, comparando-se os perfis de resistência de cada estirpe com as células.

O teste de probabilidade exata de Fisher verifica se há igualdade entre as probabilidades das amostras. Ou seja, quando a probabilidade de homogeneidade possuir um valor pequeno, maior a evidência de rejeitar a hipótese nula. Isso sugere que existem diferenças entre as amostras.

A análise da probabilidade foi aplicada às enterobactérias devido a maior diversidade de fenótipos de susceptibilidade aos antimicrobianos verificada nos testes, favorecendo a interpretação dos resultados. Os valores observados para as probabilidades mostram que 90% das associações apresentam probabilidade elevada de homogeneidade entre as amostras, conforme mostra o Apêndice N. Pode-se inferir que não houve diferenças nas células com relação às espécies e o perfil de resistência aos antibióticos. Para cada antimicrobiano foi analisada a resistência conferida pela estirpe bacteriana comparando-se as células. O objetivo não é mostrar as estirpes mais resistentes, mas determinar se os perfis de susceptibilidade aos antimicrobianos das estirpes encontradas em cada célula eram significativamente semelhantes. A massa de informações obtida a partir de 210 análises comparativas aponta para uma igualdade entre as proporções de sensibilidade e resistência aos antimicrobianos testados.

Verificou-se que a Célula RSD se apresentou diferente em relação às Células RSS e COD para as estirpes de *Enterobacter sp* frente aos antimicrobianos AMP e IMP, com maior probabilidade de resistência, bem como para CTX, quando comparada somente à Célula RSS. Para essa estirpe, a Célula COD demonstrou ser mais resistente do que as outras frente aos antimicrobianos CAZ e CFO. Quanto às estirpes de *E. coli*, observou-se que a Célula COD apresentou maior probabilidade de resistência frente aos antimicrobianos AMP, AMC e CFZ do que as Células RSS e RSD. Para as estirpes de *Klebsiella sp*, a Célula RSD demonstrou maior probabilidade de resistência frente à CAZ e à CTX e a Célula RSS, à SUT e à CFO. Na análise da diferença observada nas estirpes de *Proteus sp*, as Células RSS e COD apresentaram maior probabilidade de resistência a CFZ.

Com base nessas análises foi elaborado o Quadro 6 que apresenta as estirpes que demonstraram diferenças de acordo com o antimicrobiano para o qual foi resistente e a Célula de onde se originou.

Quadro 6. Espécies bacterianas que apresentaram maior probabilidade de resistência pelo Teste de Probabilidade Exata de Fisher de acordo com os antimicrobianos e o tipo de célula.

Estirpe que mostrou diferenças nas proporções	Célula com maior probabilidade de estirpes resistentes	Antimicrobiano
E. coli	COD	AMP AMC CFZ
Enterobacter sp	RSD	AMP IMP CTX
	COD	CAZ CFO
Klebsiella sp	RSD	CTX CAZ
	RSS	SUT CFO
Proteus sp	RSD	CFO CFZ

5.5.3.2 Teste de probabilidade exata de Fisher, comparando-se os perfis de resistência de cada célula com o tempo

Com o objetivo de verificar se o tempo de confinamento nas células influenciou no padrão de susceptibilidade aos antimicrobianos, foram realizadas 2 análises com o foco no tempo. As informações sobre as espécies foram ignoradas e os dados referentes às observações foram divididos em 4 períodos, como se segue: T_0, dezembro de 2010 a junho de 2011; T_1, julho a dezembro de 2011; T_2, janeiro a junho de 2012; T_3, julho de 2012 a fevereiro de 2013.

A primeira análise consistiu na comparação dos dados de perfil resistente e de perfil sensível a cada antimicrobiano com os pares de tempo (T_0, T_1,T_2 e T_3). Na segunda análise, foram comparados os dados de perfil resistente e de perfil sensível a cada antimicrobiano com os pares de células em cada período (T_0, T_1,T_2 e T_3).

Verificou-se que não há diferença entre as proporções de padrões de susceptibilidade aos antimicrobianos comparando-se os períodos de tempo já que 91,7% das comparações apresentam valores de significância maiores que 10%, ou seja, não pode ser rejeitada a hipótese de que as proporções são iguais. Da mesma forma, não houve diferenças entre as células em cada período avaliado já que 92,3% das comparações indicam a aceitação da hipótese de que não há diferença nas proporções de padrões sensível e resistente. Isso mostra que o tempo de confinamento dos resíduos não interferiu no padrão de susceptibilidade aos antimicrobianos em nenhuma das células.

Neste estudo, a utilização de indicadores de contaminação ambiental, bem como a detecção de características de resistência aos antimicrobianos revelou semelhanças entre os lixiviados resultantes do confinamento de RSD, RSS e da codisposição. No entanto, a técnica de PCR-DGGE associada ao sequenciamento de DNA detectou perfis de comunidades microbianas diferentes entre as células, que provavelmente pertençam a grupos bacterianos não cultiváveis. Dessa forma, a aplicação das duas técnicas combinadas, dependentes e independentes de cultivo, pode ser a maneira mais adequada para se obter uma visão geral e da estrutura da comunidade microbiana.

5.6 RESUMO DOS RESULTADOS

Os resultados alcançados com esta investigação permitem supor que os RSD e os RSS sem tratamento prévio quando dispostos em aterro sanitário não se diferenciaram quanto aos parâmetros biológicos avaliados no lixiviado gerado, destacando-se os seguintes aspectos:

- **Volume do lixiviado gerado**: a Célula RSD gerou em média 52,7 L/dia de líquidos lixiviados em 342 observações; Célula RSS gerou em média 70,1 L/dia e a Célula COD gerou 100,4 L/dia. Foi observada correlação entre a precipitação na área-teste e o volume de lixiviado gerado em 24 horas e associação positiva perfeita entre as células indicando que as mesmas se comportaram de modo semelhante quanto à geração de lixiviado.
- **Temperatura do lixiviado gerado:** os valores médios de temperatura em 342 observações se encontraram na faixa mesofílica e podem ser considerados estatisticamente iguais (Célula RSD=29,1; Célula RSS=28,4; Célula COD=28,6).
- **pH:** Os valores médios de pH apontam para a faixa ótima de crescimento bacteriano, entre 6,5 e 7,5, e indicam que houve semelhança entre nos lixiviados gerados nas 3 células em 51 observações.
- **Valor médio de coliformes totais (NMP 100mL^{-1}):** 3,9x10^{4} para a Célula RSD; 4,8x10^{4} para a RSS e 3,1x10^{4} para COD. A análise estatística dos dados coletados ao longo de 810 dias de monitoramento mostram que não há diferenças significativas para os valores de coliformes totais no lixiviado das células.
- **Valor médio de *Escherichia coli* (NMP 100mL^{-1}):** 2,7x10^{4} para a Célula RSD; 8,6x10^{4} para a RSS e 1,4x10^{4} para COD**.** A análise estatística dos dados coletados ao longo de 810 dias de monitoramento mostram que não há diferenças significativas para os valores de *E. coli* no lixiviado das células.
- **Valor médio de enterococos (NMP 100mL^{-1}):** 7,0x10^{3} para a Célula RSD; 2,1x10^{3} para a RSS e 6,3x10^{3} para COD. A análise estatística dos dados coletados ao longo de 810 dias de monitoramento mostram que não há diferenças significativas para os valores de enterococos no lixiviado das células RSD e COD. Os valores observados no lixiviado da Célula RSS foram considerados estatisticamente diferentes dos valores das demais células, com valores médios inferiores para enterococos.
- **Valor médio de *Pseudomonas aeruginosa* (NMP 100mL^{-1}):** 9,1x10^{3} para a Célula RSD; 6,5x10^{3} para a RSS e 4,8x10^{3} para COD. A análise estatística dos dados coletados ao longo de 810 dias de monitoramento mostram que não há diferenças significativas para os valores de *P. aeruginosa* no lixiviado das células.
- **Valor médio de bactérias heterotróficas (UFC mL^{-1}):** 1,3x10^{6} na Célula RSD; 1,0x10^{6}, na Célula RSS e 9,6x10^{5}, na Célula COD. Não houve diferenças significativas entre as células para os valores observados.

- **Pesquisa de enterobactérias:** os perfis bacterianos nas Células RSD e COD observados durante o experimento foram: *Enterobacter sp, K. pneumoniae, E. coli, P. mirabilis, P. vulgaris, K. oxytoca, Providencia rettgeri, Salmonella spp, C. freündii, Pantoae sp*; na Célula RSS: *Enterobacter sp, K. pneumoniae, E. coli, P. mirabilis, P. vulgaris, K. oxytoca, Serratia sp.*
- **Pesquisa de *Staphylococcus aureus*:** Com a metodologia empregada, não foi isolado *Staphylococcus aureus* nas 54 amostras de lixiviados gerados em cada célula.
- **Padrão de bandeamento de fragmentos de DNA por DGGE:** Os padrões de bandeamento obtidos com as análises do DNA das comunidades microbianas das amostras das Células RSD, RSS e COD coletadas no ano de 2011 e no final do experimento (2013) apresentaram baixo coeficiente de similaridade em cada célula e entre elas, sugerindo uma estruturação diferencial das comunidades microbianas em cada amostra de lixiviado analisada e que as microbiotas destas amostras não modificaram ao longo do tempo de confinamento dos resíduos.
- **Atividade inibitória:** Os lixiviados gerados pelas células após 810 dias de confinamento dos resíduos não apresentaram atividade inibitória contra *S. aureus, P. aeruginosa* e *Salmonella entérica* sorovar Choleraesuis.
- **Padrão de susceptibilidade aos antimicrobianos:** Foram detectadas estirpes de enterobactérias com padrões de multirresistência aos antimicrobianos nas 3 células. Não houve diferenças estatísticas entre as proporções de padrões de susceptibilidade aos antimicrobianos observados nas estirpes bacterianas isoladas nas células. Não foram detectadas estirpes de *P. aeruginosa* multirresistentes.
- **Pesquisa de fenótipos de resistência próprios do ambiente hospitalar: ESBL, carbapenemases, AmpC, HLAR, VRE:** Estirpes de enterobactérias com suspeita de produção de ESBL e de carbapenemases foram detectadas em 15,6% e 19,4% das amostras isoladas na Célula RSD, respectivamente; em 10,7% e 23,2% na Célula RSS, respectivamente e em 13,6% e 27,1% na Célula COD, respectivamente; Não foram detectadas estirpes de enterococos resistentes à vancomicina (VRE) e com perfil de alto nível de resistência aos aminoglicosídeos (HLAR) em nenhuma célula. O menor percentual de detecção de fenótipos com características de microrganismos originários de ambiente hospitalar foi na Célula RSS, seguido pela Célula COD e pela Célula RSD.

6 CONCLUSÕES

O presente trabalho simulou 3 células de aterro sanitário para disposição e codisposição de Resíduos Sólidos Domiciliares e Resíduos Sólidos de Serviço de Saúde. Através de determinados parâmetros bacteriológicos e a aplicação de uma técnica de biologia molecular, os resultados sugerem que a codisposição de RSD e de RSS pode ser empregada como método de destinação final destes resíduos, sem prejuízos à saúde pública e ao meio ambiente. Destacam-se as seguintes considerações:

- As células construídas mostraram ser um bom modelo de estudo para os parâmetros biológicos de lixiviados de aterro;
- Resíduos potencialmente infectantes ou químicos corresponderam a 19% dos Resíduos Sólidos Domiciliares que são coletados e dispostos no aterro sanitário, representando um percentual superior ao dos Resíduos Sólidos de Serviço de Saúde.
- Os valores verificados para os indicadores de contaminação ambiental das 3 células sugerem que estes microrganismos ainda persistem no lixiviado após 810 dias de confinamento;
- O sistema de aterramento sanitário de resíduos foi capaz de reduzir as populações de microrganismos indicadores de poluição fecal desde o início do confinamento;
- Os líquidos lixiviados das células experimentais de Resíduos Sólidos Domiciliares e da Codisposição não apresentaram diferença significativa na microbiota ao longo do estudo, enquanto que os da Célula RSS apresentaram valores inferiores para coliformes totais, *Escherichia coli* e enterococos em relação às demais células.
- A codisposição de Resíduos Sólidos Domiciliares e Resíduos Sólidos de Serviço de Saúde não se diferenciou da disposição exclusiva de Resíduos Sólidos Domiciliares, quanto à resistência aos antimicrobianos,
- Microrganismos com perfil de multirresistência hospitalar foram isolados nas 3 células de forma significativamente semelhante;
- A técnica de DGGE-PCR foi útil para evidenciar a baixa similaridade entre os padrões de bandeamento obtidos dos lixiviados de células confinando RSD e RSS e a codisposição destes resíduos;
- A análise do sequenciamento dos fragmentos de DNA foi imperativa para melhor descrição das comunidades microbianas presentes;
- Em relação às características ecológicas das células, a técnica de PCR-DGGE associada ao sequenciamento pode ser útil na aplicação de estratégias mais eficientes no tratamento

de lixiviado de aterros, através da seleção, utilização e estímulo de populações microbianas específicas presentes nos processos biológicos de degradação dos resíduos sólidos.

- Nas condições estudadas, os resultados obtidos sugerem que não houve diferenças significativas no comportamento das células dando suporte à prática da codisposição de RSS e RSD.

7 RECOMENDAÇÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Detecção de bactérias anaeróbias em estudos de codisposição de Resíduos Sólidos Domiciliares e de Resíduos Sólidos de Serviço de Saúde;
- Detecção de bastonetes Gram negativos não fermentadores em estudos de codisposição de Resíduos Sólidos Domiciliares e de Resíduos Sólidos de Serviço de Saúde;
- Detecção de microrganismos de importância hospitalar em estudos de codisposição de Resíduos Sólidos Domiciliares e de Resíduos Sólidos de Serviço de Saúde através de métodos independentes do cultivo;
- Pesquisa de substâncias antimicrobianas no lixiviado de aterro em diferentes fases da degradação biológica frente aos patógenos;
- Avaliação da susceptibilidade aos antimicrobianos de microrganismos patogênicos isolados no lixiviado de aterro sanitário;
- Estudo do lixiviado de aterro de codisposição de RSD e RSS através de parâmetros físico-químicos e microbiológicos;
- Pesquisa de marcadores moleculares de resistência microbiana em microrganismos isolados em lixiviado de aterro sanitário;
- Avaliação dos efeitos do aterramento de Resíduos Sólidos de Serviço de Saúde do grupo A, sem tratamento prévio no local de geração, quanto aos parâmetros biológicos;
- Avaliação da presença de microrganismos de importância hospitalar em Resíduos Sólidos de Serviço de Saúde do grupo D;
- Avaliação da sobrevivência e desenvolvimento de microrganismos patogênicos nos lixiviados de aterro sob diferentes condições físico-químicas e microbiológicas.
- Uso de ferramentas moleculares na avaliação da diversidade microbiana em lixiviado de aterro e de codisposição de resíduos;
- A aplicação de técnicas de pirosequenciamento nas amostras do lixiviado de aterro de codisposição de RSD e RSS;
- Estudo epidemiológico das doenças ocupacionais em trabalhadores relacionados à assistência à saúde.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABNT – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NORMA BRASILEIRA (NBR) 15849 – Resíduos sólidos urbanos – Aterros sanitários de pequeno porte – Diretrizes para localização, projeto, implantação, operação e encerramento. Rio de Janeiro, 2010.

_____. NBR 13853: Coletores para resíduos de serviços de saúde perfurantes ou cortantes. Rio de Janeiro, 1997.

_____. NBR 8419: Apresentação de projetos de aterros de resíduos sanitários sólidos urbanos. Rio de Janeiro, 1992

ADEYEBA, O. A.; AKINBO, J. A. **Pathogenic intestinal parasites and bacterial agentes in solid wastes.** East African Medical Journal, v. 79, p.604-610, 2002.

ADEYEMI, O.; OLOYEDE, O.; OLADIJI, A. **Physicochemical and microbial characteristics of leachate-contaminated groundwater.** Asian. J. Biochem., v.5, p. 343-3

AGUILAR-VIRGEN, Q.; TABOADA-GONZÁLEZ, P.; OJEDA-BENÍTEZ, S. **Seasonal analysis of the generation and composition of solid waste: potential use – a case study.** Environmental Monitoring Assess, v. 185, p. 4633–4645, 2013.

ALAGÖZ, B. A.; KOCASOY, G. **Treatment and disposal alternatives for health-care waste in developing countries – a case study in Istanbul, Turkey.** Waste Management and Research, v. 25, p. 83-89, 2007.

AMANN, R.I.; LUDWIG, W.; SCHKEIFER, K. H. **Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation.** Microbiology Reviews, v. 59, p. 143, 1995.

AMARAL, M. C. S. **Caracterização de lixiviados empregando parâmetros coletivos e identificação de compostos.** Dissertação de mestrado. Escola de Engenharia da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2007, 207 p.

ANVISA – AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Bases teóricas e uso clínico, 2007. Disponível em: **<http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/controle/rede_rm/curso>**. Acesso em: 27 mai. 2013.

_____. Microbiologia clínica para o controle de infecção relacionada à assistência à saúde. Módulo 6: detecção e identificação de bactérias de importância médica. 2013. Brasília, 150p.

APHA, AWWA, WPCF, Standard Methods for the Examination of Water and Waste Water, 21th Ed., 2005.

ARUKWE, A.; EGGEN, T.; MÖDER, M. **Solid waste deposits as a significant source of contaminants of emerging concern to the aquatic and terrestrial environments — A developing country case study from Owerri, Nigeria.** Science of the Total Environment., v. 438, p. 94–102, 2012.

ABRELPE – Associação Brasileira de Empresas de Limpeza Pública e Resíduos Especiais. Panorama de resíduos sólidos no Brasil, São Paulo, Brasil, 2010.

ASLAM, M.; DIARRA, M. S.; CHECLEY, S.; BOHAYCHUCK, V.; MASSON, L. **Characterization of antimicrobial resistance and virulence genes in *Enterococcus* spp. isolated from retail meats in Alberta, Canada.** International Journal of Food Microbiology, v. 156, p.222–230, 2012.

ASTM International, 2003. Standard Test Method for Determination of the Composition of Unprocessed Municipal Solid Waste. In: ASTM 5231-92. American Society for Testing and Materials, US.

AVERY, L. M., BOOTH, P., CAMPBELL, C., TOMPKINS, D. HOUGH, R. L. **Prevalence and survival of potential pathogens in source-segregated green waste compost.** Science of the Total Environment, v. 431, p. 128–138, 2012.

BAGLEY, S. T. **Habitat association of *Klebsiella* species.** Infection Control., v. 6, p. 52-58, 1985.

BAREFOOT, S.; KLAENHAMMER, T.R. **Detection and activity of lactacin B, bacteriocin produced by *Lactocobacillus acidophilus*.** Appl. Environ. Microbiol., v. 45, p.1808-1815, 1993.

BARR, S.; GUILBERT, S.; METCALFE, A.; RILEY, M.; ROBINSON, G. M.; TUDOR, T. L. **Beyond recycling: An integrated approach for understanding municipal waste management.** Applied Geography, v. 39, p. 67-77, 2013.

BASSETTI, M.; MERELLI, M.; TEMPERONI, C.; ASTILEAN, A. **New antibiotics for bad bugs: where are we?.** Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials, v. 12, p. 22- 37, 2013.

BASSIN, J. P.; ROSADO, A. S. **Técnicas de biologia molecular aplicadas ao estudo da diversidade microbiana.** In: Processos biológicos avançados para tratamento de efluentes. Ed Interciência, Rio de Janeiro, 2011, 357 p.

BENDJOUDI, Z., TALEB, F., ABDELMALEK, F., ADDOU, A. **Healthcare waste management in Algeria and Mostaganem department.** Waste Management, v. 29, p.1383–1387, 2009.

BENLLOCH, S.; MARTINEZ-MURCIA, A. J.; RODRIGUEZ-VALERA, F. **Sequencing of bacterial and archaeal 16s Rrna genes directly amplified from a hypersaline environment.** Systematic and Applied Microbiology, v. 18, p. 574, 1995.

BIDONE, F.R.A.; SOUZA, L.F.; MACHADO, R.M. **Micro-organismos de interesse em saúde pública pesquisados em percolado de aterro sanitário de codisposição de resíduos sólidos de serviço de saúde com resíduos sólidos urbanos**. XXVII XXVII Congresso Interamericano de Engenharia Sanitária e Ambiental. Porto Alegre – RS, 2005.

BLENKHARN, J. I. **Medical wastes management in the south of Brazil.** Waste Management, v. 26, p. 315–317, 2006.

BOUCHER, H. N. W.; TALBOT, G. H.; BRADLEY, J. S.; EDWARDS, J. E.; GILBERT, D.; RICE, L. B.; SCHELD, M.; SPELLBERG, B.; BARTLETT, J. **Bad Bugs, No Drugs: No ESKAPE! An Update from the Infectious Diseases Society of America.** Clinical Infectious Diseases, v.48, p.1–12, 2009.

BOULOS, R. A. **Antimicrobial dyes and mechanosensitive channels**. Antonie van Leeuwenhoek, v. 104, p.155–167, 2013.

BOUMECHHOUR, F., RABAH, K., LAMINE, C., SAID, B. M. **Treatment of landfill leachate using Fenton process and coagulation/flocculation.** Water and Environment Journal., v. 27, 114–119, 2013.

BOUMECHHOUR, F.; RABAH, K.; LAMINE, C.; SAID, B. M. **Treatment of landfill leachate using Fenton process and coagulation/flocculation.** Water and Environment Journal., v. 27, p. 114–119, 2013.

BOWEI, C.; XINGYU, L.; WENYAN, L.; JIANKANG, W. **Application of clone library analysis and real-time PCR for comparison of microbial communities in a low-grade copper sulfide ore bioheap leachate.** Journal of Indian Microbiology and Biotechnology, v. 36, p. 1409–1416, 2009.

BRASIL. Resolução da Diretoria Colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) nº 306, de 7 de dezembro de 2004**. Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, DF, 10 dez. 2004.

BRASIL. Resolução do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) nº 358, de 29 de abril de 2005**.**

BRAT, T.; BRASTER, M.; VAN BREUKELEN, B.M.; VAN STRAALEN, N.M.; ROLING, W.F.M. **Eukaryotic Diversity in an Anaerobic Aquifer Polluted with Landfill Leachate.** Applied and Environmental Microbiology, v. 74, n.13, p. 3959, 2008.

BREATHNACH, A.S.; CUBBON, M.D.; KARUNAHARAN, R.N; POPE, C. F.; PLANCHE, T. D.. **Multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* outbreaks in two hospitals: association with contaminated hospital waste-water systems.** Journal of Hospital Infection, v. 82, p. 19-24, 2012.

BRENNER, D. J.; KRIEG, N. R.; GARRITY, G. M.; STALEY, J. T.; BOONE, D. R.; VOS P.; GOODFELLOW, M.; RAINEY, F. A.; SCHLEIFER, K. H. Bergey´s Manual of Systematic Bacteriology., 2nd ed., 401p, 2005.

BRIONES, A. M.; DAUGHERTY, B. J.; ANGENENT, L. T. **Characterization of microbial trophic structures of two anaerobic bioreactors processing sulfate-rich waste streams.** Water Research., v. 43, p. 4451-4460, 2009.

BROWN, K. D.; KULIS, A. J.; THOMSON, B.; CHAPMAN, T. H.; DOUGLAS, D.; MAWHINNEY, D. **Occurrence of antibiotics in hospital, residential, and dairy effluent, municipal wastewater, and the Rio Grande in New Mexico.** Science of the Total Environment, v. 366, p.772–783, 2006.

CALLI, B.; MERTOGLU, B.; ROEST, K.; INANC, B. **Comparison of long-term performances and final microbial compositions of anaerobic reactors treating landfill leachate.** Bioresource Technology., v. 97, p. 641–647, 2006.

CASANOVAS-MASSANA, A.; LUCENA, F.; BLANCH, A. R. **Identification of *Pseudomonas aeruginosa* in water-bottling plants on the basis of procedures included in ISO16266:2006.** Journal of Microbiological Methods, v. 81, p.1–5, 2010.

CASTRO NETO, M. Bactérias multirresistentes. In: COUTO, R. C.; PEDROSA, T. M. G.; NOGUEIRA, J. M. (Eds.) **Infecção hospitalar e outras complicações não-infecciosas da doença: epidemiologia, controle e tratamento.** 3ª Ed. Rio de Janeiro, RJ: MEDSI, 2003. 904p.

CATTOIR, V.; LECLERCQ, R., **Twenty-five years of shared life with vancomycin-resistant enterococci: is it time to divorce?** Journal of Antimicrobial Chemotherapy, v. 68, p.731–742, 2013.

CAUDURO, F.; ROBERTO, S. **Avaliação comparativa de testes de lixiviação de resíduos**

Sólidos. XXVIII Congresso Interamericano de Ingeniería Sanitaria y Ambiental. Cancún – México, 2002.

CETESB – Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. Coliformes termotolerantes – determinação pela técnica de tubos múltiplos com meio A1 – método de ensaio. L5.406. CETESB, São Paulo. 2007. 16p.

CHAERUL, M., TANAKA, M., SHEKDAR, A. V. **A system dynamics approach for hospital waste management.** Waste Management., v. 28, p. 442–449, 2008.

CHAGAS, T.P.G., SEKI, L.M. CURY, J.C., OLIVEIRA, J.A.L., D´ VILA, A.M.R., SILVA, D.M., ASENSI, M.D. **Multiresistance, beta-lactamase-encoding genes and bacterial diversity in hospital wastewater in Rio de Janeiro, Brazil.** Journal of Applied Microbiology, v.111, p. 572-581, 2011.

CHAMBERS, H.F. **The changing epidemiology of Staphylococcus aureus? Emerging Infectious Disease**, v.7, p.178-82, 2001.

CHANG, X.; MICHAEL, T. M.; LIU, X.; ZHAO, Q.; CHEN, H.; CHEN, J.; QIU, Z. **Determination of antibiotics in sewage from hospitals, nursery and slaughterhouse, wastewater treatment plant and source water in Chongqing region of Three Gorge Reservoir in China.** Environmental Pollution, v.158, p.1444–1450 (2010).

CHEN, L. F.; CHOPRA, T; KAYE, K. S. **Pathogens Resistant to Antibacterial Agents.** Infectious Disease Clinics of North America, v. 23, p.817–845, 2009.

CHRISTENSEN, T.H.; KJELDSEN, P.; ALBRECHTSEN, H.-J.; HERON, G.; NIELSEN, P.H.; BJERG, P.L.; HOLM,P.E. **Attenuation of landfill leachate pollutants in aquifers**, Critical Review and Environmental Science Technology., v. 24, p. 119-123, 1994.

CINQUEPALMI, V.; MONNO, R.; FUMAROLA, L.; VENTRELLA, G.; CALIA, C.; GRECO, M. F.; DE VITO, D; SOLEO, L**. Environmental Contamination by Dog's Faeces: A Public Health Problem?** International Journal of Environment and Research Public Health, v.10, p.72-84, 2013.

CLARKE, C. R. **Antimicrobial resistance**. Veterinary Clinics of North America: Small Animals Practice, v.36, p.987–1001, 2006.

CLEMENTINO, M. M.; FERNANDES, C. C.; VIEIRA, R. P.; CARDOSO, A. M.; POLYCARPO, C. R.; MARTINS, O. B. **Archaeal diversity in naturally occurring and impacted environments from a tropical region.** Journal and Applied Microbiology., v. 103, p.141-151, 2007.

CLSI – Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. M100 – S22, 2013.

COMPANHIA MUNICIPAL DE LIMPEZA URBANA – COMLURB. Caracterização gravimétrica e microbiológica dos resíduos sólidos do município do Rio de Janeiro – 2013. Gerência de Pesquisas Aplicadas. Diretoria Técnica e Logística. Publicação interna. 104p., 2013.

CONAMA – CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. RESOLUÇÃO n° 358, de 29 de abril de 2005. Dispõe sobre o tratamento e a disposição final dos resíduos de serviço de saúde e dá outras providências. Ministério do Meio Ambiente e da Amazônia Legal, Brasil, 2005.

COUTINHO, H.L.C.; OLIVEIRA, V. M.; MANFIO, G. P.; ROSADO, A.S. **Evaluating the microbial diversity of soil samples: methodological innovations.** In: Academia Brasileira de Ciências, Rio de Janeiro, v 71, n.3, p. 491-503, 1999.

CUSSIOL, N.A.M.; **Disposição final de resíduos potencialmente infectantes.** Tese de Doutorado, Universidade Federal de Minas Gerais, Brasil, 313p, 2005.

DA COSTA, P. M.; VAZ-PIREZA, P.; BERNARDO, F. **Antimicrobial resistance in *Enterococcus* spp. Isolated in inflow, effluent and sludge from municipal sewage 145requ treatment plants.** Water research, v.40, p.1735 – 1740, 2006.

DA SILVA, C. E.; HOPPE, A. E.; RAVANELLO, M. M.; MELLO, N. **Medical wastes management in the south of Brazil.** Waste Management, v.25, p.600-605, 2005.

DALMARCO, E. M.; BLATT, S. L.; CÓRDOVA, M. M. **Laboratory Identification of Extended-Spectrum β-lactamases – A review.** RBAC, vol. 38, p.171-177, 2006.

DEBBY, B. D.; GANOR, O.; YASMIN, M; DAVID, L.; NATHAN, K.; ILANA, T.; DALIT, S.; SMOLLAN, G.; GALIA, R. **Epidemiology of carbapenem resistant *Klebsiella pneumonia* colonization in an intensive care unit.** European Journal of. Clinical. Microbiology.and Infectious Diseases. V. 31, p.1811–1817,

DEBERE, M. K.; GELAYE, K. A.; ALAMDO, A. G.; TRIFA, Z. M. **Assessment of the health care waste generation rates and its management system in hospitals of Addis Ababa, Ethiopia, 2011.** BMC Public Health, v.13, p.28-37, 2013.

DEPARDIEU, F.; PODGLAJEN, I.; LECLERCQ, R.; COLLATZ, E.; COURVALIN, P. **Modes and modulations of antibiotic resistance gene expression.** Clinical Microbiology. Reviews., v. 20, p. 79-114, 2007.

DIAZ, L.F.; EGGERTH, L.L.; ENKHTSETSEG, S.H; SAVAGE, G.M. **Characteristics of healthcare wastes.** Waste Management., v. 28, p. 1219–1226, 2008.

DIAZ, L.F.; SAVAGE, G.M.; EGGERTH, L.L. **Alternatives for the treatment and disposal of healthcare wastes in developing countries.** Waste Management., v. 25, p. 626–637, 2005.

DIEZ, B.; C. PEDROS-ALIO; T. L. MARSH; R. MASSANA. **Application of denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) to study the diversity of marine picoeukaryotic assemblages and comparison of DGGE with other molecular techniques.** Applied and Environmental. Microbiology, v. 67, p. 2942-2951, 2001.

DUINEVELD, B. M.; ROSADO, A. S.; ELSAS, J. D. VAN; VEEN, J. A. VAN. **Analysis of the dynamics of bacterial communities in the rhizosphere of the chrysanthemum via denaturing gradient gel electrophoresis and substrate utilization patterns.** Applied and Environmental Microbiology, v.64, p.4950, 1998.

DUNBAR, J.; TICKNOR, L.O.; KUSKE, C. R. **Assessment of microbial diversity in four southwestern United States soils by 16S Rrna gene terminal restriction fragment analysis.** Applied.and Environmental Microbiology, v.66, n.7, p. 2943, 2000.

DURSUNA, M.; KARSAKA, E.; KARADAYIA, M.A. **Assessment of health-care waste treatment alternatives using fuzzy multi-criteria decision making approaches.** Resources, Conservation and Recycling., v. 57 p. 98–107, 2011.

ECONOMIDES, C.; LIAPI, M.; MAKRIS, K. C. **Antibiotic resistance patterns of Salmonella and *Escherichia coli* in the groundwater of Cyprus.** Environmental Geochemistry Health, v.34, p.391–397, 2012.

EDBERG, S. C.; RICE, E.W.; KARLIN, R. J.; ALLEN, M. J. ***Escherichia coli*: the best biological drinking water indicator for public health protection.** Society for Applied Microbiology, v.29, p.106S–116S, 2000.

EFUNTOYE, M. O., BAKARE, A. A., SOWUNMI, A. A. **Virulence factors and antibiotic resistance in Staphylococcus aureus and Clostridium perfringens from landfill leachate.** African Journal of Microbiology Research, v. 523, p.3994-3997, 2011.

ERCOLINI, D. **PCR-DGGE fingerprinting: novel strategies for detection of microbes in food.** Journal of Microbiological Methods, v.56, p.297, 2004.

FOROUHAR, A.; HRISTOVSKI, K. D**. Characterization of the municipal solid waste stream in Kabul, Afghanistan.** Habitat International, v.36, p.406-413, 2012.

FERREIRA, J. A. **Resíduos Sólidos e Lixo Hospitalar: Uma Discussão Ética**. Cadernos de Saúde Pública, v.11, p.314-320, 1995.

FRANZ, C. M.; STILES, M. E.; SCHLEIFER, K. H.; HOLZAPFEL, W. H. **Enterococci in foods—a conundrum for food safety.** International Journal of Food Microbiology, v. 88, p.105-122, 2003.

FRIDKIN, S.K.; GAYNES, R.P. **Antimicrobial resistance in intensive care units.** Clinics in Chest Medicine, v.20, p.303-16, 1999.

FRY, N. K.; ROWBOTHAM, T. J.; SAUNDERS, N. A.; EMBLEY, T. M. **Direct amplification and sequencing of the 16S ribosomal DNA of an intracellular Legionella species recovered by amoebal enrichment from the sputum of a patient with pneumonia.** FEMS Microbiological Letters, v. 83, p.165, 1991.

FUENTEFRIA, D. B.; FERREIRA, A. E.; CORÇÃO, G. **Antibiotic-resistant *Pseudomonas aeruginosa* from hospital wastewater and superficial 146requ: Are they genetically related?** Journal of Environmental Management, v. 92, p.250-255, 2011.

GALES, A.C.; JONES, R.N.; GORDON, K.A.; SADER, S.S.; WILKE, W.W.; BEACH, M.L.; PFALLER, M.A.; and the SENTRY STUDY GROUP (Latin America) – **Activity and spectrum of 22 antimicrobial agents tested against urinary tract infection pathogens.** Journal of Antimicrobial Chemotherapy, v. 45, p.295-303, 2000.

GBAGUIDI-HAOREL, H.; DUMARTIN, C.; L'HERITEAU, F.; PEFAU, M.; HOCQUET, D.; ROGUES, A.; BERTRAND, X. **Antibiotics involved in the occurrence of antibiotic-resistant bacteria: a nationwide multilevel study suggests differences within antibiotic classes.** Journal of Antimicrobial Chemotherapy, v.68, p.461–470, 2013.

GEBERT, J.; STRALIS-PAVESE, N.; ALAWI, M.; BODROSSY,L. **Analysis of methanotrophic communities in landfill biofilters using diagnostic microarray.** Environmental Microbiology., v. 10, n. 5, p. 1175-1188, 2008.

GELLYNCK, X., JACOBSEN, R., VERHELST, P. **Identifying the key factors in increase recycling and reducing residual household waste: A case study of the Flemish region of Belgium.** Journal of Environmental Management, v. 92, p. 2683-2690, 2011.

GISKE, C.G.; CORNAGLIA, G. **Supranational surveillance of antimicrobial resistance: the legacy of the last decade and proposals for the future**. Drug Resistance Updating, v. 13, p. 93-98, 2010.

GIUSTI, **A review of waste management practices and their impact on human health.** Waste Management, v.29, p.2227–2239, 2009.

GOMES, L.P.; ESTEVES, R.V.R. **Análise do sistema de gerenciamento dos resíduos de serviços de saúde nos municípios da bacia hidrográfica do Rio dos Sinos, Rio Grande do Sul, Brasil**. Revista de Engenharia Sanitária e Ambiental, v.17, n.4, p. 377-384, 2012.

GÓMEZ , M. A., BALDINI, M., MARCOS, M., MARTINEZ, A., FERNÁNDEZ, S., REYES, S. **Aerobic microbial activity and solid waste biodegradation in a landfill located in a semi-arid region of Argentina.** Annual Review of Microbiology, v. 62, p. 745–752, 2012.

GOMES, T.; SILVA, C. E.; **Avaliação quali-quantitativa do percolado gerado no aterro da Caturrita em Santa Maria-RS.** 23º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental. ABES – Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental, 2005. Disponível em: **<http//www.abes-dn.org.br>.** Acesso em: 25 set. 2013.

GRISA, A. M. C.; SIMIONI, T.; CARDOSO, V.; ZENI, M.; BRANDALISE, R. N; ZOPPAS, B. C. D. A. **Degradação Biológica do PVC em Aterro Sanitário e Avaliação Microbiológica.** Polímeros, v.21, p. 210-216, 2011.

GRISEY, E., BELLE, E. DAT, J. MUDRY, J., ALEYA, L. **Survival of pathogenic and indicator organisms in groundwater and landfill leachate through coupling bacterial enumeration with tracer tests.** Desalination, v.261, p. 162–168, 2010.

GROVER, V. I. 2000. **Solid waste management**. Editora: Rotterdam – A.A. Balkema.

GUPTA, N.; LIMBAGO, B. M.; PATEL, J. B.; KALLEN, A. J. **Carbapenem-Resistant *Enterobacteriaceae*: Epidemiology and Prevention.** Healthcare Epidemiology, v.53, p.60-67, 2011.

HALLER, L.; POTE, J.; LOIZEAU, J.; WILDI, W. **Distribution and survival of faecal indicator bacteria in the sediments of the Bay of Vidy, Lake Geneva Switzerland.** Ecology and Industrials, v.9, p. 540-547, 2009.

HAN, D.; UNNO, T.; JANG, J.; LIM, K.; LEE, S.N.; KO, G.; SADOWSKY, M.J.; HUR, H.G high-level. **The occurrence of virulence traits among aminoglycosides resistant**

***Enterococcus* isolates obtained from feces of humans, animals, and birds in South Korea.** International Journal of Food Microbiology v.144, p.387−392, 2011.

HOSSAIN, M.S.; SANTHANAM, A.N.A.; NORULAINI, N.A.K. OMAR, M. **Clinical solid waste management practices and its impact on human health and environment – A review.** Waste Management., v. 31, p. 754–766, 2011.

HU, J.; CHENSHI, J.; CHANG, H.; LI, D.; YANG, M.; KAMAGATA, A. **Phenotyping and genotyping of antibiotic-resistant *Escherichia coli* isolated from a natural river basin.** Environmental Science Technology, v.42, p.3415–3420, 2008.

HUANG, L. N.; ZHU, S.; ZHOU, H.; QU, L. H. **Molecular phylogenetic diversity of bacteria associated with the leachate of a closed municipal solid waste landfill.** *FEMS* Microbiological Leterst., v. 242, p. 297-303, 2005.

IBAM – Instituto Brasileiro de Administração Municipal. Gestão Integrada de Resíduos Sólidos, Manual de Gerenciamento de Resíduos Sólidos, 2001.

IBEKWE, A. M.; MURINDA, S. E.; GRAVES, A. K.; **Genetic Diversity and antimicrobial resistance of *Escherichia coli* from human and animal sources uncovers multiple resistances from human sources.** PloS ONE, v.6, 2011.

INEA – Instituto Estadual do Ambiente, Rio de Janeiro, RJ. Norma Técnica 202 R-10 – Critérios e Padrões para Lançamento de Efluentes Líquidos e DZ-205.R-6 – Diretriz de Controle de Carga Orgânica em Efluentes Líquidos de origem industrial.

INICC – International Nosocomial Infection Control Consortium. Disponível em: **<http://inicc.org/english/index.php>.** Acesso em: 02 jul. 2013.

IPP – Instituto Municipal de Urbanismo Pereira Passos. 1º Pesquisa sobre condições de saúde e vida dos idosos da Cidade do Rio de Janeiro, Prefeitura da Cidade do Rio de Janeiro, 2006.

ISHII, S.; KSOLL, W.B.; HICKS, R.E.; SADOSWKY, M.J. **Presence and growth of naturalized *Escherichia coli* in 148requente soils from Lake Superior watersheds.** Applied and Environmental Microbiology, v.72, p.612–621, 2006.

ISHII, S.; MEYER, K.P.; SADOWSKY, M.J. **Relationship between phylogenetic groups, fenotypic clusters, and virulence gene profiles of *Escherichia coli* strains from diverse human and animal sources.** Applied and Environmental Microbiology, v.73, p.5703–5710, 2007.

JACKSON, C. H.; FURTULA, V.; FARRELL, E. G.; BARRETT, J. B.; HIOTT, L. M.; CHAMBERS, P. **A Comparison of BOX-PCR and Pulsed-Field Gel Electrophoresis to determine Genetic Relatedness of Enterococci from Different Environments.** Microbial Ecology, v.64, p.378–387, 2012.

JOHNSON, L. K., BROWN, M. B.; CARRUTHERS, E. A.; FERGUSON, J. A.; DOMBEK, P. E.; SADOWSKY, M. J. **Sample size, library composition, and genotypic diversity among natural populations of Escherichia coli from different animals influence accuracy of determining sources of fecal pollution.** Applied and Environmental Microbiology, v. 70, p. 4478-4485, 2004.

KAPER, J. B.; NATARO, J. P.; MOBLEY, H. L. T. **Pathogenic Escherichia coli.** Natural Reviews of Microbiology., v. 2, p. 123-140, 2004.

KENNEDY, A. C. **Bacterial diversity in agroecosystems.** Agriculture, Ecosystems and Environment., v.74, p.65, 1999.

KIM, M. H.; SONG, H. B.; SONG, Y.; JEONG, T.; KIM, J. W. **Evaluation of food waste disposal options in terms of global warming and energy recovery: Korea.** International Journal of Energy and Environmental Engineering., v. 4, 2013.

KJELDSEN, P.; CHRISTENSEN. **A simple model for the distribution and fate of organic chemicals in a landfill: MOCLA.** Waste Management Research., v.19, p. 201–216, 2001.

KJELDSEN, P.; MORTON, J.; BARLAX, A.; ROOKER, P.; BAUN, A.; LEDIN, A.; CHRISTENSEN. **Present and long-term composition of MSW landfill leachate: a review.** Critical Reviews in: Environmental Science Technology., v. 32, n. 4, p. 297-336, 2002.

KLAMMER, S.; KNAPP, B.; INSAM, H. **Bacterial community patterns and thermal analyses of composts of various origins.** Waste Management Research., v. 26, p. 173, 2008.

KUCH, A.; WILLEMS, R. J,;WERNER, G.; COQUE, T. M.; HAMMERUM, A. M.; SUNDSFJORD, A.; KLARE, I.; RUIZ-GARBAJOSA, P.; SIMONSEN, G. S.; VAN LUIT-ASBROEK, M.; HRYNIEWICZ, W.; SADOWY, E. **Insight into antimicrobial susceptibility and population structure of contemporary human *Enterococcus faecalis* isolates from Europe**. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, v.67, p.551–558, 2012.

LECLERC, H.; MOSSEL, D.A.A.; EDBERG, S.C.; STRUIJK, C.B. **Advances in the bacteriology of the coliform group: their suitability as markers of microbial water safety.** Annual Review of Microbiology, v. 55, p. 201-234, 2001.

LEE, C.C.; HUFFMAN, G.L. **Medical waste management/incineration, U.S.** Journal of Hazardous Materials, v. 48, p. l-30, 1996.

LI, Y.; LOW, G. K.-C.; SCOTT, J. A.; AMAL, R. **Microbial transformation of arsenic species in municipal landfill leachate.** Journal of Hazardous Materials., v. 188, p. 140-147, 2011.

LIMPIYAKORN, T.; FÜRHACKER, M.; HABERL, R.; CHODANON, T.; SRITHEP, P.; SONTHIPHAND, P. **amoA-encoding archaea in wastewater treatment plants: a review.** Applied Microbiology Biotechnology, v. 97, p. 1425–1439, 2013.

LINS, E. A. M. **A Utilização da Capacidade de Campo na Estimativa do Percolado Gerado no Aterro da Muribeca.** Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2003, 142f.

LIU, J., WU, W., CHEN, C., SUN, F., CHEN, Y. **Prokaryotic diversity, composition structure, and phylogenetic analysis of microbial communities in leachate sediment ecosystems.** Applied Microbiology Biotechnology., v. 91, p. 1659–1675, 2011.

LU, Z.; HE, Z.; PARISI, V. A.; KANG, S.; DENG,Y. VAN NOSTRAND, J. D.; MASONER, J. R.; COZZARELLI, I. M.; SUFLITA, J. M.; ZHOU, J. **GeoChip-Based Analysis of Microbial Functional Gene Diversity in a Landfill Leachate-Contaminated Aquifer.** Environmental Science Technology, v. 46, p. 5824–5833, 2012.

QUCZKIEWICZ, A.; JANKOWSKA, K.; FUDALA-KSIA, S.; OLANCZUK-NEYMAN, K. **Antimicrobial resistance of fecal indicators in municipal wastewater treatment plant.** Water Research and Search, v.44, p.5089-5097, 2010.

LYYTIKAINEN, O.; LUMIO, J.; SARKKINEN, H.; KOLHO, E.; KOSTIALA, A.; RUUTU, P. **Nosocomial bloodstream infections in finnish hospitals during 1999–2000.** Clinical Infectious Disease, v.35, p.14-19, 2002.

MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; DUNLAP, P. V.; CLARK, D. P. Microbiologia de Brock. 12ªed. Artmed, Porto Alegre, 1160p. 2010.

MANFREDI, S., TONINI, M., CHRISTENSEN, T. H. **Contribution of individual waste fractions to the environmental impacts from landfilling of municipal solid waste.** Waste Management, v.30, p. 433–440, 2010.

MANFREDI, S., TONINI, M., CHRISTENSEN, T. H. **Environmental assessment of different management options for individual waste fractions by means of life-cycle assessment modeling.** Resources, Conservation and Recycling, v. 55, p. 995– 1004, 2011.

MANGIMBULUDE, J. C.; BREUKELEN, B. M. V.; KRAVE, A. S.; STRAALEN, N. M. V; RÖLING, W. F. M. **Seasonal dynamics in leachate hydrochemistry and natural attenuation in surface run-off 150requ from a tropical landfill.** Waste Management, v.29, p.829–838, 2009.

MARTINS, N.; MARTINS, I. S.; FREITAS,W. V.; MATOS, J. A.; GIRÃO, V. G. C.;SOUZA, T.; MARALHÃES, A. G.; CACCI, L. C.; FIGUEIREDO, M. P.; DIAS, R. C. S.; LOURENÇO, A. P. R.; FERREIRA, A. L. P.; MEURER, B. **Imported and Intensive Care Unit-Born *Acinetobacter baumannii* Clonal Complexes: One-Year Prospective Cohort Study in Intensive Care Patients.** Microbial Drug Resistance, v.19, p.216-223, 2013

MATA-ALVAREZ, J. **Biomethanization of the organic fraction of municipal solid waste.** 2nd ed., Iwa Publishing, 323p. 2002.

Mc FADDIN, J. F. **Biochemical tests for identification of medical bacteria.** Williams e Wilkins Company Baltimore, 930p. 1977.

MEHMOOD, M. K.; ADETUTU, E.; NEDWELL, D. B.; BALI, A. S. ***In situ* microbial treatment of landfill leachate using aerated lagoons**. Bioresearch Technology., v. 100, p. 2741-2744, 2009.

MERCK. Microbiology Manual. Quality Management System. P.407. 2000.

MOELLERING, R. C. **Vancomycin-Resistant Enterococci.** Clinical Infections Diseases, v.26, p.1196-1199, 1998.

MONTEIRO, V. E. D.; MELO, M. C.; ALCÂNTARA, P. B.; ARAÚJO, J. M.; ALVES, I. R. F. S.; JUCÁ, J. F. T. **Behavior study of Municipal solid waste in a experimental cell and its correlations with microbiological, physical and chemical aspects.** Revista de Engenharia Sanitária e Ambiental., v. 2, n.3, p. 223-230, 2006.

MOUSER, P. J.; RIZZO, D. M.; ROLING, W. M.; VAN VANBREUKELEN, B. M. **A Multivariate Statistical Approach to Spatial Representation of Groundwater Contamination using Hydrochemistry and Microbial Community Profiles**. Environmental Science Technology, v. 39, 7551-7559, 2005.

MURRAY, B. **Vancomycin-resistant Enterococci**. The American Journal of Medicine, v. 102, p.284-293, 1997.

MUYZER, G.; WAAL, E. C.; UITTERLINDEN, A. G. **Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S Rrna.** Applied and Environmental Microbiology, v. 59, n.3, p. 695, 1993.

MUYZER, G; SMALLA, K. **Application of denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) and temperature gradient gel 151requente151resis (TGGE) in microbial ecology**. Antonie van Leeuwenhoek International Journal of General and Molecular Microbiology, v. 73, p.127, 1998.

NAKATSU, C.H. **Soil microbial community analysis using denaturing gradient gel electrophoresis.** Soil Science Society of American Journal., v.71, n.2, p. 562, 2007.

NASCIMENTO, T. C.; JANUZZI, W.A.; LEONEL, M.; SILVA, V. L.; DINIZ, C. G. **Ocorrência de bactérias clinicamente relevantes nos resíduos de serviço de saúde em um aterro sanitário brasileiro e perfil de susceptibilidade a antimicrobianos.** Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical., v. 42, n. 4. P. 415-419, 2009.

NATARO, J. P.; KAPER, J. B. **Diarrheagenic Escherichia coli**. Clinical Microbiological Reviews., v.11, p.142-201, 1998.

NOUÉR, S. A. **Aspectos clínicos e fatores de risco relacionados com colonização ou infecção por *Pseudomonas aeruginosa* multirresistente.** Tese de Doutorado. Rio de Janeiro, RJ, Brasil, 2006, 145p.

NOVO, A.; MANAIA, C. M. **Factors influencing antibiotic resistance burden in municipal wastewater treatment plants.** Appl. Microbiol. Biotechnol., v.87, p.1157–1166, 2010.

OBLADEN, N. L.; OBLADEN, T. R.; BARROS, K. R. Guia para Elaboração de Projetos de Aterros Sanitários para Resíduos Sólidos Urbanos. Conselho Regional de Engenharia e Arquitetura e Agronomia do Paraná, v. 3, 2009, 64p.

OGWUELEKA, T. C. **Survey of household waste composition and quantities in Abuja, Nigeria.** Resources, Conservation and Recycling, v.77, p.52-60, 2013.

OLIVEIRA, S.; PASQUAL, A. Monitoramento do Lixiviado de Aterro Sanitário. In Anais do XXVII Congresso Interamericano de Engenharia Sanitária e Ambiental, 03 a 08 de dezembro, Porto Alegre, Brasil, Disponível em: **<http//www.abes-dn.org.br>**. Acesso em: 15 jun. 2013.

OLIVEIRA, F.J.S; JUCÁ, J.F.T. **Acúmulo de metais pesados e capacidade de impermeabilização do solo imediatamente abaixo de uma célula de um aterro de resíduos sólidos.** Revista de Engenharia Sanitária e Ambiental., v. 9, n.3, p. 211-217,2004.

OTHMAN, S. N.; NOOR, Z. Z.; ABBA, A. H.; YUSUF, R. O.; HASSAN, M. A. A. **Review on life cycle assessment of integrated solid waste management in some Asian countries.** J. Cleaner Production 41, 251 – 262, 2013.

ÖZKAN, A. **Evaluation of healthcare waste treatment/ disposal alternatives by using multi-criteria decision-making techniques.** Waste Management & Research., v. 31 n.2, p. 141–149, 2013.

PARIZEAU, K.; MACLAREN, V.; CHANTHY, L. **Waste characterization as an element of waste management planning: Lessons learned from a study in Siem Reap, Cambodia.** Resources, Conservation and Recycling, v.49, p.110-128, 2006.

PARUCH, A. M.; MAEHLUM, T. **Specific features of *Escherichia coli* that distinguish it from coliform and thermotolerant coliform bacteria and define it as the most accurate indicator of faecal contamination in the environment.** Ecological Indicators, v.23, p.140–142, 2012.

PATEL, J. B.; LEONARD, D. G.; PAN, X.; MUSSER, J. M.; BERMAN, R. E.; NACHAMKIN, I. **Sequence-based identification of Mycobacterium species using the MicroSeq 500 16S Rdna bacterial identification system.** Journal of Clinical Microbiology., v.38, p. 246, 2002.

PATON, J. C.; PATON, A. W. **Pathogenesis and diagnosis of Shiga toxin-producing Escherichia coli.** Infection and Clinical Microbiology Reviews, v.11, p.450-479, 1998.

PEIXOTO, R. S.; COUTINHO, H. L. C.; RUMJANEK, N. G.; MACRAE, A.; ROSADO, A. S. **Use rpoB and 16S Rrna genes to analyse bacterial diversity of a tropical soil using PCR and DGGE.** Letters on Applied Microbiology., v.35, p. 316-320, 2002.

PICÃO, R. C.; GALES, A. **ß-Lactamases de Espectro Ampliado (ESBL) em *Pseudomonas aeruginosa*: Pesadelo ou só Imaginação?** Prática Hospitalar, v.49, p.79-84, 2007.

PINHATI, F.R. Caracterização molecular da população microbiana do lodo de Refinaria de Petróleo por PCR-DGGE e RAPD. 108f, 2008. Dissertação (Mestrado em Ciências). Universidade Federal do Rio de Janeiro, Brasil, 2008.

POHLAND, F. G.; HARPER, S. R. **Critical review and summary of leachate and gas production from landfill.** Technological Project, n. E20G01, 1985.

POVILONIS, J.; SEPUTIENE, V.; KRASAUSKAS, R.; JUSKAITE, R.; MISKINYTE, M.; SUZIEDELIS, K.; SUZIEDELIENE, E. **Spread of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* carrying a plasmid with two genes encoding OXA-72 carbapenemase in Lithuanian hospitals.** Journal of Antimicrobial Chemotherapy, v. 68, p.1000–1006, 2013.

PRADO, T.; PEREIRA, W.C.; SILVA, D.M.; SEKI, L.M.; CARVALHO,A.P.D'.A.; ASENSI, M.D. **Detection of extended spectrumb-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* in effluents and sludge of a hospital sewage treatment plant.** Letters on Applied Microbiology, v. 46, p.136–141, 2008.

PREFEITURA DA CIDADE DO RIO DE JANEIRO. Descrição e mapas da área de planejamento, Rio de Janeiro. Disponível em: **<http://www.rio.rj.gov.br>.** Acesso em: 02 out. 2013.

QU, X. Y.; LI, Z. S.; XIE, X. Y.; SUI, Y. M.; YANG, L.; CHEN, Y. **Survey of composition and generation rate of household waste in Beijing, China.** Waste Management, v.29, p.2618-2624, 2009.

RAFIZUL, I. M.; ALAMGIR, M. **Characterization and tropical seasonal variation of leachate: Results from landfill lysimeter studied.** Waste Management, v.32, p.2080–2095, 2012.

RAMPLING, A.; WISEMAN, S.; DAVIS, L.; HAYETTI, A. P.; WALBRIDGE, A. N.; PAYNE, G. C.; CORNABY, A. J. **Evidence that hospital 153requen is important in the control of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*.** Journal of Hospital Infection, v. 49, p. 109-116, 2001

RASMUSSEN, B. A.; BUSH, K.. **Carbapenem-Hydrolyzing b-Lactamases Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v.41, p.223–232, 1997.

RICH, C., GRONOW, J., VOULVOULIS, N. **The potential for aeration of MSW landfills to accelerate completion.** Waste Management, v. 28, p.1039–1048, 2008.

RITTMANN, B. E. **Microbial ecology to manage processes in environmental biotechnology**. Trends Biotechnol. V. 24, p.261-266, 2006.

RODRÍGUEZ, L.; CERRILLO, M. I.; GARCÍA-ALBIACH, V.; VILLASEÑOR, J. **Domestic sewage sludge composting in a rotary drum reactor: Optimizing the thermophilic stage.** Journal of Environmental Management., v. 112, p. 284-291, 2012.

ROGERS, Y. H.; VENTER, J. C. **Genomics: massively parallel sequencing**. Nature, v.437, p.326-327, 2005.

RÖLING, W.F.; VAN BREUKELEN, B.M.; BRASTER, M.; LIN, B.; VAN VERSEVELD, H.W. **Releationships between microbial community structure and hydroquemistry in a landfill leachate polluted aquifer.** Applied and Environmental Microbiology., v.67, p.4619, 2001.

ROSADO, A.S.; DUARTE, G.F. **Utilização de eletroforese em gel com gradientes de desnaturantes (DGGE) e gel com gradiente de temperatura para estudar a diversidade microbiana. In: genética e melhoramento de micro-organismos.** Mello, I.S., 153r.; EDUSP: São Paulo, 2002.

ROSENTHAL, V. Impact of International Nosocomial Infection Control Consortium (INICC) Strategy on Central Line–Associated Bloodstream Infection Rates in the Intensive Care Units of 15 Developing Countries, 2010. Disponível em: **<http://www.jstor.org/stable/10.1086/657140>**. Acesso em: 16 mar 2012.

RUTALA, W. A.; MAYHALL, C. G. **Medical waste.** Infection Control and Hospital Epidemiology., v.13, p. 38-48, 1992.

SAINI, S.; DAS, B. K.; KAPIL, A.; NAGARAJAN, S. S.; SARMA, R. **The study of bacterial flora of different types in hospital waste: evaluation of waste treatment at Aiims hospital, New Delhi.** Southeast Asian Journal of Tropical Medical Public Health, v.35, p.986-989, 2004.

SALEM, Z.; HAMOURI, K.; DJEMAA, R.; ALLIA, K. **Evaluation of landfill leachate pollution and treatment.** Desalination, v.220, p.108–114, 2008.

SANG, N. N.; SODA, S.; ISHIGAKI, T.; IKE, M. **Microorganisms in landfill bioreactors for accelerated stabilization of solid wastes.** Journal of Bioscience and Bioengineering., v. 114, p. 243-250, 2012.

SANGER, F. & A. R. COULSON. **A rapid method for determining sequences in DNA by primed synthesis with DNA polymerase.** Journal of Molecular Biology, v. 94, p.441-448, 1975.

SANTOS, A. L. **Diversidade molecular microbiana de lixiviados de aterros.** Tese (Doutorado em Microbiologia) – Programa de Pós-Graduação em Instituto de Microbiologia Prof. Paulo de Góes da Universidade Federal do Rio de Janeiro, 98f. 2010

SANTOS, A. L.; PEIXOTO, R.; ROSADO, A. S. **New approaches to understanding microbial diversity in wastewater, landfills and leachate treatment.** Oecologia Brasiliensis., v. 13, n. 4, p. 631-648, 2009.

SANTOS, E. M. P. *et al.* ***Streptococcus*** **e gêneros relacionados como agentes etiológicos de mastite bovina.** Acta Scientiae Veterinariae., v. 35, p. 17-27, 2007.

SANZS J. L.; KOCHLING, T. **Molecular biology techniques used in wastewater treatment: an overview.** Process Biochemistry., v. 42, p. 119-133, 2007.

SASAKI, T.; HIRAI, I.; NIKI, M.; NAKAMURA, T.; KOMALAMISRA, C.; MAIPANICH, W.; KUSOLSUK, T.; SA-NGUANKIAT, S. **High prevalence of CTX-M b-lactamase-producing *Enterobacteriaceae* in stool specimens obtained from healthy individuals in Thailand.** Journal of Antimicrobial Chemotherapy, v. 65, p.666–668, 2010.

SAWAMURA, H.; YAMADA, M.; ENDO, K.; SODA,S.; ISHIGAKI, T.; IKE, M. **Characterization of microorganisms at different landfill depths using carbon utilization patterns and 16S Rrna gene based T-RFLP.** Journal of Bioscience and Bioengineering., v. 109, n. 2, p. 130-137, 2010.

SCULLION, J.; WINSON, M.; MATTHEWS, R. **Inhibition and recovery in a fixed microbial film leachate treatment system subject to shock loading of copper and zinc.** Water Research., v. 41, p. 4129-4138, 2007.

SENG, B., HIRAYAMA, K., KATAYAMA-HIRAYAMA, K., OCHIAI, S., KANEKO, H.. **Scenario analysis of the benefit of municipal organic-waste composting over landfill, Cambodia.** Journal of Environmental Management , v.114, p. 216-224, 2013.

SENIOR, E. Microbiology of landfill sites. 2nd ed., Lewis Publishers, 205p. 1995.

SHEFFIELD, V.C.; COX, D.R.; LERMAN, L.S.; MYERS, R.M**. Attachmentof a 40-base-pair G-C rich sequence (G-C clamp) to genomic DNA fragments by the polymerase chain reaction results in improved detection of single base changes.** Proceedings of National Academy Sciences, v. 86, p. 232, 1989.

SHENDURE, J. H. JI. **Next-generation DNA sequencing.** Natural Biotechnology, v. 26, p.1135-45, 2008.

SIEGEL, S.; CASTELLAN, N. J. Estatística não-paramétrica para 154requent do comportamento. Porto Alegre, Brasil, 2ª edição, 1988, 448p.

SILVA, J.D.; KOGA, E.M.; MARTINS, C.L.; COSTA, R.H.R.; CASTILHO JR., A.B. **Variação nictemeral de parâmetros de qualidade ambiental em lagoas de estabilização do tipo facultiva e de maturação tratando lixiviados de aterros sanitários.** Resumos do 24° Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, Belo Horizonte, Brasil, 2007.

SILVA, C. A. M.; CAMPOS, J. C.; FERREIRA, J. A.; MIGUEL, M. A. L.; QUINTAES, B. R. **Caracterização microbiológica de lixiviados gerados por resíduos sólidos domiciliares e de serviços de saúde da cidade do Rio de Janeiro.** Revista de Engenharia Sanitária e Ambiental, v.16, p.127-132, 2011.

SILVEY, P.; PULLAMMANAPPALLI, P.C.; BLACKALL, L.; NICHOLS, P. **Microbial ecology of the leach bed anaerobic digestion of unsorted municipal solid waste.** Water Science and Technology, v. 41, n. 3, p. 9-12, 2000.

SONG, Q.; WANG, Z.; LI, J. **Environmental performance of municipal solid waste strategies based on LCA method: a case study of Macau**. Journal of Cleaner Production, v.30, p.1-9, 2013.

SOUTO, G. D. B. **Lixiviados de aterros sanitários brasileiros – estudo de remoção do nitrogênio amoniacal por processo de arraste com ar ("stripping").** 2009. 371f. Tese (Doutorado em Engenharia), Universidade de São Paulo, Escola de Engenharia de São Carlos, 2009,

SOUZA, L. F. **Codisposição de resíduos sólidos de serviço de saúde com resíduos sólidos urbanos.** 306p, 2003. Tese (Doutorado em Engenharia), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil, 2003.

STACKENBRANDT, E., MURRAY, R. G. E., TRÜPER, H. G. **Proteobacteria classis nov. a name for the phylogenetic taxon that includes the "Purple Bacteria and Their Relatives"**. International Jounal of Systematic Bacteriology, v. 38, n. 3, p.321-325, 1988.

STALEY, B. F.; BARLAZ, M. A.; DE LOS REYES, F. L.; ELLIS, J. C. **Microbial community of profiling of municipal solid waste at different stages of degradation**. In: Proceedings Sardinia 2007, Eleventh International Waste Manegement and Landfill Symposium. S. Margherita di Paula, Cagliari, Italy. 2007.

STANDARD METHOSD FOR EXAMINATION OF WATER AND WASTEWATER. 22ª edição, 2012.

STENEHJEM, E; RIMLAND, D. **MRSA nasal colonization burden and risk of MRSA infection.** American Journal of Infection Control, v.41, p.405-10, 2013.

STURENBURG, E; MACK, D. **Extended-spectrum beta-lactamases: implications for the clinical microbiology laboratory, therapy, and infection control.** Journal of Infection, v. 47, p.273-95, 2003.

SZYŁAK-SZYDŁOWSKI, M.; KORNIŁŁOWICZ-KOWALSKA,T. **The mycobiota of landfill leachates in the pretreatment process in a sequencing batch reactor.** Central European Journal of Biology, v. 7, p. 250-258, 2012.

TCHOBANOUGLOUS, G.; KEITH, F. **Handbook of solid waste management.** 2nd ed., Mc Grow- Hill, 2002, 950p.

TENOVER, F. C. **Mechanisms of Antimicrobial Resistance in Bacteria.** The American Journal of Medicine, v.119, p.S3–S10, 2006.

TESKE, A.; SIGALEVICH, P.; COHEN, Y.; MUYZER, G. **Molecular identification of bacteria from a culture by denaturing gradient gel electrophoresis of 16S ribosomal DNA fragments as a tool for isolation in pure cultures.** Applied and Environmental Microbiology., v. 62, p. 4210, 1996.

THANH, N. P.; MATSUI, Y.; FUJIWARA, T. **Household solid waste generation and characteristic in a Mekong Delta city, Vietna.** Journal of Environmental Management, v.91, p.2307-2321, 2010.

THREEDEACH, S., CHIEMCHAISRI, W., WATANABE, T., CHIEMCHAISRI, T., HONDA, R., YAMAMOTO, K. **Antibiotic resistance of Escherichia coli in leachates from municipal solid waste landfills: Comparison between semi-aerobic and anaerobic operations.** Bioresource Technology , v.113, p. 253–258, 2012.

TONUCI, L.R.S.; PASCHOALATTO, C.F.P.R.; PISANI, R.J. **Microwave inactivation of Escherichia coli in healthcare waste.** Waste Management., v. 28, p. 840–848, 2008.

TSAKONA, M., ANAGNOSTOPOULOU, E., GIDARAKOS, E. **Hospital waste management and toxicity evaluation: A case study.** Waste Management., v. 27, p. 912–920, 2007.

TUOMELA, M., VIKMAN M., HATAKKA, A., ITAVAARA, M., **Biodegradation of lignin in a compost environment: a review.** Bioresource Technology , v.72, p.169-183, 2000.

UCHIDA, M.; HATAYOSHI, H.; SYUKU-NOBE, A.; SHIMOYAMA, T.; NAKAYAMA, T.; OKUWAKI, A.; NISHINO, T.; HEMMI, H. **Polymerase chain reaction – denaturing gradient gel electrophoresis analysis of microbial community structure in landfill leachate. Journal of Hazardous Materials**., v. 164, p.1503-1508, 2009.

UMAR, M., AZIZ, H. A., YUSOFF, M. F. **Assessing the chlorine disinfection of landfill leachate and optimization by response surface methodology (RSM).** Desalination,v.274, p.2780283, 2011.

VAN ELSAS, J. D.; DUARTE, G. F.; ROSADO, A. S.; SMALLA, K. **Microbiological and molecular methods for monitoring microbial inoculants and their effects in the soil environmental.** Journal of Microbiological Methods., v. 32, p. 133, 1998.

VERGARA, S. E., TCHOBANOGLOUS, G. **Municipal Solid Waste and the Environment: A Global Perspective.** Annual Review of Environmental and Resources, v. 37, p. 277–309, 2012.

VESPERO, E. C.; PERUGINI, M. R.; SARIDAKIS, H. O. **Screening and confirmatory assays for detection of ESBLs (extendedspectrum ß-lactamases) production by *Klebsiella pneumoniae* isolates.** Semina: Ciências Biológicas e da Saúde, v. 28, p. 33-38, 2007.

VILAR, A., EIROA, M., KENNES, C., VEIGA, M. C. **Optimization of the landfill leachate treatment by the Fenton process.** Water and Environment Journal., v. 27, p. 120–126, 2013.

VON SPERLING, M. **Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos**. 2 ed.- Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental; Universidade Federal de Minas Gerais. 243p. 1996.

WALSH, K.A.; MOFFETT, T.C.J.; MOFFETT, B.F.; HARRIS, J.A.; SHAW, P.J.; WALLACE, J.S. **Molecular characterization of bacteria in a wetland used to remove ammoniacal-N from landfill leachate.** Waste Management Research., v. 20, p. 529, 2002.

WARD, D.M.; BATESON, M.M.; **16S Rrna sequences reveal numerous uncultured microorganisms in a natural community.** Nature., v.63, p.345, 1990.

WERNERA, G.; COQUEB, T.; FRANZ, C. M. A. P.; GROHMANND, E.; HEGSTAD, K.; JENSENG, L; SCHAIKH, W.; WEAVER, K. **Antibiotic resistant enterococci—Tales of a drug resistance gene trafficker.** International Journal of Medical Microbiology, v.303, p.360– 379, 2013.

WIRTH, R.; KOVÁCS, E.; MARÓTI, G.; BAGI, Z.; RÁKHELY, G.; KOVÁCS, K. L. **Characterization of a biogas-producing microbial community by short-read next generation DNA sequencing**. Biotechnology for Biofuels., v. 5, 2012.

XIE, B., XIONG, A. B., LIANG, A S., XIAOJUN, C. H., ZHANG, B. JUN, L. C.**Performance and bacterial compositions of aged refuse reactors treating mature landfill leachate.** Bioresource Technology, v. 103, p.71–77, 2012.

YAN, J.; KO, W.; JUNG,W.; CHUANG, C.; WU, J. **Emergence of *Klebsiella 157requente* isolates producing inducible DHA-1 –Lactamase in a University Hospital in Taiwan**. Journal of Clinical Microbiology, v.40, p. 3121–3126, 2002.

YANG, Y.; ZHANG, T.; ZHANG, X.; LIANG, D.; ZHANG, M.; GAO, D.; ZHU, H.; HUANG, Q.; FANG, H. **Quantification and characterization of β-lactam resistance genes in 15 sewage treatment plants from East Asia and North America.** Applied Microbiology and Biotechnology, v.95, p.351–1358, 2012.

YE, L.; ZHANG, T.; WANG, T.; FANG, Z. **Microbial structures, functions, and metabolic pathways in wastewater treatment bioreactors revealed using high-throughput sequencing.** Environmental Science and Technology, v.46, p.13244−13252, 2012.

ZAK, J. C.; WILLIG, M. R.; MOORTHEAD, D. L.; WILDMAN, H. **Functional diversity of microbial communities: a quantitative approach.** Soil Biology and Biochemistry., v. 26, n. 9, p. 1101, 1994.

ZANKARI, E.; HASMAN, H.; KAAS, R. S.; SEYFARTH, A. M.; AGERSO, Y.; LUND, O.; LARSEN, M. V.; AARESTRUP, F. M. **Genotyping using whole-genome sequencing is a realistic alternative to surveillance based on phenotypic antimicrobial susceptibility testing.** Journal of Antimicrobial Chemotherapy, v.68, p.771–777, 2013.

ZANON, U. **Riscos infecciosos imputados ao resíduo hospitalar: realidade epidemiológica ou ficção sanitária?** Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, v.23, n.3, p.163-170, 1990.

ZANON, U.; EIGENHEER, E. **O que fazer com os resíduos hospitalares? Proposta para classificação, embalagem, coleta e destinação final.** Arquivo Brasileiro de Medicina, v.65, n.3, 1991.

ZEMELMAN, R.; VALENZUELA, L.; DOMÍNGUEZ, M.; BELLO, H.; GONZÁLEZ, G.; ZEMELMAN, C. **Detección of beta-lactamasas de espectro extendido em El laboratório de microbiologia.** Revista Chilena de Infectología, v.19, p.S92-95, 2002.

ZHANG, D; KEAT, T. S.; GERSBERG, R. M. **A comparison of municipal solid waste management in Berlin and Singapore.** Waste Management, v. 30, p. 921–933, 2010.

ZHANG, W., YUE, B., WANG, Q., HUANG, Z., HUANG, Q., ZHANG, Z. **Bacterial community composition and abundance in leachate of semi-aerobic and anaerobic landfills.** Journal of Environmental Sciences., v. 23, p. 1770–1777, 2011.

ZHANG, X.; XIAOJU, A. B; LÜ, A,B; ZHIYONG, Z. ***Enterobacteriaceae* producing the KPC-2 carbapenemase from hospital sewage**. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease, v.73, p. 204–206, 2012.

ZHAO A, R., GUPTAB, A., NOVAKB, J. T., GOLDSMITHC, D., DRISKILL, N. **Characterization and treatment of organic constituents in landfill leachates that influence the UV disinfection in the publicly owned treatment works (POTWs).** Journal of Hazardous Materials, v.1, p. 258 – 259, 2013.

ZILLI, J. E.; RUMJANEK, N. G.; XAVIER, G. R.; COUTINHO, H. L. C.; NEVES, M. C. P. **Diversidade microbiana como indicador de qualidade do solo**. Cadernos de Ciência e Tecnologia., v.20, n.3, p.391-411, 2003.

ZIMMERMAN, F. S.; ASSOUS, M. V.; ABRAM, T.; LACHISH, T. **Duration of carriage of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* following hospital discharge.** American Journal of Infection Control, v.41, p.190-194, 2013.

APÊNDICE

APÊNDICE A – VISTA PANORÂMICA DAS CÉLULAS EXPERIMENTAIS APÓS 810 DIAS DE CONFINAMENTO

APÊNDICE B – TABELA DE MONITORAMENTO DIÁRIO DA TEMPERATURA E VOLUME DOS LIXIVIADOS DAS CÉLULAS

Data da coleta	Células					
	Temperatura			Volume de lixiviado		
	RSD	RSS	COD	RSD	RSS	COD
22/12/2010	30,0	30,0	30,0	140,0	176,0	38,0
29/12/2010	31,0	29,0	31,0	90,0	290,0	281,0
05/01/2011	32,0	30,0	31,0	170,0	320,0	410,0
11/01/2011	30,0	29,0	30,0	140,0	370,0	344,0
19/01/2011	32,0	33,0	36,0	220,0	360,0	440,0
24/01/2011	32,0	29,0	30,0	80,0	260,0	190,0
01/02/2011	29,5	28,5	29,0	40,0	130,0	140,0
02/02/2011	30,0	29,2	30,0	12,0	38,0	21,0
31/03/2011	30,0	27,0	28,0	3,0	6,2	5,8
01/04/2011	31,0	31,0	30,0	92,0	192,0	482,0
04/04/2011	32,0	30,0	31,0	184,0	321,0	341,0
08/04/2011	32,0	31,0	30,0	22,0	40,0	21,0
11/04/2011	31,0	30,0	31,0	41,0	86,0	46,0
12/04/2011	30,0	31,0	30,0	16,0	24,0	21,0
13/04/2011	31,0	30,0	30,0	6,0	20,0	12,0
14/04/2011	31,0	30,0	29,0	4,0	20,0	1,0
15/04/2011	30,0	31,0	29,0	3,0	10,0	4,0
18/04/2011	31,0	31,0	31,0	18,0	26,0	21,0
19/04/2011	31,0	30,0	30,0	2,0	20,0	6,0
20/04/2011	30,0	30,0	30,0	1,0	3,0	2,0
25/04/2011	30,0	30,0	30,0	8,0	26,0	28,0
26/04/2011	31,0	31,0	31,0	102,0	146,0	685,0
27/04/2011	32,0	31,0	31,0	110,0	164,0	360,0
28/04/2011	33,0	31,0	30,0	60,0	102,0	140,0
29/04/2011	31,0	30,0	30,0	45,6	86,4	68,0
02/05/2011	31,0	30,0	31,0	86,0	186,0	81,0
03/05/2011	30,0	30,0	30,0	9,0	28,0	20,0
04/05/2011	30,0	31,0	30,0	7,0	22,0	18,0
05/05/2011	30,0	30,0	31,0	19,0	10,0	20,0
06/05/2011	29,5	29,0	30,0	12,0	16,0	9,0
09/05/2011	30,0	29,5	30,0	10,0	40,0	28,0
10/05/2011	29,8	30,0	30,0	7,0	20,0	10,0
11/05/2011	30,0	30,0	30,0	5,3	16,0	13,0
12/05/2011	30,0	29,0	30,0	4,0	18,0	16,0
13/05/2011	29,0	29,2	30,0	2,5	12,0	14,0
16/05/2011	29,0	30,0	30,0	23,0	82,0	160,0
18/05/2011	30,0	30,0	30,5	42,0	88,0	442,0
19/05/2011	30,0	31,0	29,5	52,0	90,0	150,0
20/05/2011	29,8	30,0	30,0	32,0	60,0	63,0
23/05/2011	30,0	29,5	30,0	50,0	110,0	83,0

24/05/2011	30,0	29,0	30,0	6,0	28,0	20,0
25/05/2011	29,8	30,0	30,0	12,6	18,0	16,0
26/05/2011	31,0	30,0	30,0	3,0	11,0	13,0
30/05/2011	30,0	30,0	29,0	143,0	260,0	520,0
31/05/2011	30,0	30,0	29,8	23,0	62,0	76,0
01/06/2011	29,8	30,0	30,0	21,0	60,0	38,0
02/06/2011	28,5	29,0	29,0	18,0	35,0	28,0
03/06/2011	27,5	28,0	28,0	10,0	38,0	25,0
06/06/2011	28,0	28,0	29,0	23,0	70,0	48,0
07/06/2011	28,5	29,0	29,0	22,0	23,0	21,0
08/06/2011	29,0	29,0	29,0	12,0	20,0	18,0
09/06/2011	29,0	29,0	29,0	6,0	16,0	13,0
10/06/2011	30,0	29,0	29,0	2,5	11,0	10,0
13/06/2011	29,0	29,0	28,0	20,0	43,0	48,0
14/06/2011	29,0	28,5	29,0	8,0	20,0	22,0
15/06/2011	29,0	29,5	29,0	3,0	12,0	14,0
16/06/2011	30,0	29,0	29,0	2,0	10,0	12,0
17/06/2011	29,0	29,0	29,5	2,5	9,0	10,0
20/06/2011	30,0	31,0	30,0	3,0	7,0	10,0
21/06/2011	28,0	29,0	29,0	3,0	10,0	6,0
22/06/2011	25,0	29,0	29,0	2,5	12,0	9,0
27/06/2011	28,0	28,5	30,0	15,0	20,0	16,0
28/06/2011	29,0	29,0	29,0	1,0	6,0	21,0
29/06/2011	30,0	29,0	29,0	1,0	4,5	20,0
30/06/2011	29,0	28,0	29,0	2,0	5,0	18,0
12/07/2011	29,0	29,0	28,0	20,0	60,0	140,0
13/07/2011	29,0	29,0	28,5	10,0	30,0	20,0
14/07/2011	29,0	29,0	28,5	2,8	5,0	11,0
15/07/2011	28,5	30,0	29,0	3,2	3,8	9,0
18/07/2011	29,0	29,5	30,0	10,0	20,0	18,0
20/07/2011	28,5	30,0	30,0	8,0	11,0	14,0
21/07/2011	30,0	29,0	29,0	6,0	9,0	12,0
22/07/2011	29,0	30,0	30,0	7,0	8,0	10,0
25/07/2011	30,0	28,0	28,0	40,0	62,0	182,0
26/07/2011	29,0	29,0	30,0	38,0	56,0	108,0
27/07/2011	29,0	28,0	29,0	40,0	50,0	100,0
28/07/2011	29,5	29,0	29,0	20,0	38,0	50,0
29/07/2011	30,0	29,0	28,5	16,0	19,0	43,0
01/08/2011	29,0	28,0	29,0	9,0	11,0	26,0
02/08/2011	29,0	28,0	29,0	6,0	9,0	12,0
03/08/2011	29,0	29,0	29,2	5,0	8,5	10,0
08/08/2011	29,0	28,5	28,5	22,0	40,0	42,0
09/08/2011	30,0	29,0	28,0	6,0	17,0	12,0
10/08/2011	28,0	29,0	29,0	2,5	10,0	8,0

12/08/2011	28,5	29,0	29,0	21,0	32,0	26,0
17/08/2011	29,0	29,0	29,0	18,0	23,0	28,0
18/08/2011	29,0	28,5	29,0	10,0	16,0	18,0
19/08/2011	31,0	29,0	29,0	7,0	8,0	7,0
22/08/2011	30,0	29,0	29,0	10,0	7,0	20,0
23/08/2011	29,0	28,0	28,0	4,0	6,0	10,0
24/08/2011	29,0	29,0	29,0	2,0	8,0	8,0
25/08/2011	30,0	29,5	30,0	2,5	4,0	7,5
26/08/2011	29,0	29,0	30,0	2,0	2,7	5,5
29/08/2011	29,0	29,0	29,0	2,8	3,0	8,0
30/08/2011	28,0	29,0	29,0	1,5	2,0	5,0
31/08/2011	29,0	29,0	30,0	1,6	2,0	4,0
06/09/2011	29,5	29,0	29,5	18,0	23,0	26,0
08/09/2011	30,0	30,0	30,0	12,0	18,0	20,0
09/09/2011	30,0	29,5	29,0	4,0	8,0	10,0
12/09/2011	28,5	28,0	29,0	6,0	12,0	15,0
13/09/2011	30,0	28,5	28,0	4,0	8,0	10,0
14/09/2011	29,0	29,0	29,0	3,8	6,0	8,0
19/09/2011	30,0	29,5	30,0	160,0	220,0	120,0
20/09/2011	30,0	28,0	28,0	26,0	68,0	12,0
21/09/2011	29,0	29,5	29,0	20,0	40,0	10,0
26/09/2011	30,0	29,0	28,0	46,0	96,0	68,0
28/09/2011	29,5	29,0	28,5	12,0	18,0	7,0
05/10/2011	29,0	29,0	29,0	26,0	46,0	22,0
06/10/2011	28,0	29,0	29,0	12,0	20,0	11,0
07/10/2011	29,0	29,5	30,0	2,0	5,0	3,0
11/10/2011	28,0	29,0	29,0	16,0	28,0	22,0
13/10/2011	29,0	28,0	29,0	2,0	3,5	3,0
17/10/2011	38,0	31,0	29,0	32,0	23,0	12,0
21/10/2011	27,0	26,0	25,5		468,0	988,0
24/10/2011	28,0	27,0	27,5	55,0	345,0	330,0
26/10/2011	27,0	28,0	28,0	24,0	83,0	73,0
28/10/2011	28,0	27,0	28,0	8,0	20,0	21,0
31/10/2011	28,0	28,0	27,0	30,0	68,0	60,0
03/11/2011	28,0	27,0	27,0	28,0	48,0	40,0
06/11/2011	28,5	26,5	25,0	25,0	45,0	42,0
14/11/2011	27,0	26,5	27,0	13,0	19,0	24,5
16/11/2011	26,0	26,5	25,5	10,0	7,0	2,0
17/11/2011	26,5	25,8	27,0	60,0	23,0	19,0
18/11/2011	29,0	27,0	27,0	38,0	25,0	7,0
21/11/2011	26,5	27,0	25,5	63,0	48,0	28,0
23/11/2011	28,0	27,0	26,5	24,5	38,5	16,5
24/11/2011	29,0	27,0	27,0	9,0	14,0	8,0
25/11/2011	28,0	27,5	27,0	11,0	10,0	6,0

29/11/2011	28,0	27,0	27,0	22,0	37,0	27,0
30/11/2011	27,5	26,5	26,5	9,0	8,0	8,0
05/12/2011	28,5	27,0	27,0	23,0	31,0	26,0
07/12/2011	27,0	26,5	26,5	10,5	14,5	13,6
13/12/2011	26,5	26,0	26,0	21,0	25,0	30,0
14/12/2011	28,5	27,0	27,0	6,0	8,0	8,0
15/12/2011	28,5	27,5	27,0	5,0	6,0	6,0
16/12/2011	28,5	27,5	27,0	5,0	4,0	5,0
19/12/2011	29,0	27,5	27,0	100,0	20,0	50,0
20/12/2011	28,5	27,0	27,0	58,0	51,0	70,0
21/12/2011	28,5	27,0	27,0	29,5	28,5	21,5
22/12/2011	25,0	25,0	28,0	25,0	37,0	14,0
23/12/2011	29,0	27,5	27,2	17,0	2,0	14,0
26/12/2011	28,0	27,0	27,5	61,0	48,0	46,0
27/12/2011	28,5	27,0	27,0	83,0	85,0	86,0
28/12/2011	28,5	27,0	27,5	77,0	70,0	67,0
29/12/2011	28,5	27,0	27,0	72,0	74,0	112,0
30/12/2011	28,5	27,0	27,0	50,0	70,0	64,0
02/01/2012	28,5	27,0	27,5	136,0	135,0	224,0
03/01/2012	28,0	27,0	27,0	254,0	206,0	680,0
04/01/2012	26,0	25,0	25,0	74,4	116,3	205,3
05/01/2012	28,5	27,0	27,0	51,0	70,0	85,0
06/01/2012	28,0	27,0	27,0	40,0	58,0	68,0
09/01/2012	25,0	25,0	25,0	60,0	90,0	107,0
10/01/2012	27,0	26,0	26,5	20,0	26,0	27,0
11/01/2012	28,5	27,0	27,0	36,0	28,0	26,0
12/01/2012	29,0	27,5	247,5	18,0	20,0	23,0
13/01/2012	28,0	27,5	27,5	15,0	17,0	19,0
16/01/2012	28,5	27,5	27,0	32,0	42,0	47,0
17/01/2012	29,0	28,0	27,5	11,0	17,0	18,0
18/01/2012	28,3	27,0	27,0	6,9	9,7	10,4
23/01/2012	28,0	27,1	27,2	35,0	48,0	60,0
24/01/2012	29,3	27,8	27,6	8,0	9,0	12,0
25/01/2012	28,1	27,0	27,3	8,0	8,0	12,0
26/01/2012	28,5	27,3	27,5	7,0	9,0	8,0
27/01/2012	28,2	27,6	27,6	7,0	9,0	10,0
30/01/2012	28,7	27,5	27,7	118,0	6,0	20,0
31/01/2012	28,9	27,3	27,7	40,0	54,0	78,0
01/02/2012	27,0	26,8	28,0	24,4	33,4	44,4
02/02/2012	28,8	27,6	27,6	25,0	36,0	41,0
03/02/2012	27,3	27,7	27,7	21,0	25,0	37,0
06/02/2012	27,8	28,0	27,7	50,0	93,0	80,0
07/02/2012	28,2	27,9	28,1	1,0	21,0	20,0
08/02/2012	29,1	27,8	27,8	9,0	16,0	11,0

09/02/2012	30,0	29,3	28,6	7,0	14,0	13,0
13/02/2012	30,0	30,5	30,0	32,0	41,0	5,0
14/02/2012	28,8	27,9	27,9	12,4	9,4	13,4
15/02/2012	29,5	28,3	28,2	9,0	8,0	10,0
16/02/2012	30,3	28,7	28,5	8,0	8,0	8,0
23/02/2012	31,0	29,5	29,4	32,0	44,0	58,0
24/02/2012	31,8	30,1	29,5	12,0	8,0	12,0
27/02/2012	32,2	30,3	29,7	13,0	17,0	25,0
28/02/2012	31,5	30,3	30,0	5,0	6,0	7,0
29/02/2012	30,6	30,5	31,0	2,5	3,0	3,5
01/03/2012	30,7	29,3	29,3	1,5	1,0	1,5
02/03/2012	30,4	29,1	29,8	2,8	38,0	3,2
05/03/2012	30,3	29,3	30,1	10,0	13,0	19,0
06/03/2012	31,4	29,4	29,8	2,2	3,5	39,0
07/03/2012	30,2	29,7	29,6	1,8	2,6	2,3
08/03/2012	30,1	29,8	29,4	1,5	2,0	1,9
09/03/2012	31,1	30,3	29,9	1,9	3,2	2,0
14/03/2012	30,0	29,8	29,0	9,0	12,0	18,0
15/03/2012	30,4	29,9	29,4	3,1	2,5	3,6
16/03/2012	30,1	29,8	29,9	2,5	2,9	2,8
19/03/2012	30,7	29,4	29,3	6,8	13,0	17,5
22/03/2012	29,9	29,0	30,0	3,2	5,5	7,8
23/03/2012	29,7	29,2	29,7	5,5	7,3	10,3
26/03/2012	29,1	28,9	29,0	12,0	16,0	18,0
28/03/2012	29,9	29,4	29,4	2,9	3,8	6,6
31/03/2012	29,0	29,2	29,1	30,0	3,6	5,2
02/04/2012	30,4	29,4	29,7	8,0	5,6	10,2
03/04/2012	29,6	28,8	29,1	3,2	2,8	3,9
09/04/2012	29,9	29,8	-	22,0	21,0	28,0
10/04/2012	29,6	29,1	29,7	6,2	12,0	4,6
11/04/2012	30,1	29,6	29,7	2,6	2,8	3,0
12/04/2012	30,2	29,4	29,8	2,2	2,4	2,8
13/04/2012	28,7	28,5	29,3	2,6	2,2	2,5
16/04/2012	29,1	28,6	29,3	5,1	3,9	6,6
17/04/2012	29,4	28,8	29,6	3,6	2,3	2,8
18/04/2012	29,2	29,8	29,3	2,6	2,4	2,9
19/04/2012	29,2	29,3	29,4	2,4	2,4	2,3
20/04/2012	28,0	27,2	28,1	2,6	2,6	2,8
24/04/2012	28,7	27,6	28,5	5,1	4,8	6,5
25/04/2012	28,1	27,2	28,5	2,6	2,3	2,8
27/04/2012	28,9	29,2	29,0	3,8	2,7	3,5
30/04/2012	29,0	28,7	28,5	6,4	5,8	8,2
02/05/2012	29,1	28,2	29,3	502,0	318,0	802,0
03/05/2012	28,9	28,2	28,6	120,0	148,0	313,0

07/05/2012	28,2	28,1	28,8	210,0	275,0	400,0
08/05/2012	29,0	28,6	29,3	28,0	43,0	56,0
09/05/2012	29,1	28,2	29,0	36,0	37,0	48,0
10/05/2012	28,6	28,2	28,2	22,0	34,0	43,0
11/05/2012	28,9	29,0	28,9	28,0	38,0	47,0
14/05/2012	28,8	28,9	28,7	72,6	84,2	98,0
15/05/2012	29,0	28,9	29,0	49,0	63,0	100,0
16/05/2012	29,1	29,0	28,9	31,0	43,0	73,0
17/05/2012	28,6	27,9	28,8	26,0	37,0	64,0
18/05/2012	28,5	27,1	28,8	20,0	28,0	46,0
21/05/2012	28,2	27,6	27,9	812,0	501,0	613,0
22/05/2012	29,0	28,1	28,6	78,1	192,0	293,0
23/05/2012	28,0	28,0	28,2	39,0	43,0	53,0
25/05/2012	28,7	27,5	27,8	32,0	38,6	41,0
27/05/2012	28,9	28,0	27,9	90,0	120,0	140,0
29/05/2012	29,0	28,8	28,1	28,8	69,9	49,6
30/05/2012	28,2	27,2	27,7	18,6	40,0	36,0
31/05/2012	28,8	28,1	28,1	16,8	32,0	25,0
01/06/2012	29,9	27,9	29,0	16,0	29,0	28,0
02/06/2012	29,1	28,6	29,4	13,0	22,0	18,0
05/06/2012	27,9	27,9	27,6	68,0	86,0	104,0
06/06/2012	27,8	28,1	27,8	21,0	20,0	31,0
11/06/2012	28,1	27,9	27,9	678,0	405,0	863,0
12/06/2012	27,9	26,5	27,7	135,0	108,0	231,0
13/06/2012	28,1	27,1	27,9	76,0	68,0	110,0
15/06/2012	27,7	29,2	27,8	86,0	80,0	132,0
18/06/2012	27,9	26,7	26,9	118,0	135,0	183,0
19/06/2012	27,9	26,5	27,8	76,0	98,0	102,0
20/06/2012	27,8	26,8	26,1	70,0	88,0	100,0
21/06/2012	28,0	25,4	26,8	52,0	67,0	48,0
25/07/2012	27,3	26,6	27,0	23,0	28,0	30,0
26/07/2012	27,6	26,9	27,1	12,0	22,0	28,0
27/07/2012	28,3	26,4	26,8	13,0	20,0	21,0
30/07/2012	28,0	26,3	26,7	15,0	18,0	18,0
01/08/2012	28,1	26,4	26,8	56,0	83,0	100,0
02/08/2012	27,8	26,3	26,4	31,0	22,0	32,0
03/08/2012	27,4	25,4	26,4	20,0	26,0	40,0
06/08/2012	27,5	26,0	26,2	23,0	32,0	40,0
08/08/2012	27,0	26,1	26,0	18,0	16,0	30,0
09/08/2012	27,5	26,2	26,4	12,0	14,0	17,0
10/08/2012	26,6	27,4	26,8	10,0	12,0	13,0
13/08/2012	28,2	27,0	27,0	22,0	27,0	42,0
15/08/2012	28,0	26,9	27,0	14,0	34,0	42,0
17/08/2012	27,8	26,8	28,1	10,0	18,0	22,0

22/08/2012	28,0	27,0	27,0	26,0	43,0	47,0
23/08/2012	28,3	27,0	27,1	12,0	16,0	21,0
24/08/2012	28,1	26,3	26,4	10,0	13,0	17,0
27/08/2012	27,7	26,7	26,4	22,0	40,0	80,0
29/08/2012	28,0	26,1	26,7	20,0	21,0	24,0
31/08/2012	28,2	26,2	26,6	12,0	18,0	20,0
03/09/2012	28,0	26,8	29,0	7,5	7,0	10,0
04/09/2012	28,3	27,0	27,2	8,0	10,0	13,0
05/09/2012	28,0	26,9	27,0	1,5	3,0	2,6
06/09/2012	28,6	27,1	27,2	2,0	2,8	1,2
10/09/2012	28,6	27,0	27,0	1,5	1,8	1,5
12/09/2012	27,8	27,3	27,2	4,0	5,0	4,5
13/09/2012	27,7	27,9	28,0	2,0	3,0	2,5
14/09/2012	28,1	28,0	28,8	2,1	1,5	2,0
17/09/2012	29,1	28,2	28,9	18,0	15,0	20,0
18/09/2012	29,0	27,0	27,2	2,0	25,0	6,0
19/09/2012	29,3	27,3	27,4	3,2	3,5	4,0
20/09/2012	29,1	27,0	27,1	3,0	3,0	4,5
21/09/2012	27,4	25,4	25,2	2,6	2,8	5,0
24/09/2012	28,3	27,6	27,0	2,0	1,5	3,8
26/09/2012	28,3	26,6	29,3	15,0	10,0	18,0
27/09/2012	28,3	27,0	27,1	220,0	42,0	263,0
28/09/2012	28,6	27,1	27,3	80,0	53,0	153,0
01/10/2012	28,7	28,7	27,0	80,0	68,0	115,0
02/10/2012	28,9	28,9	27,2	62,0	56,0	85,0
04/10/2012	29,1	27,9	28,0	40,0	26,0	43,0
05/10/2012	29,8	28,3	28,7	21,0	19,0	27,0
15/10/2012	29,0	27,9	28,9	108,0	62,0	130,0
16/10/2012	28,9	27,8	28,7	20,0	14,0	38,0
17/10/2012	28,3	27,1	27,2	18,0	12,0	25,0
18/10/2012	29,3	27,2	27,0	14,0	10,0	18,0
22/10/2012	29,0	27,1	27,0	58,0	60,0	68,0
24/10/2012	29,2	27,0	27,1	28,0	21,0	23,0
25/10/2012	29,6	27,3	27,2	13,0	10,0	12,0
29/10/2012	29,1	27,0	26,9	43,0	38,0	28,0
30/10/2012	29,3	27,2	27,6	10,0	11,0	9,0
01/11/2012	30,2	27,3	27,3	16,0	13,0	14,0
05/11/2012	29,7	27,0	27,2	38,0	20,0	40,0
07/11/2012	29,6	27,6	27,3	21,0	16,0	18,0
08/11/2012	28,7	26,9	27,3	12,0	8,0	10,0
12/11/2012	28,0	27,1	27,2	19,0	11,0	30,0
14/11/2012	27,3	26,4	26,2	20,0	13,0	18,0
21/11/2012	27,4	26,7	26,8	38,0	20,0	80,0
22/11/2012	28,0	26,0	27,0	8,0	6,0	20,0

23/11/2012	28,1	26,9	27,3	6,0	4,0	12,0
27/11/2012	28,2	27,1	27,2	96,0	72,0	128,0
28/11/2012	28,6	27,5	27,3	160,0	126,0	440,0
30/11/2012	29,2	27,9	27,6	138,0	110,0	268,0
03/12/2012	29,1	27,3	27,4	86,0	128,0	174,0
05/12/2012	29,2	27,2	27,2	38,0	66,0	112,0
10/12/2012	29,7	27,3	27,5	138,0	118,0	166,0
11/12/2012	29,2	27,0	27,3	22,0	16,0	30,0
12/12/2012	29,3	27,3	27,5	12,0	10,0	18,3
13/12/2012	29,6	27,8	28,3	4,0	2,8	8,0
14/12/2012	29,7	28,1	28,2	3,0	2,5	7,0
17/12/2012	29,5	28,4	28,4	3,2	2,9	5,0
18/12/2012	29,3	28,6	28,4	3,0	3,0	4,5
19/12/2012	29,0	28,2	28,3	4,0	3,5	5,0
20/12/2012	31,6	29,1	29,2	3,0	2,0	4,0
21/12/2012	29,0	28,4	28,9	2,5	2,0	3,8
26/12/2012	29,1	28,9	28,7	12,0	8,0	12,6
27/12/2012	30,4	28,9	29,0	6,0	4,0	5,2
28/12/2012	30,1	28,7	28,4	4,0	3,0	3,8
02/01/2013	30,0	29,0	28,9	140,0	80,0	160,0
04/01/2013	30,2	29,1	29,0	60,0	68,0	80,0
07/01/2013	29,7	28,8	28,9	78,0	60,0	104,0
09/01/2013	29,7	28,9	29,0	34,0	12,0	48,0
14/01/2013	29,9	29,0	29,1	190,0	118,0	380,0
15/01/2013	29,7	29,0	28,9	98,0	90,0	120,0
16/01/2013	29,9	29,1	29,1	118,0	110,0	200,0
17/01/2013	29,2	28,9	28,2	98,0	90,0	120,0
21/01/2013	29,1	28,7	28,6	395,0	380,0	800,0
22/01/2013	29,6	28,8	28,5	98,0	95,0	230,0
23/01/2013	29,4	28,5	28,8	78,0	70,0	102,0
24/01/2013	29,2	28,7	29,0	60,0	56,0	78,0
28/01/2013	29,0	28,6	28,9	420,0	350,0	630,0
30/01/2013	29,2	28,8	29,0	390,0	360,0	510,0
31/01/2013	29,0	28,7	28,9	112,0	102,0	330,0
01/02/2013	28,2	28,8	28,9	90,0	86,0	132,0
04/02/2013	29,1	28,4	28,7	180,0	176,0	298,0
06/02/2013	29,0	29,1	28,0	280,0	202,0	400,0
20/02/2013	26,4	27,0	26,9	410,0	360,0	780,0
Média	29,1	28,3	29,1	43,3	51,7	77,8
DV	1,3	1,3	12,0	82,5	79,0	142,7
Mínimo	25,0	25,0	25,0	1,0	1,0	1,0
Máximo	32,0	31,0	36,0	812,0	501,0	988,0
Mediana	29,0	28,3	28,6	16,8	20,0	21,0

APÊNDICE C – TABELA COM VALORES PERCENTUAIS EM PESO DAS AMOSTRAS COLETADAS NO MUNICÍPIO DO RIO DE JANEIRO.

DIRETORIA TÉCNICA E INDUSTRIAL - DIN GERÊNCIA DE PESQUISAS APLICADAS - IGP												2013
COMPONENTES (%)	**AP 1**	**AP 2.1**	**AP 2.2**	**AP 3.1**	**AP 3.2**	**AP 3.3**	**AP 4**	**AP 5.1**	**AP 5.2**	**AP 5.3**	**Mp**	**PESO TOTAL EM Kg POR COMPONENTE**
PAPEL	14,78	15,87	13,98	10,56	12,32	9,97	11,59	10,82	8,63	9,21	11,67	2.088,26
PAPELÃO	2,92	4,17	4,29	3,62	3,31	3,16	4,21	3,51	3,48	4,12	3,67	655,84
TETRA PACK	1,41	1,52	1,49	1,34	1,47	1,53	1,80	1,39	1,29	1,28	1,49	267,22
TOTAL (PAPEL)	**19,11**	**21,56**	**19,76**	**15,51**	**17,10**	**14,66**	**17,60**	**15,72**	**13,40**	**14,61**	**16,83**	**3.011,32**
PLÁSTICO DURO	4,28	4,46	4,18	4,46	3,98	4,13	4,79	3,74	4,57	4,77	4,36	780,40
PLÁSTICO FILME	12,95	12,80	14,11	13,20	12,01	13,66	12,74	12,60	11,14	11,66	12,73	2.277,01
PET	2,20	2,14	1,59	1,23	1,95	1,72	2,09	1,54	2,10	2,37	1,90	340,28
TOTAL (PLASTICO)	**19,43**	**19,40**	**19,88**	**18,88**	**17,94**	**19,50**	**19,62**	**17,88**	**17,80**	**18,79**	**18,99**	**3.397,69**
VIDRO INCOLOR	1,21	1,92	1,43	0,99	1,07	1,56	1,95	1,47	1,40	2,34	1,56	279,20
VIDRO COLORIDO	2,21	2,85	2,15	1,30	1,62	1,23	3,10	1,08	1,06	0,35	1,83	327,21
TOTAL (VIDRO)	**3,42**	**4,77**	**3,58**	**2,29**	**2,69**	**2,80**	**5,05**	**2,55**	**2,46**	**2,69**	**3,39**	**606,40**
MATERIA ORGÂNICA PUTRESCÍVEL	48,12	44,27	48,66	51,71	50,31	51,59	47,04	53,12	55,39	52,22	49,94	8.936,44
AGREGADO FINO ORGÂNICO	2,73	2,70	1,91	3,11	2,89	3,71	2,63	2,82	2,74	2,36	2,86	512,27
TOTAL (ORGÂNICO)	**50,84**	**46,96**	**50,57**	**54,82**	**53,20**	**55,30**	**49,67**	**55,94**	**58,13**	**54,58**	**52,81**	**9.448,70**
METAL FERROSO	1,10	0,78	1,13	0,96	0,95	1,03	1,04	1,08	0,99	1,10	1,01	179,95
METAL NÃO FERROSO	0,72	0,77	0,79	0,43	0,53	0,52	0,87	0,52	0,52	0,46	0,63	112,36
TOTAL (METAL)	**1,82**	**1,55**	**1,92**	**1,40**	**1,48**	**1,55**	**1,91**	**1,60**	**1,51**	**1,56**	**1,63**	**292,31**
PEDRA	0,63	0,28	0,88	2,11	0,78	1,04	1,04	0,36	0,85	0,62	0,89	158,97
LOUÇA / CERÂMICA	0,34	0,49	0,11	0,06	0,05	0,10	0,20	0,39	0,33	0,28	0,22	40,11
TOTAL (INERTE)	**0,97**	**0,77**	**0,99**	**2,17**	**0,83**	**1,13**	**1,23**	**0,75**	**1,19**	**0,91**	**1,11**	**199,07**
FOLHA / FLORES	0,71	1,15	0,30	1,55	3,28	1,05	1,33	0,75	1,27	1,97	1,37	245,32
MADEIRA	0,62	0,49	0,41	0,46	0,45	0,39	0,67	0,58	0,36	0,47	0,50	89,22
BORRACHA	0,25	0,11	0,06	0,19	0,18	0,38	0,27	0,48	0,38	1,16	0,32	57,59
PANO / TRAPO	2,08	1,61	1,35	1,82	1,65	2,18	1,55	3,08	2,29	2,04	1,94	346,99
COURO	0,05	0,09	0,32	0,60	0,27	0,30	0,15	0,40	0,32	0,40	0,27	48,74
OSSO	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,04	0,00	0,01	0,91
COCO	0,47	1,16	0,80	0,08	0,27	0,36	0,58	0,05	0,45	0,49	0,48	85,16
VELA / PARAFINA	0,04	0,05	0,00	0,01	0,05	0,08	0,03	0,00	0,00	0,00	0,03	5,91
ELETRO/ ELETRÔNICO	0,18	0,34	0,08	0,23	0,61	0,29	0,35	0,23	0,41	0,32	0,32	57,65
TOTAL (OUTROS)	**4,40**	**5,00**	**3,30**	**4,93**	**6,76**	**5,06**	**4,92**	**5,56**	**5,52**	**6,86**	**5,24**	**937,49**
TOTAL GERAL	**100,00**	**100,00**	**100,00**	**100,00**	**100,00**	**100,00**	**100,00**	**100,00**	**100,00**	**100,00**	**100,00**	
TEOR DE UMIDADE (%)	**36,77**	**31,87**	**45,65**	**39,98**	**41,42**	**43,49**	**41,34**	**47,60**	**44,21**	**40,25**	**41,26**	
PESO ESPECÍFICO (kg/m³)	**133,19**	**133,82**	**138,39**	**136,69**	**131,45**	**137,32**	**133,02**	**136,82**	**137,08**	**131,99**	**134,87**	**17.892,98**
PESO DA AMOSTRA (kg)	**1.374,53**	**1.952,67**	**929,95**	**1.607,47**	**1.766,72**	**2.998,96**	**3.128,66**	**1.379,13**	**1.677,89**	**1.077,00**	**17.892,98**	
CONTAINERES	**43**	**61**	**28**	**49**	**56**	**91**	**98**	**42**	**51**	**34**	**553**	

*Valor correspondente ao somatório de lixo amostrado no Município do Rio de Janeiro.
AP - Área de Planejamento
RA - Região Administrativa
Mp - Média Aritmética Ponderada

APÊNDICE D - VALORES DE pH GERADOS PELA ANÁLISE DO LIXIVIADO DAS CÉLULAS

Data	Dias de Confinamento	Célula RSD	Célula RSS	Célula COD
22/12/2010	15	5,8	7,0	7,4
05/01/2011	30	6,4	6,2	7,5
19/01/2011	45	6,1	5,6	7,0
02/02/2011	60	6,8	7,0	7,3
02/03/2011	75	6,6	6,8	7,3
27/04/2011	90	6,7	6,9	7,2
10/05/2011	150	7,0	7,1	7,5
25/05/2011	165	6,9	6,9	7,6
08/06/2011	180	7,5	6,8	7,2
27/06/2011	195	7,2	7,1	7,3
06/07/2011	210	7,2	6,8	7,1
20/07/2011	225	6,7	6,7	7,0
03/08/2011	240	6,9	6,9	7,2
17/08/2011	255	6,9	6,8	7,0
31/08/2011	270	7,1	7,0	7,3
14/09/2011	285	7,0	6,6	7,3
28/09/2011	300	7,1	6,8	7,1
11/10/2011	315	6,9	6,9	7,1
26/10/2011	330	6,9	7,0	7,3
21/11/2011	345	7,1	7,0	7,5
07/12/2011	360	6,9	6,9	7,3
21/12/2011	375	6,9	6,7	7,1
04/01/2012	390	6,8	6,7	7,2
18/01/2012	405	6,9	6,7	7,3
01/02/2012	420	6,7	6,5	7,1
14/02/2012	435	7,0	6,8	7,2
29/02/2012	450	7,0	6,7	7,3
14/03/2012	465	7,1	6,8	7,4
28/03/2012	480	7,3	6,9	7,5
25/04/2012	495	7,2	7,3	7,7
07/05/2012	510	7,0	6,9	7,4
25/05/2012	525	7,0	6,7	7,3
06/06/2012	540	7,2	6,8	7,4
20/06/2012	555	7,1	7,4	6,7
03/07/2012	570	7,2	6,8	6,7
18/07/2012	585	7,3	6,8	7,2
01/08/2012	600	7,1	6,6	7,3
15/08/2012	615	7,2	6,9	7,2
29/08/2012	630	7,2	6,7	7,3
12/09/2012	645	7,2	6,8	7,3

26/09/2012	660	7,2	6,9	7,3
08/10/2012	675	7,2	6,7	7,5
24/10/2012	690	7,3	7,0	7,4
07/11/2012	705	7,7	7,1	7,4
21/11/2012	720	7,0	6,6	7,1
05/12/2012	735	7,2	6,4	7,3
19/12/2012	750	7,0	6,8	7,4
02/01/2013	765	7,2	6,8	7,1
16/01/2013	780	6,6	6,3	7,0
30/01/2013	795	7,0	6,5	7,1
20/02/2013	810	7,2	6,6	7,0
Média		7,0	6,8	7,2
Dv		0,3	0,3	0,2
Mínimo		5,8	5,6	6,7
Máximo		7,7	7,4	7,7
Mediana		7,0	6,8	7,3

APÊNDICE E – CARACTERIZAÇÃO BACTERIOLÓGICA DOS LIXIVIADOS DAS CÉLULAS DE ACORDO COM O TEMPO DE CONFINAMENTO DOS RESÍDUOS

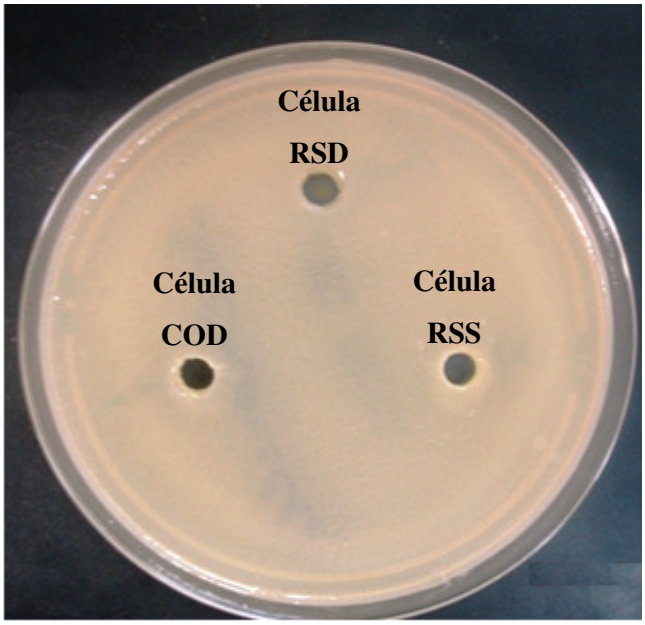
Data	Dias de Confinamento	RSD				RSS				COD			
		Coliformes Totais	*Ecoli*	Enterococos	*P. aeruginosa*	Coliformes Totais	*Ecoli*	Enterococos	*P. aeruginosa*	Coliformes Totais	*Ecoli*	Enterococos	*P. aeruginosa*
22/12/10	15	7000	2200	5000	0	2400	2400	170	0	9000	2100	8000	0
05/01/11	30	800000	500000	110000	0	500000	300000	3000	0	30000	23000	3000	0
19/01/11	45	3000	1100	5000	400	13000	1700	3400	2700	17000	17000	7000	200
02/02/11	60	23000	5000	400	0	11000	5000	1100	200	30000	11000	5000	80000
16/02/11	75	0	0	200	800	0	0	400	400	0	0	400	0
02/03/11	90	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
16/03/11	105	3000	340	230	0	2800	330	230	0	7000	1700	800	0
30/03/11	120	26000	26000	11000	0	200	200	3000	0	0	0	20	0
14/04/11	135	500	70	300	1700	220	40	0	60	80	20	20	900
27/04/11	150	300000	17000	17000	0	70000	14000	17000	0	350000	220000	16000	0
11/05/11	165	1700	220	2400	2400	16000	1400	800	1100	160000	5000	2400	3300
25/05/11	180	300	300	170	230	11000	700	300	40	17000	40	3000	50000
08/06/11	195	3000	500	300	0	170000	9000	2400	80	23000	1100	17000	2600
29/06/11	210	8000	110	800	20	8000	1700	800	0	0	0	130	0
06/07/11	225	80000	50000	3000	0	50000	30000	2800	330	170000	50000	11000	130
21/07/11	240	500	40	1100	0	1600000	60	300	0	1700	40	170	0
03/08/11	255	2400	1300	800	2800	14000	2200	170	20	5000	5000	900	9000
17/08/11	270	800	800	110	0	90	90	40	0	33000	6000	2400	0
31/08/11	285	300	300	1300	1100	500	70	0	1300	130	130	40	0
15/09/11	300	40	20	300	0	800	40	11000	1100	140000	9	260	70
29/09/11	315	5000	80	170	0	500	40	20	3000	500	300	20	0
11/10/11	330	230	0	40	0	1700	20	40	230	40	0	170	20
26/10/11	345	2400	1300	270	2400	500	500	230	1700	1700	1400	9000	230
10/11/11	360	130	130	16000	130	800	300	230	0	230	230	500	0
22/12/11	375	800	800	300	13000	8000	1700	800	20	300000	300000	5000	1700
05/01/12	390	800	500	17000	28000	70	2	900	35000	240000	28000	130000	50000
18/01/12	405	3000	700	3500	110	9000	300	14000	1400	2400	2200	700	1700

03/02/12	420	2200	800	300	0	11000	2800	1100	0	35000	17000	1300	0
14/02/12	435	220	1700	2600	0	340	220	20	0	3000	2400	3000	0
29/02/12	450	30	70	70	50	0	0	20	30	0	0	0	0
14/03/12	465	80	40	130	800	40	40	40	300	800	80	130	5000
28/03/12	480	0	0	0	20	0	0	0	300	0	0	0	7000
11/04/12	495	70	70	20	40	40	40	0	1700	5000	5000	800	3000
25/04/12	510	300	300	40	0	130	130	0	230	8000	8000	40	1100
07/05/12	525	300	300	70	0	3000	3000	90	13000	7000	7000	24000	5000
23/05/12	540	130	130	11000	40	3000	3000	80	2400	3000	3000	7000	170
20/06/12	555	500	500	2400	20	700	700	300	8000	1300	1300	2200	170
03/07/12	570	1700	1700	2200	40	500	500	20	130	500	500	1300	130
18/07/12	585	50000	50000	23000	1300	80000	80000	80	2400	8000	8000	7000	3400
01/08/12	600	11000	11000	30000	22000	20	20	0	130	30000	30000	500	0
15/08/12	615	50000	50000	24000	700	50	500	300	0	800	500	17000	28000
29/08/12	630	110000	110000	13000	13000	70	70	80	130	17000	17000	260	0
12/09/12	645	2800	2800	80	0	0	0	0	300	110	110	20	0
26/09/12	660	300000	300000	1700	8000	0	0	70	2400	2	2	0	0
07/10/12	675	240000	240000	30000	17000	500	500	80	13000	0	0	0	2400
24/10/12	690	170	170	800	14000	170	110	0	2	110	2	170	4
07/11/12	705	8	8	30000	22000	210	210	220	300	7	7	700	7
21/11/12	720	50000	50000	23000	240000	1700	1700	50000	240000	1700	1700	50000	300
05/12/12	735	23000	23000	2300	80000	800	300	0	13000	1400	340	300	2400
19/12/13	750	140	1100	230	5000	0	0	0	110	22000	8000	0	140
02/01/13	765	1400	1400	230	0	70	70	0	80	300	80	170	140
16/01/13	780	1700	1400	11000	0	80	80	500	0	1300	40	3500	3000
30/01/13	795	500	300	1700	500	2400	220	20	7000	2400	1300	800	700
20/02/13	810	7000	7000	130	13000	80	40	0	80	800	220	130	80
Média	Média	39354,59	27085,15	7531,296	9085,185	48064,44	8630,407	2150,926	6550,037	31246,46	14552,78	6356,481	4851,685
DV	DV	124543,1	84875,75	16737,91	34313,55	226923,2	42031,53	7404,181	32844,55	75081,68	50104,4	19010,87	14511,05

APÊNDICE F. VALORES DE BACTÉRIAS HETEROTRÓFICAS IDENTIFICADOS NAS CÉLULAS DE CONFINAMENTO DE ACORDO COM O TEMPO DE CONFINAMENTO

Dias de Confinamento	RSD	RSS	COD
15	190.000	196.000	400.000
30	2.900.000	6.000.000	4.500.000
45	1.600.000	2.540.000	750.000
60	2.400	235.000	21.000
75	87.000	15.600	8.000
90	87.000	95.000	125.000
105	9.900.000	40.000	88.000
120	310.000	630.000	210.000
135	280.000	1.300	82.000
165	26.000.000	25.000.000	28.500.000
180	54.000	95.000	130.000
210	1.500.000	65.000	320.000
225	1.170.000	142.000	390.000
240	87.000	520.000	27.000
255	9.000	230.000	77.000
270	1.200.000	2.690.000	1.330.000
285	400.000	50.000	60.000
300	20	3.000	30.000
315	40.000	170.000	42.000
330	20.000	1.000	1.000
345	110.000	55.000	380.000
360	35.000	25.000	30.000
375	15.000	240.000	120.000
390	1.420.000	1.330.000	1.200.000
405	90.000	390.000	50.000
420	590.000	210.000	195.000
435	8.000	34.000	15.000
450	5.000	7.000	1.000
465	1.000	1.000	2.000
480	200	30	50
495	2.000	1.000	15.000
510	35.000	10.000	22.000
525	90.000	232.000	30.000
540	411.000	150.000	25.000
555	150.000	80.000	37.000
570	40.000	72.000	75.000
585	10.000	40.000	22.000
600	30.000	30.000	10.000
615	6.500	2.000	3.000
630	500.000	720.000	500.000
645	7.000.000	3.000	650.000
645	55.000	20.000	30.000
Média	1.343.812	1.008.832	964.358
DV	4.323.602	3.936.908	4.413.435
Mediana	87.000	72.000	50.000
Mínimo	200	300	100
Máximo	26.000.000	25.000.000	28.500.000

APÊNDICE G – ATIVIDADE INIBITÓRIA NEGATIVA DO LIXIVIADO DAS CÉLULAS CONTRA PATÓGENOS.



APÊNDICE H – DIÂMETRO DOS HALOS DE INIBIÇÃO E PERFIL DE RESISTÊNCIA PARA ENTEROBACTÉRIAS ISOLADAS NA CÉLULA RSD.
R – RESISTENTE S – SENSÍVEL

Estirpe	Data	AMP		AMI		AMC		ATM		GEN		SUT		CAZ		CPM		CFO		CFZ		CTX		CIP		IMP		MER	
Controle	E.coli 25922	21	S	22	S	23	S	32	S	22	S	28	S	23	S	30	S	30	S	29	S	30	S	34	S	26	S	30	S
C. diversus	30/01/2013	19	S	21	S	15	R	28	S	20	S	26	S	24	S	30	S	14	R	0	R	28	S	30	S	21	I	27	S
C. freudii	15/08/2012	19	S	22	S	0	R	33	S	20	S	27	S	27	S	30	S	0	R	0	R	31	S	35	S	20	I	27	S
C. freudii	05/12/2012	24	S	23	S	20	S	30	S	23	S	27	S	25	S	32	S	20	S	0	R	31	S	30	S	25	S	31	S
E. coli	02/03/2011	20	S	20	S	21	S	29	S	24	S	23	S	22	S	29	S	31	S	22	S	30	S	35	S	30	S	28	S
E. coli	27/04/2011	21	S	20	S	22	S	31	S	19	S	26	S	21	S	29	S	30	S	24	S	29	S	33	S	31	S	24	S
E. coli	11/05/2011	21	S	20	S	19	S	29	S	21	S	24	S	23	S	31	S	29	S	25	S	30	S	32	S	30	S	26	S
E. coli	03/08/2011	22	S	22	S	22	S	30	S	23	S	23	S	24	S	32	S	30	S	24	S	31	S	32	S	30	S	25	S
E. coli	31/08/2011	19	S	22	S	22	S	28	S	21	S	24	S	23	S	31	S	29	S	24	S	29	S	33	S	27	S	27	S
E. coli	24/10/2011	23	S	24	S	25	S	30	S	20	S	25	S	28	S	31	S	30	S	20	S	31	S	33	S	25	S	24	S
E. coli	23/11/2011	21	S	21	S	23	S	25	S	22	S	22	S	25	S	31	S	29	S	21	S	32	S	30	S	26	S	25	S
E. coli	17/03/2012	19	S	17	S	19	S	27	S	19	S	28	S	23	S	29	S	25	S	21	S	30	S	30	S	23	S	28	S
E. coli	20/06/2012	11	S	22	S	18	S	30	S	24	S	30	S	30	S	34	S	30	S	12	R	32	S	35	S	26	S	32	S
E. coli	04/07/2012	21	S	21	S	13	R	32	S	19	S	34	S	31	S	30	S	21	S	20	I	30	S	40	S	29	S	30	S
E. coli	18/07/2012	20	S	18	S	0	R	28	S	20	S	28	S	20	I	31	S	29	S	23	S	30	S	30	S	28	S	31	S
E. coli	26/09/2012	19	S	19	S	19	S	30	S	21	S	21	S	26	S	30	S	30	S	22	S	30	S	28	S	25	S	28	S
E. coli	07/10/2012	23	S	19	S	21	S	31	S	20	S	23	S	26	S	30	S	30	S	21	S	30	S	26	S	27	S	28	S
E. coli	07/11/2012	20	S	24	S	21	S	32	S	21	S	26	S	29	S	31	S	28	S	22	S	31	S	28	S	26	S	30	S
E. coli	21/11/2012	22	S	20	S	23	S	30	S	23	S	16	S	27	S	29	S	23	S	22	S	20	S	26	S	25	S	29	S
E.coli	30/01/2013	20	S	21	S	23	S	26	S	19	S	27	S	25	S	30	S	25	S	21	S	26	S	30	S	25	S	26	S
E.coli	20/02/2013	17	S	20	S	19	S	27	S	20	S	27	S	25	S	28	S	25	S	21	S	30	S	34	S	25	S	27	S
Enterobacter	27/04/2011	9	R	21	S	11	R	21	S	20	S	25	S	21	S	32	S	0	R	21	R	30	S	30	S	31	S	25	S
Enterobacter	06/07/2011	11	R	22	S	10	R	23	S	22	S	26	S	16	R	10	R	8	R	0	R	32	S	32	S	22	S	27	S
Enterobacter	17/08/2011	11	R	20	S	10	R	32	S	20	S	26	S	25	S	32	S	0	R	0	R	30	S	31	S	28	S	28	S
Enterobacter	17/08/2011	11	R	22	S	0	R	31	S	25	S	24	S	27	S	31	S	0	R	0	R	32	S	32	S	21	S	26	S
Enterobacter	28/09/2011	11	R	20	S	12	R	30	S	21	S	24	S	21	S	30	S	0	R	0	R	31	S	35	S	23	S	29	S

Enterobacter	11/10/2011	19	S	20	S	21	S	29	S	21	S	25	S	26	S	30	S	25	R	19	S	30	S	32	S	28	S	26	S
Enterobacter	26/10/2011	0	R	24	S	0	R	32	S	22	S	26	S	25	S	35	S	0	R	0	R	31	S	32	S	21	I	27	S
Enterobacter	21/12/2011	9	R	20	S	11	R	23	S	21	S	25	S	22	S	20	S	25	R	0	R	30	S	31	S	15	R	27	S
Enterobacter	11/02/2012	21	S	23	S	19	S	31	S	21	S	24	S	30	S	33	S	14	R	16	R	32	S	32	S	22	S	21	S
Enterobacter	25/04/2012	0	R	23	S	0	R	32	S	20	S	27	S	26	S	33	S	0	R	0	R	30	S	35	S	23	S	28	S
Enterobacter	23/05/2012	11	R	16	I	25	S	29	S	19	S	24	S	25	S	30	S	22	S	25	S	29	S	30	S	23	S	23	S
Enterobacter	06/06/2012	0	R	21	S	21	S	30	S	21	S	29	S	28	S	34	S	28	S	21	S	33	S	27	S	29	S	28	S
Enterobacter	20/06/2012	21	S	26	S	11	R	32	S	21	S	29	S	27	S	30	S	11	R	0	R	34	S	34	S	25	S	26	S
Enterobacter	04/07/2012	20	S	21	S	20	S	32	S	24	S	30	S	30	S	34	S	10	R	10	R	34	S	35	S	25	S	30	S
Enterobacter	18/07/2012	20	S	24	S	20	S	32	S	20	S	26	S	30	S	36	S	8	R	15	R	35	S	33	S	25	S	30	S
Enterobacter	15/08/2012	20	S	20	S	20	S	35	S	22	S	25	S	30	S	34	S	9	R	0	R	30	S	35	S	22	S	29	S
Enterobacter	07/10/2012	20	S	21	S	19	S	39	S	21	S	26	S	32	S	36	S	8	R	0	R	36	S	38	S	23	S	31	S
Enterobacter	07/11/2012	10	R	20	S	11	R	26	S	22	S	23	S	24	S	11	R	25	R	0	R	27	S	32	S	27	S	23	S
Enterobacter	21/11/2012	13	R	24	S	0	R	28	S	19	S	30	S	30	S	32	S	0	R	0	R	29	S	35	S	22	S	29	S
Enterobacter	05/12/2012	24	S	22	S	25	S	32	S	23	S	25	S	26	S	30	S	22	S	24	S	30	S	33	S	22	S	27	S
Enterobacter	19/12/2012	13	R	22	S	9	R	31	S	22	S	24	S	25	S	31	S	9	R	0	R	29	S	31	S	20	S	26	S
K. oxytoca	04/07/2012	14	I	21	S	24	S	30	S	20	S	30	S	28	S	33	S	24	S	23	S	31	S	30	S	25	S	28	S
K. pneumoniae	01/02/2011	22	S	20	S	30	S	0	R	23	S	32	S	24	S	32	S	30	S	40	S	35	S	32	S	40	S	40	S
K. pneumoniae	02/03/2011	10	R	20	S	10	R	28	S	17	S	24	S	24	S	27	S	9	R	0	R	25	I	26	S	22	I	24	S
K. pneumoniae	13/04/2011	16	I	20	S	9	R	25	S	19	S	22	S	20	I	25	S	9	R	0	R	25	I	22	S	24	S	17	R
K. pneumoniae	22/06/2011	21	S	21	S	20	S	29	S	21	S	26	S	27	S	27	S	21	S	22	S	31	S	30	S	30	S	25	S
K. pneumoniae	03/08/2011	12	R	19	S	12	R	27	S	22	S	23	S	25	S	28	S	0	R	0	R	24	I	21	S	24	S	24	S
K. pneumoniae	28/09/2011	11	R	21	S	20	S	25	S	20	S	0	R	21	I	25	S	23	S	20	I	25	I	21	S	24	S	24	S
K. pneumoniae	09/11/2011	12	R	22	S	12	R	27	S	21	S	25	S	25	S	30	S	10	R	0	R	27	S	30	S	21	I	25	S
K. pneumoniae	20/11/2011	12	R	22	S	14	I	19	I	21	S	20	S	21	I	24	S	15	I	0	R	20	R	28	S	30	S	28	S
K. pneumoniae	23/11/2011	12	R	22	S	14	I	19	I	21	S	25	S	21	I	24	S	15	I	0	R	20	R	34	S	21	I	26	S
K. pneumoniae	02/03/2012	11	R	22	S	20	S	30	S	21	S	26	S	25	S	30	S	25	S	25	S	28	S	29	S	24	S	25	S
K. pneumoniae	26/03/2012	12	R	22	S	23	S	30	S	20	S	23	S	25	S	30	S	25	S	23	S	30	S	30	S	25	S	25	S
K. pneumoniae	04/07/2012	13	R	27	S	15	I	0	R	25	S	0	R	0	R	10	R	20	S	11	R	12	R	32	S	35	S	31	S
K. pneumoniae	26/09/2012	15	I	17	R	13	R	17	R	18	S	22	S	20	I	21	S	15	R	0	R	17	R	26	S	28	S	25	S

K. pneumoniae	26/09/2012	13	R	24	S	25	S	35	S	22	S	26	S	30		31	S	25	S	24	S	32	S	31	S	25	S	30	S
K. pneumoniae	07/10/2012	10	R	20	S	22	S	33	S	21	S	0	R	26	S	30	S	25	S	25	S	30	S	25	S	24	S	25	S
K. pneumoniae	07/10/2012	10	R	23	S	10	R	29	S	21	S	21	S	21	S	25	S	21	R	0	R	25	I	32	S	30	S	24	S
K. pneumoniae	24/10/2012	15	I	25	S	10	R	32	S	24	S	25	S	25	S	30	S	12	R	0	R	28	S	33	S	21	I	26	S
K. pneumoniae	07/11/2012	13	R	21	S	20	S	25	S	20	S	20	S	20	I	24	S	21	S	20	I	24	I	22	S	25	S	23	S
K. pneumoniae	21/11/2012	12	R	20	S	22	S	30	S	20	S	22	S	25	S	29	S	22	S	21	S	30	S	25	S	20	I	23	S
K. pneumoniae	05/12/2012	21	S	24	S	17	I	30	S	24	S	24	S	24	S	25	S	17	I	17	R	30	S	26	S	21	I	25	S
K. pneumoniae	30/01/2013	10	R	20	S	20	S	29	S	19	S	23	S	24	S	26	S	23	S	24	S	29	S	28	S	23	S	25	S
P. mirabilis	06/07/2011	21	S	21	S	22	S	29	S	19	S	21	S	24	S	26	S	26	S	20	S	31	S	33	S	27	S	27	S
P. mirabilis	17/08/2011	11	R	20	S	10	R	29	S	20	S	22	S	23	S	25	S	25	S	8	R	30	S	30	S	27	S	27	S
P. mirabilis	21/11/2012	0	R	21	S	0	R	32	S	23	S	26	S	30	S	34	S	14	R	0	R	33	S	35	S	19	R	21	S
P. mirabilis	29/08/2012	24	S	20	S	25	S	31	S	20	S	23	S	25	S	26	S	22	S	20	R	30	S	35	S	20	I	24	S
P. vulgaris	31/08/2011	11	R	23	S	21	S	28	S	20	S	24	S	21	S	29	S	25	S	0	R	0	R	34	S	27	S	29	S
P. vulgaris	03/10/2011	10	R	22	S	21	S	25	R	21	S	26	S	15	R	13	R	0	R	0	R	22	R	33	S	28	S	25	S
P. vulgaris	09/11/2011	11	R	22	S	22	S	28	S	20	S	22	S	22	S	28	S	25	S	0	R	9	R	30	S	25	S	23	S
P. vulgaris	25/04/2012	11	R	22	S	26	S	35	S	25	S	33	S	30	S	31	S	25	S	0	R	30	S	33	S	20	I	26	S
P. vulgaris	26/09/2012	0	R	25	S	21	S	30	S	22	S	30	S	26	S	30	S	24	S	0	R	30	S	37	S	20	I	30	S
P. vulgaris	07/11/2012	0	R	24	S	20	S	32	S	23	S	32	S	28	S	30	S	25	S	0	R	30	S	40	S	21	I	27	S
P.vulgaris	27/04/2011	27	S	0	R	25	S	0	R	14	I	26	S	0	R	7	R	0	R	14	R	0	R	20	S	21	I	14	R
Providencia sp	02/01/2013	17	S	25	S	10	R	38	S	20	S	26	S	28	S	34	S	25	S	0	R	33	S	35	S	23	S	30	S
Providencia sp	24/10/2012	14	I	22	S	9	R	30	S	17	S	25	S	24	S	29	S	21	S	0	R	25	I	36	S	16	R	25	S
Salmonella sp	21/07/2012	19	S	23	S	15	I	30	S	22	S	29	S	26	S	30	S	13	R	0	R	30	S	30	S	21	I	30	S
Controle	E.coli 25922	23	S	25	S	24	S	32	S	23	S	27	S	26	S	30	S	30	S	24	S	30	S	33	S	30	S	26	S

AMP- Ampicilina; AMI – Amicacina; AMC – Amoxicilina+ácido clavulânico; GEN – Gentamicina; SUT – Sulfametoxazol-trimetoprim; CAZ – Ceftazidima; CPM – Cefepime; CFO – Cefoxitina; CFZ – Cefazolina; CTX – Cefotaxima; CIP – Cipfrofloxacina; IMP – Imipenem; MER – Meropenem

APÊNDICE I – DIÂMETRO DOS HALOS DE INIBIÇÃO E PERFIL DE RESISTÊNCIA PARA ENTEROBACTÉRIAS ISOLADAS NA CÉLULA RSS.
R – RESISTENTE S- SENSÍVEL

Estirpe	Data	AMP		AMI		AMC		ATM		GEN		SUT		CAZ		CPM		CFO		CFZ		CTX		CIP		IMP		MER	
Controle	E.coli 25922	21	S	22	S	23	S	32	S	22	S	28	S	23	S	30	S	30	S	29	S	30	S	34	S	26	S	30	S
E. coli	05/01/2011	21	S	19	S	20	S	31	S	19	S	22	S	25	S	29	S	25	S	21	S	29	S	32	S	21	S	27	S
E. coli	18/01/2011	22	S	19	S	20	S	29	S	17	S	24	S	24	S	30	S	25	S	21	S	30	S	30	S	21	S	27	S
E. coli	16/02/2011	20	S	19	S	20	S	30	S	20	S	25	S	26	S	28	S	25	S	21	S	31	S	30	S	21	S	27	S
E. coli	02/03/2011	21	S	19	S	20	S	29	S	21	S	23	S	27	S	27	S	25	S	21	S	29	S	28	S	21	S	27	S
E. coli	11/05/2011	20	S	19	S	20	S	30	S	19	S	21	S	26	S	28	S	25	S	21	S	28	S	29	S	21	S	27	S
E. coli	25/05/2011	20	S	19	S	20	S	28	S	18	S	26	S	28	S	25	S	25	S	21	S	30	S	30	S	21	S	27	S
E. coli	08/06/2011	20	S	19	S	20	S	28	S	20	S	22	S	26	S	25	S	25	S	21	S	29	S	31	S	21	S	27	S
E. coli	24/11/2011	20	S	19	S	20	S	30	S	19	S	22	S	26	S	28	S	25	S	21	S	29	S	30	S	21	S	27	S
E. coli	30/01/2013	20	S	18	S	21	S	26	S	17	S	25	S	22	S	27	S	23	S	20	S	25	I	28	S	25	S	25	S
E.coli	27/04/2011	20	S	21	S	21	S	30	S	20	S	28	S	26	S	32	S	30	S	23	S	32	S	30	S	26	S	29	S
E.coli	18/01/2012	21	S	20	S	21	S	30	S	20	S	0	R	25	S	30	S	25	S	23	S	30	S	29	S	25	S	28	S
E.coli	14/03/2012	19	S	17	S	19	S	27	S	19	S	28	S	23	S	29	S	25	S	21	S	30	S	30	S	23	S	28	S
E.coli	26/04/2012	21	S	21	S	21	S	28	S	21	S	28	S	26	S	32	S	27	S	23	S	31	S	30	S	25	S	30	S
E.coli	20/06/2012	11	S	22	S	18	S	30	S	24	S	30	S	30	S	34	S	30	S	12	R	32	S	35	S	26	S	32	S
E.coli	04/07/2012	21	S	21	S	21	S	32	S	19	S	34	S	31	S	30	S	21	S	20	I	30	S	40	S	29	S	30	S
E.coli	18/07/2012	20	S	18	S	20	S	28	S	20	S	28	S	20	I	31	S	29	S	23	S	30	S	30	S	28	S	31	S
E.coli	26/09/2012	19	S	19	S	19	S	30	S	21	S	21	S	26	S	30	S	30	S	22	S	30	S	28	S	25	S	28	S
E.coli	26/09/2012	21	S	21	S	21	S	31	S	21	S	30	S	29	S	32	S	30	S	23	S	32	S	30	S	29	S	26	S
E.coli	07/10/2012	23	S	19	S	21	S	31	S	20	S	23	S	26	S	30	S	30	S	21	S	30	S	26	S	27	S	28	S
E.coli	07/10/2012	16	I	23	S	21	S	37	S	20	S	0	R	30	S	35	S	25	S	35	S	0	R	34	S	20	I	29	S
E.coli	07/11/2012	20	S	24	S	21	S	32	S	21	S	26	S	29	S	31	S	28	S	22	S	31	S	28	S	26	S	30	S
E.coli	21/11/2012	22	S	20	S	23	S	30	S	23	S	16	S	27	S	29	S	23	S	22	S	20	I	26	S	25	S	29	S

Enterobacter	04/07/2012	20	S	20	S	16	I	27	S	17	S	22	S	21	S	25	S	0	R	0	R	26	S	27	S	18	R	24	S
Enterobacter	11/05/2011	20	S	21	S	10	R	29	S	20	S	26	S	25	S	31	S	11	R	0	R	27	S	28	S	21	I	30	S
Enterobacter	06/07/2011	22	S	21	S	10	R	29	S	16	S	26	S	25	S	31	S	13	R	0	R	27	S	34	S	20	I	30	S
Enterobacter	28/09/2011	17	S	18	S	10	R	25	S	20	S	26	S	25	S	29	S	14	R	0	R	26	S	25	S	21	I	24	S
Enterobacter	26/10/2011	19	S	21	S	21	S	29	S	19	S	26	S	25	S	31	S	12	R	8	R	27	S	28	S	20	I	30	S
Enterobacter	24/11/2011	20	S	21	S	10	R	29	S	16	S	26	S	25	S	26	S	14	R	0	R	27	S	31	S	22	I	30	S
Enterobacter	21/12/2011	20	S	21	S	12	R	29	S	19	S	26	S	25	S	31	S	14	R	11	R	27	S	28	S	22	I	30	S
Enterobacter	04/07/2012	20	S	20	S	10	R	30	S	18	S	30	S	20	I	30	S	0	R	0	R	29	S	29	S	23	S	29	S
Enterobacter	05/12/2012	15	I	20	S	9	R	25	S	22	S	23	S	23	S	27	S	16	I	0	R	24	I	24	S	18	I	20	I
Enterobacter	19/12/2012	18	S	21	S	11	R	25	S	20	S	28	S	21	S	26	S	8	R	0	R	25	I	24	S	20	I	25	S
K. oxytoca	16/01/2013	0	R	21	S	7	R	28	S	21	S	0	R	25	S	30	S	0	R	0	R	30	S	31	S	20	I	15	R
K. pneumoniae	16/02/2011	21	S	23	S	11	I	35	S	22	S	30	S	30	S	35	S	10	R	10	R	35	S	40	S	27	S	34	S
K. pneumoniae	03/08/2011	20	S	24	S	20	S	33	S	24	S	30	S	27	S	37	S	11	R	0	R	34	S	35	S	22	S	32	S
K. pneumoniae	17/08/2011	19	I	24	S	21	S	32	S	24	S	22	S	26	S	30	S	9	R	12	R	35	S	31	S	21	S	30	S
K. pneumoniae	31/08/2011	0	R	20	S	0	R	26	S	19	S	24	S	22	S	26	S	8	R	11	R	27	S	25	S	15	R	24	S
K. pneumoniae	26/10/2011	19	S	24	S	21	S	30	S	20	S	26	S	27	S	32	S	11	R	0	R	29	S	40	S	20	I	30	S
K. pneumoniae	18/01/2012	0	R	20	S	0	R	27	S	19	S	24	S	22	S	26	S	0	R	0	R	27	S	25	S	17	R	24	S
K. pneumoniae	14/03/2012	0	R	23	S	30	S	20	I	29	S	30	S	31	S	25	S	24	S	30	S	32	S	33	S	26	S	29	S
K. pneumoniae	20/06/2012	20	S	24	S	10	R	35	S	24	S	30	S	27	S	37	S	0	R	0	R	34	S	35	S	22	S	32	S
K. pneumoniae	29/08/2012	15	I	24	S	11	R	32	S	24	S	22	S	26	S	30	S	0	R	0	R	35	S	31	S	21	S	30	S
K. pneumoniae	07/10/2012	21	S	24	S	0	R	30	S	20	S	26	S	27	S	32	S	9	R	0	R	29	S	40	S	22	I	30	S
K. pneumoniae	24/10/2012	0	R	21	S	10	R	31	S	29	S	30	S	30	S	36	S	0	R	0	R	34	S	38	S	25	S	31	S
K. pneumoniae	07/11/2012	10	R	23	S	24	S	30	S	25	S	0	R	28	S	30	S	24	S	24	S	31	S	30	S	25	S	28	S
K. pneumoniae	21/11/2012	22	S	23	S	19	S	35	S	22	S	30	S	30	S	35	S	10	R	10	R	35	S	40	S	27	S	34	S
K. pneumoniae	05/12/2012	0	R	24	S	0	R	33	S	25	S	0	R	31	S	35	S	0	R	0	R	30	S	40	S	25	S	32	S
K. pneumoniae	02/01/2013	11	R	25	S	21	S	31	S	25	S	27	S	25	S	30	S	23	S	23	S	30	S	30	S	25	S	28	S

K. pneumoniae	30/01/2013	14	I	20	S	0	R	26	S	19	S	26	S	23	S	30	S	0	R	0	R	26	S	28	S	17	R	20	I
P vulgaris	20/01/2012	16	I	21	S	0	R	31	S	20	S	28	S	29	S	33	S	9	R	0	R	32	S	35	S	20	I	26	S
P. mirabilis	02/03/2011	25	S	20	S	23	S	35	S	20	S	25	S	27	S	30	S	20	S	21	S	32	S	31	S	20	I	25	S
P. mirabilis	02/09/2011	25	S	21	S	19	S	30	S	21	S	29	S	25	S	30	S	27	S	20	S	30	S	36	S	20	I	21	I
P. mirabilis	26/09/2012	21	S	21	S	20	S	32	S	21	S	29	S	26	S	32	S	16	I	21	S	30	S	34	S	14	R	31	S
P. mirabilis	07/10/2012	21	S	20	S	25	S	32	S	24	S	30	S	26	S	30	S	26	S	21	S	30	S	36	S	20	I	24	S
P. vulgaris	07/12/2011	21	I	21	S	0	R	31	S	20	S	28	S	29	S	33	S	9	R	0	R	32	S	35	S	21	I	26	S
S. marcescens	05/12/2012	0	R	21	S	9	R	27	S	20	S	26	S	26	S	30	S	19	S	0	R	28	S	30	S	20	I	26	S

AMP- Ampicilina; AMI – Amicacina; AMC – Amoxicilina+ácido clavulânico; GEN – Gentamicina; SUT – Sulfametoxazol-trimetoprim; CAZ – Ceftazidima; CPM – Cefepime; CFO – Cefoxitina; CFZ – Cefazolina; CTX – Cefotaxima; CIP – Cipfrofloxacina; IMP – Imipenem; MER – Meropenem

APÊNDICE J – DIÂMETRO DOS HALOS DE INIBIÇÃO E PERFIL DE RESISTÊNCIA PARA ENTEROBACTÉRIAS ISOLADAS NA CÉLULA COD.
R – RESISTENTE S – SENSÍVEL

Estirpe	Data	AMP		AMI		AMC		ATM		GEN		SUT		CAZ		CPM		CFO		CFZ		CTX		CIP		IMP		MER	
Controle	E.coli 25922	21	S	22	S	23	S	32	S	22	S	28	S	23	S	30	S	30	S	29	S	30	S	34	S	26	S	30	S
C. diversus	05/12/2012	0	R	22	S	14	I	25	S	21	S	25	S	25	S	25	S	15	I	10	R	8	R	26	S	30	S	24	S
C. diversus	30/01/2013	12	R	21	S	23	S	30	S	20	S	30	S	25	S	30	S	25	S	23	S	30	S	33	S	26	S	29	S
C. freundii	18/07/2012	14	I	21	S	11	R	30	S	22	S	26	S	25	S	30	S	20	S	0	R	29	S	29	S	21	I	3	R
C. freundii	26/09/2012	20	S	21	S	20	S	30	S	21	S	29	S	29	S	29	S	30	S	19	R	30	S	35	S	21	I	25	S
C. freundii	07/10/2012	20	S	25	S	10	R	32	S	22	S	27	S	30	S	34	S	26	S	0	R	31	S	32	S	20	I	29	S
E. coli	05/01/2011	21	S	23	S	24	S	30	S	22	S	28	S	25	S	29	S	25	S	24	S	34	S	30	S	26	S	30	S
E. coli	02/03/2011	21	S	25	S	24	S	32	S	24	S	29	S	26	S	33	S	25	S	25	S	31	S	30	S	27	S	30	S
E. coli	30/01/2013	12	R	20	S	0	R	31	S	17	S	22	S	24	S	31	S	10	R	0	R	30	S	31	S	20	I	26	S
E. coli	20/02/2013	19	S	19	S	20	S	25	S	19	S	24	S	24	S	27	S	23	S	20	I	26	S	26	S	25	S	25	S
E. tarda	07/10/2012	14	I	20	S	0	R	25	S	22	S	30	S	25	S	27	S	17	I	0	R	27	S	32	S	17	R	28	S
E.coli	01/02/2011	21	S	22	S	21	S	31	S	22	S	30	S	29	S	30	S	28	S	24	I	30	S	25	S	30	S	27	S
E.coli	02/03/2011	24	S	24	S	23	S	31	S	23	S	30	S	30	S	33	S	30	S	24	S	30	S	26	S	28	S	32	S
E.coli	11/05/2011	20	S	21	S	22	S	28	S	21	S	28	S	25	S	31	S	27	S	21	S	26	S	25	S	24	S	27	S
E.coli	21/07/2011	21	S	25	S	24	S	32	S	24	S	29	S	26	S	33	S	25	S	25	S	31	S	30	S	27	S	30	S
E.coli	26/10/2011	23	S	24	S	25	S	30	S	20	S	25	S	28	S	31	S	30	S	20	R	31	S	29	S	23	S	28	S
E.coli	20/06/2012	22	S	25	S	20	S	32	S	25	S	33	S	29	S	33	S	35	S	28	S	26	S	32	S	25	S	30	S
E.coli	26/09/2012	20	S	20	S	20	S	29	S	21	S	28	S	25	S	29	S	26	S	22	S	26	S	27	S	25	S	28	S
E.coli	05/12/2012	17	S	18	S	17	I	26	S	21	S	26	S	25	S	27	S	24	S	19	I	27	S	25	S	24	S	28	S
E.coli	16/01/2013	0	R	20	S	18	S	27	S	29	S	26	S	22	S	25	S	27	S	18	R	25	S	27	S	26	S	29	S
Enterobacter	27/04/2011	21	S	22	S	12	R	25	S	21	S	21	S	14	R	25	S	0	R	0	R	27	S	26	S	17	R	30	S
Enterobacter	11/05/2011	20	S	22	S	10	R	27	S	19	S	21	S	9	R	26	S	12	R	0	R	26	S	25	S	15	R	28	S
Enterobacter	06/07/2011	19	S	22	S	9	R	26	S	19	S	22	S	10	R	25	S	9	R	0	R	23	S	25	S	17	R	26	S
Enterobacter	10/11/2011	20	S	22	S	16	I	32	S	20	S	27	S	0	R	30	S	0	R	0	R	30	S	30	S	21	I	29	S

Enterobacter	21/12/2011	17	S	20	S	12	R	25	S	19	S	25	S	18	S	12	R	18	S	20	I	25	S	25	S	23	S	25	S
Enterobacter	23/02/2012	18	S	21	S	11	R	25	S	17	S	22	S	11	I	26	S	11	R	0	R	25	S	24	S	18	R	24	S
Enterobacter	02/03/2012	13	R	18	S	20	S	27	S	18	S	26	S	25	S	28	S	25	S	24	S	29	S	25	S	23	S	25	S
Enterobacter	04/07/2012	24	S	22	S	16	I	32	S	19	S	27	S	26	S	29	S	26	S	0	R	30	S	31	S	22	I	29	S
Enterobacter	15/08/2012	24	S	20	S	23	S	30	S	19	S	27	S	21	S	32	S	21	S	19	R	29	S	27	S	23	S	27	S
Enterobacter	21/11/2012	19	S	21	S	0	R	26	S	19	S	29	S	11	I	29	S	11	R	0	R	24	S	28	S	20	I	22	I
Enterobacter	05/12/2012	10	I	17	S	21	S	26	S	16	S	0	R	22	S	24	S	22	S	21	I	25	S	23	S	22	I	24	S
Enterobacter	20/02/2013	16	I	21	S	20	S	30	S	22	S	30	S	33	S	35	S	30	S	20	I	32	S	38	S	27	S	30	S
K. oxytoca	20/02/2012	12	R	20	S	16	I	30	S	20	S	25	S	30	S	33	S	26	S	15	R	30	S	33	S	23	S	26	S
K. oxytoca	28/03/2012	0	R	23	S	11	R	35	S	21	S	28	S	30	S	31	S	11	R	0	R	33	S	34	S	15	R	14	R
K. oxytoca	23/05/2012	0	R	20	S	10	R	28	S	21	S	26	S	25	S	30	S	21	S	14	R	30	S	30	S	23	S	27	S
K. pneumoniae	16/02/2011	19	S	19	S	12	R	30	S	25	S	28	S	9	R	30	S	11	R	0	R	30	S	29	S	21	I	25	S
K. pneumoniae	02/03/2011	18	S	24	S	10	R	35	S	26	S	31	S	28	S	35	S	11	R	17	R	34	S	35	S	20	I	28	S
K. pneumoniae	25/05/2011	11	R	23	S	11	R	30	S	22	S	26	S	28	S	30	S	21	S	12	R	32	S	33	S	24	S	27	S
K. pneumoniae	02/09/2011	9	R	21	S	22	S	30	S	22	S	27	S	28	S	32	S	9	R	13	R	32	S	32	S	26	S	29	S
K. pneumoniae	11/10/2011	12	R	24	S	12	R	31	S	23	S	27	S	29	S	31	S	20	S	15	R	31	S	32	S	23	S	27	S
K. pneumoniae	07/12/2011	21	S	25	S	10	R	34	S	23	S	25	S	25	S	33	S	8	R	0	R	31	S	35	S	22	I	25	S
K. pneumoniae	18/01/2012	14	I	20	S	20	S	32	S	21	S	26	S	26	S	31	S	25	S	24	S	30	S	31	S	24	S	27	S
K. pneumoniae	23/05/2012	12	R	23	S	9	R	29	S	20	S	26	S	23	S	32	S	9	R	0	R	30	S	35	S	21	I	27	S
K. pneumoniae	23/05/2012	12	R	21	S	11	R	29	S	20	S	29	S	24	S	30	S	0	R	0	R	26	S	36	S	22	I	27	S
K. pneumoniae	18/07/2012	17	S	23	S	9	R	29	S	22	S	26	S	28	S	30	S	10	R	13	R	32	S	36	S	21	I	30	S
K. pneumoniae	24/10/2012	20	S	26	S	18	S	30	S	24	S	24	S	27	S	36	S	15	I	16	R	30	S	35	S	21	I	30	S
K. pneumoniae	07/11/2012	24	S	24	S	19	S	33	S	23	S	28	S	26	S	22	S	16	I	19	R	31	S	32	S	22	I	20	I
K. pneumoniae	21/11/2012	12	R	22	S	24	S	31	S	24	S	27	S	27	S	33	S	27	S	25	S	32	S	34	S	28	S	29	S
K. pneumoniae	19/12/2012	7	R	22	S	24	S	35	S	24	S	26	S	29	S	35	S	26	S	26	S	32	S	30	S	24	S	26	S
K. pneumoniae	02/01/2013	14	I	23	S	23	S	30	S	22	S	29	S	27	S	28	S	25	S	24	S	30	S	30	S	23	S	25	S

K. pneumoniae	16/01/2013	11	R	20	S	22	S	24	S	20	S	23	S	24	S	27	S	24	S	23	S	27	S	27	S	24	S	25	S
K. pneumoniae	30/01/2013	20	S	20	S	27	S	19	I	23	S	23	S	25	S	26	S	25	S	22	S	28	S	27	S	22	I	23	S
P. mirabilis	04/07/2012	26	S	20	S	25	S	30	S	22	S	29	S	28	S	30	S	24	S	21	I	31	S	36	S	21	I	25	S
P. mirabilis	16/01/2013	24	S	21	S	23	S	31	S	21	S	0	R	26	S	25	S	17	I	17	R	30	S	21	S	20	I	24	S
P. mirabilis	16/01/2013	23	S	22	S	26	S	30	S	24	S	29	S	27	S	32	S	23	S	20	I	35	S	38	S	25	S	28	S
P. vulgaris	04/07/2012	0	R	25	S	25	S	36	S	24	S	35	S	31	S	31	S	20	S	0	R	30	S	39	S	23	S	30	S
P. vulgaris	18/07/2012	0	R	23	S	19	S	30	S	21	S	30	S	25	S	30	S	24	S	0	R	26	S	40	S	18	R	29	S
P.mirabilis	08/06/2011	22	S	25	S	23	S	29	S	25	S	31	S	27	S	31	S	26	S	25	S	30	S	30	S	28	S	31	S
Providencia sp	24/10/2012	20	S	20	S	12	R	30	S	14	I	25	S	24	S	26	S	22	S	0	R	28	S	35	S	10	R	28	S
Salmonella sp	04/07/2012	25	S	25	S	29	S	38	S	25	S	33	S	31	S	30	S	25	S	10	R	35	S	34	S	22	I	32	S
Controle	E.coli 25922	21	S	22	S	23	S	32	S	22	S	28	S	23	S	30	S	30	S	29	S	30	S	34	S	26	S	30	S

AMP- Ampicilina; AMI – Amicacina; AMC – Amoxicilina+ácido clavulânico; GEN – Gentamicina; SUT – Sulfametoxazol-trimetoprim; CAZ – Ceftazidima; CPM – Cefepime; CFO – Cefoxitina; CFZ – Cefazolina; CTX – Cefotaxima; CIP – Cipfrofloxacina; IMP – Imipenem; MER – Meropenem

APÊNDICE K – DIÂMETROS DOS HALOS DE INIBIÇÃO E PERFIL DE RESISTÊNCIA DOS ENTEROCOCOS DO LIXIVIADO DA CÉLULA RSD.

R – RESISTENTE S – SENSÍVEL

	AMP		GEN (120MG)		ESTR (300MG)		CIP		TEC		VAN	
22/12/10	22	S	31	S	28	S	29	S	24	S	20	S
05/01/11	21	S	32	S	28	S	30	S	23	S	22	S
19/01/11	19	S	35	S	28	S	30	S	24	S	21	S
02/02/11	0	R	39	S	26	S	44	S	21	S	21	S
16/02/11	27	S	33	S	28	S	30	S	22	S	22	S
02/03/11	27	S	35	S	27	S	28	S	23	S	17	S
30/03/11	10	R	39	S	24	S	29	S	21	S	19	S
14/04/11	20	S	35	S	28	S	30	S	24	S	20	S
11/05/11	23	S	35	S	23	S	27	S	26	S	21	S
25/05/11	22	S	40	S	28	S	26	S	24	S	23	S
08/06/11	27	S	35	S	27	S	30	S	27	S	23	S
29/06/11	22	S	38	S	28	S	27	S	24	S	23	S
21/07/11	27	S	35	S	26	S	30	S	23	S	20	S
03/08/11	27	S	35	S	28	S	29	S	24	S	23	S
17/08/11	26	S	37		29				22		19	
29/09/11	27	S	35	S	28	S	31	S	24	S	23	S

11/10/11	25	S	35	S	21	S	32	S	21	S	18	S
10/11/11	27	S	37	S	24	S	35	S	24	S	23	S
05/01/12	9	R	35	S	23	S	30	S	20	S	17	S
03/02/12	27	S	35	S	28	S	33	S	22	S	20	S
14/03/12	21	S	33	S	25	S	30	S	23	S	22	S
11/04/12	27	S	35	S	26	S	32	S	24	S	20	S
07/05/12	18	S	35	S	28	S	30	S	24	S	23	S
20/06/12	27	S	34	S	26	S	30	S	25	S	21	S
18/07/12	19	S	35	S	27	S	32	S	24	S	22	S
01/08/12	27	S	38	S	24	S	36	S	27	S	17	S
12/09/12	23	S	35	S	29	S	30	S	21	S	23	S
24/10/12	22	S	40	S	28	S	35	S	21	S	18	S
07/11/12	23	S	39	S	21	S	37	S	20	S	23	S
05/12/12	21	S	38	S	28	S	30	S	24	S	20	S
30/01/13	19	S	36	S	24	S	38	S	22	S	21	S
20/02/13	27	S	35	S	28	S	30	S	19	S	19	S

AMP – Ampicilina; GEN 120 – Gentamicina 120µg; ESTR 300 – Estreptomicina 300µg; CIP – Ciprofloxacina; TEC – Teicoplamina; VAN – Vancomicina

APÊNDICE L – DIÂMETROS DOS HALOS DE INIBIÇÃO E PERFIL DE RESISTÊNCIA DOS ENTEROCOCOS DO LIXIVIADO DA CÉLULA RSS.

R – RESISTENTE S – SENSÍVEL

	AMP		GEN (120MG)		ESTR (300MG)		CIP		TEC		VAN	
22/12/10	18	S	34	S	24	S	36	S	27	S	17	S
05/01/11	20	S	35	S	27	S	30	S	27	S	23	S
02/02/11	23	S	36	S	28	S	30	S	24	S	23	S
16/03/11	27	S	35	S	27	S	32	S	24	S	22	S
14/04/11	21	S	34	S	25	S	30	S	25	S	21	S
27/04/11	19	S	38	S	26	S	32	S	24	S	20	S
25/05/11	19	S	40	S	28	S	35	S	21	S	18	S
08/06/11	21	S	37	S	26	S	32	S	24	S	22	S
17/08/11	10	R	40	S	28	S	26	S	24	S	23	S
31/08/11	27	S	38	S	29	S	30	S	21	S	23	S
15/09/11	27	S	34	S	21	S	32	S	21	S	18	S
29/09/11	18	S	36	S	24	S	36	S	27	S	17	S
11/10/11	23	S	38	S	28	S	29	S	24	S	23	S
25/04/12	25	S	37	S	23	S	27	S	26	S	21	S
20/06/12	22	S	33	S	28	S	31	S	24	S	23	S
18/07/12	22	S	37	S	29	S			22		19	
15/08/12	26	S	37	S	24	S	35	S	24	S	23	S
29/08/12	22	S	33	S	23	S	30	S	23	S	20	S
12/09/12	25	S	32	S	25	S	30	S	24	S	20	S
26/09/12	26	S	32	S	23	S	30	S	20	S	17	S
07/10/12	21	S	33	S	28	S	30	S	22	S	22	S
24/10/12	21	S	34	S	24	S	30	S	25	S	21	S

07/11/12	24	S	33	S	25	S	30	S	23	S	22	S
21/11/12	19	S	35	S	27	S	28	S	23	S	17	S
05/12/12	25	S	30	S	28	S	33	S	22	S	20	S
19/12/13	0	R	39	S	24	S	29	S	21	S	19	S
02/01/13	23	S	38	S	28	S	27	S	24	S	23	S
30/01/13	22	S	39	S	26	S	44		21	S	21	S

AMP – Ampicilina; GEN 120 – Gentamicina 120µg; ESTR 300 – Estreptomicina 300µg; CIP – Ciprofloxacina; TEC – Teicoplamina; VAN – Vancomicina

APÊNDICE M – DIÂMETROS DOS HALOS DE INIBIÇÃO E PERFIL DE RESISTÊNCIA DOS ENTEROCOCOS DO LIXIVIADO DA CÉLULA COD.

R – RESISTENTE S – SENSÍVEL

	AMP		GEN (120MG)		ESTR (300MG)		CIP		TEC		VAN	
16/02/11	27	S	37	S	24	S	35	S	24	S	23	s
02/03/11	22	S	40	S	28	S	35	S	21	S	18	s
16/03/11	19	S	36	S	24	S	38	S	22	S	21	s
30/03/11	19	S	35	S	27	S	32	S	24	S	22	s
14/04/11	27	S	35	S	27	S	30	S	27	S	23	s
27/04/11	27	S	35	S	28	S	30	S	19	S	19	s
11/05/11	11	R	35	S	28	S	30	S	24	S	23	s
08/06/11	27	S	34	S	26	S	30	S	25	S	21	s
29/06/11	22	S	37	S	28	S	27	S	24	S	19	s
06/07/11	25	S	35	S	21	S	32	S	21	S	18	s
21/07/11	10	R	39	S	24	S	29	S	21	S	18	s
03/08/11	0	R	39	S	26		44		21	S	21	s
31/08/11	27	S	35	S	28	S	30	S	24	S	20	s
15/09/11	23	S	35	S	29	S	30	S	21	S	23	s
11/10/11	21	S	38	S	28	S	30	S	24	S	20	s
26/10/11	26	S	37	S	29		31	S	22	S	19	S
10/11/11	27	S	33	S	26	S	30	S	22	S	22	s
05/01/12	20	S	35	S	28	S	30	S	24	S	20	s
14/02/12	22	S	31	S	28	S	29	S	24	S	20	s

14/03/12	27	S	35	S	27	S	28	S	23	S	18	s
28/03/12	27	S	34	S	28	S	30	S	24	S	23	s
25/04/12	23	S	39	S	21	S	37	S	20	S	23	s
23/05/12	18	S	35	S	21	S	30	S	24	S	23	s
03/07/12	22	S	40	S	28	S	26	S	21	S	21	s
18/07/12	27	S	35	S	25	S	30	S	24	S	23	s
15/08/12	27	S	35	S	28	S	31	S	24	S	23	s
29/08/12	9	R	35	S	23	S	30	S	20	S	17	s
12/09/12	27	S	36	S	28	S	30	S	24	S	23	s
07/10/12	27	S	35	S	30	S	30	S	22	S	23	s
07/11/12	0	R	32	S	23	S	27	S	26	S	21	s
21/11/12	19	S	34	S	28	S	30	S	24	S	21	s
05/12/12	21	S	37	S	25	S	30	S	23	S	22	s
19/12/13	27	S	38	S	24	S	36	S	27	S	17	s
02/01/13	26	S	34	S	26	S	30	S	23	S	20	s
16/01/13	22	S	32	S	28	S	30	S	23	S	22	s
20/02/13	27	S	35	S	28	S	29	S	24	S	23	s

AMP – Ampicilina; GEN 120 – Gentamicina 120µg; ESTR 300 – Estreptomicina 300µg; CIP – Ciprofloxacina; TEC – Teicoplamina; VAN – Vancomicina

APÊNDICE N. RESULTADO DO TESTE DE FISHER – PROBABILIDADE DAS DIFERENÇAS DOS TIPOS DE CÉLULAS POR ESTIRPES BACTERIANAS SEGUNDO O PADRÃO DE SUSCEPTIBILIDADE AOS ANTIMICROBIANOS

Estirpes	Células	Antimicrobianos													
		AMP	AMI	AMC	ATM	GEN	SUT	CAZ	CPM	CFO	CFZ	CTX	CIP	IMP	MER
E. coli	RSD-RSS	100	100	18,4	100	100	49,5	100	100	100	100	24,3	100	100	100
	RSD-COD	**8,1**	100	63,6	100	100	100	100	100	19,6	**4,4**	100	100	19,6	100
	RSD-COD	27,7	100	**5,1**	100	100	51,1	100	100	14,4	**1,4**	26,7	100	54,7	100
Enterobacter sp	RSD-RSS	**0,9**	100	10,6	100	100	100	100	100	53,3	27,7	**9,7**	100	**0**	32,3
	RSD-COD	**7,1**	100	71,9	100	100	36,4	**0,5**	100	**4,4**	63	100	100	**0,1**	36,4
	RSS-COD	59,4	100	32,3	100	100	100	**7,4**	100	**1,5**	100	19,5	100	32,3	100
K. pneumoniae* e *K. oxytoca	RSD-RSS	14,2	100	74,8	20,6	100	100	**1,1**	100	**2,4**	16,8	**0,2**	100	73	57
	RSD-COD	15,2	100	76,7	18,7	100	23,3	**4,5**	100	100	53,1	**0,1**	100	20,4	59,8
	RSS-COD	100	100	100	100	100	**8,8**	100	100	**8,2**	46,2	100	100	50,8	100
***P. mirabilis* e P. vulgaris**	RSD-RSS	16,2	100	58,4	51,5	100	100	51,5	51,5	60	**2,8**	23,7	100	10,2	100
	RSD-COD	16,2	100	51,5	51,5	100	35,3	51,5	51,5	100	100	23,7	100	100	100
	RSS-COD	100	100	45,5	100	100	100	100	100	54,5	24,2	100	100	18,2	100
Outros	RSD-RSS	28,6	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
	RSD-COD	55,9	100	55,9	100	100	100	100	100	26,6	100	100	100	100	100
	RSS-COD	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

APÊNDICE O – MEIOS DE CULTURA

CALDO TETRATIONATO DE KAUFFMAN: É usado como meio de enriquecimento seletivo para isolar *Salmonella* de fezes, urina e outros materiais de interesses sanitários.

Fórmula:

Mistura de peptona	5,0 g
Sais biliares	1,0 g
Carbonato de cálcio	10,0 g
Tiossulfato de sódio	30,0 g
H_2O	1000mL

Preparação: Dissolver 46g de pó em um litro de água destilada. Aquecer até fervura e distribuir. Adicionar 20mL de solução iodo-iodetada para cada litro de meio no momento do uso.

CALDO MANITOL-SALGADO**:** É usado como meio de enriquecimento seletivo para *Staphylococcus.*

Fórmula:

Triptona	10,0g
Extrato de levedura	2,5g
Lactose	2,0g
Manitol	10,0g
K_2HPO_4	5,0g
NaCl	75,0g
NaN_3	0,049g
H_2O	1000mL

Preparação: Dissolver todos os componentes em um litro de água destilada. Aquecer até fervura e ajustar o Ph para 7,0 +- 0,2. Esterilizar em autoclave a 121°C por 10 minutos.

ÁGAR *Salmonella-Shigella* (SS): Meio de cultura para isolamento e identificação de bacilos entéricos, em especial *Salmonella* e *Shigella* de fezes, alimentos e outros espécimes clínicos.

Fórmula:

Extrato de carne	5,0g
Peptona de carne	5,0g
Lactose	10,0g
Sais biliares	8,5g
Citrato de sódio	8,5g
Tiossulfato de sódio	8,5g
Citrato férrico	1,0g
Verde brilhante	0,00033g
Vermelho neutro	0,025g
Ágar bacteriológico	15,0g
H_2O	1000mL

Preparação: Suspender 61,5g em 1000mL de água destilada. Misturar até que uma suspensão uniforme seja obtida. Aquecer com 193requente agitação até diluição completa. Não esterilizar em autoclave. Ajustar o Ph a 25°C para 7,0 +- 0,2. Verter para placas de Petri esterilizadas.

ÁGAR EOSINA-AZUL DE METILENO: É utilizado com base para detecção de coliformes e outros bacilos entéricos.

Fórmula:

Peptona de carne	10,0g
Lactose	5,0g
Fosfato dipotássico	2,0g
Eosina Y	0,4g
Azul de metiloleno	0,065g
Sacarose	5,0g
Ágar-ágar	15,0g
H_2O	1000mL

Preparação: Suspender 37,5g em um litro de água destilada. Misturar até que uma suspensão uniforme seja obtida. Aquecer em constante agitação até a dissolução completa. Esterilizar em autoclave a 121°C por 15 minutos. Verter para placas de Petri esterelizada.

ÁGAR SALGADO MANITOL-OVO: É utilizado para isolamento de *Staphylococcus aureus.*

Fórmula:

Extrato de carne	1,0g
Peptona bacteriológica	10,0g
NaCl	75,0g
d-manitol	10,0g
Agar	15,0g
Vermelho de fenol	0,025g
Gema de ovo (caipira)	20,0g
H_2O	1000mL

Preparação: Dissolver todos os componentes em um litro de água destilada. Aquecer até fervura. Ajustar o pH para 7,4 +- 0,2. Esterilizar em autoclave a 121°C durante 10 minutos.

REATIVO PARA INDOL (KOVACS): É utilizado para reação de indol.

Fórmula:

p-Dimetilaminobenzaldeído	1,0g
Ácido ortofosfórico	20,0mL
Álcool etílico absoluto	50,0mL
Água destilada q.s.p	100,0mL

Preparo: Pesar o p-Dimetilaminobenzaldeído, colocar em um balão volumétrico e homogeneizar. Adicionar o ácido ortofosfórico a 50mL de água destilada e juntar ao p-Dimetilaminobenzaldeído dissolvido em álcool. Completar o volume com água destilada. Homogeneizar e armazenar em vidro com tampa esmerilhada ou de rosca, sob-refrigeração (2 a 8°C) durante o período máximo de quatro semanas.

ÁGAR SIM: Verificação de motilidade, indol e produção de H_2S

Fórmula:

Peptona de caseína	20,0g
Peptona de carne	6,6g
Citrato férrico amuniacal	0,2g
Tiossulfato de sódio	0,2g
Ágar-ágar	3,0g
H_2O	1000 Ml

Preparo: Suspender 30 gramas em 1000 ml de água destilada. Misturar até que uma suspensão uniforme seja obtida. Aquecer com 195requente agitação até dissolução completa. Distribuir em tubos e esterilizar em autoclave por 15 minutos a 121°. Ajustar o Ph para 7,3 +-0,1 a 37°C.

ÁGAR LISINA: Verificação da descarboxilação de L-lisina

Fórmula:

Peptona de carne	5,0g
Extrato de levedura	3,0g
D-glicose	1,0g
L-lisina	10,0g
Tiossulfato de sódio	0,04g
Citrato férrico amuniacal	0,5g
Ágar-ágar	12,5g
Púrpura de Bromocresol	0,02g
H_2O	1000mL

Preparo: Suspender 32 gramas em 1000 mL de água destilada. Misturar até que uma suspensão uniforme seja obtida. Aquecer com 196requente agitação até dissolução completa. Distribuir em tubos e esterilizar em autoclave por 15 minutos a 121°. Ajustar o pH para 6,7 +- 0,1 a 37°C.

ÁGAR FENILALANINA: Verificação da desaminação da fenilanina

Fórmula:

L-fenilalanina	2,0g
Extrato de levedura	3,0g
Cloreto de sódio	5,0g
Fosfato de dissódico	1,0g
Ágar bacteriológico	15,0g
H_2O	1000mL

Preparo: Suspender 26 gramas em 1000 ml de água destilada. Misturar até que uma suspensão uniforme seja obtida. Aquecer com 196requente agitação até dissolução completa. Distribuir

em tubos e esterilizar em autoclave por 15 minutos a 121°. Ajustar o pH para 7,3 +- 0,2 a 25°C.

ÁGAR CITRATO: Verificação da utilização do citrato como única forma de carbono

Fórmula:

Sulfato de magnésio	0,2g
Fosfato monoamônico	1,0g
Fosfato dipotássico	1,0g
Citrato de sódio	2,0g
Cloreto de sódio	5,0g
Azul de bromotimol	0,08g
Ágar bacteriológico	15,0g
H_2O	1000mL

Preparo: Suspender 24,3 gramas em 1000 ml de água destilada. Misturar até que uma suspensão uniforme seja obtida. Aquecer com 197requente agitação até dissolução completa. Distribuir em tubos e esterilizar em autoclave por 15 minutos a 121°. Ajustar o Ph para 6,8 +- 0,2 a 25°C.

ÁGAR TRÊS AÇÚCARES E FERRO: Verificação da fermentação dos açúcares com produção de gás

Fórmula:

Extrato de carne	3,0g
Extrato de levedura	3,0g
Peptona	15,0g
Proteose peptona	5,0g
Cloreto de sódio	5,0g
Lactose	10,0g
Sacarose	10,0g
Dextrose	1,0g
Sulfato ferroso	0,2g
Tiossulfato de sódio	0,3g
Vermelho de fenol	0,024g
Ágar bacteriológico	15,0g
H_2O	1000 mL

Preparo: Suspender 67,5 gramas em 1000 ml de água destilada. Misturar até que uma suspensão uniforme seja obtida. Aquecer com 198requente agitação até dissolução completa. Distribuir em tubos e esterilizar em autoclave por 15 minutos a 121°. Ajustar o pH para 7,4 +- 0,2 a 25°C.

CALDO LAURIL TRIPTOSE (SULFATO): Meio de cultura seletivo para isolamento e enriquecimento de coliformes.

Fórmula:

Triptose	20,0g
Lactose	5,0g
Fosfato dipotássio	2,75g
Fosfato monopotássio	2,75g
Cloreto de sódio	5,0g
Lauril sulfato de sódio	0,1g
H_2O	1000mL
PH a 25ºC	6,8 +/- 0,2

Preparo: Suspender 35,6 gramas em 1000 ml de água destilada. Misturar até que uma suspensão uniforme seja obtida. Aquecer com 199requente agitação até dissolução completa. Distribuir em tubos e esterilizar em autoclave por 15 minutos a 121°. Ajustar o Ph para 7,4 +- 0,2 a 25°C.

CALDO DEXTROSE AZIDA**:** Meio de cultura para detecção presuntiva de Enterococos.

Fórmula:

Extrato de carne	4,5g
Peptona de caseína	15,0g
Glicose	7,5g
Cloreto de sódio	7,5g
Azida sódica	0,2g
H_2O	1000mL
PH a 25ºC	7,2 +/- 0,2

Preparo: Suspender 34,7 gramas em 1000mL de água destilada. Misturar até que uma suspensão uniforme seja obtida. Aquecer com agitação até dissolução completa. Distribuir em tubos e esterilizar em autoclave por 15 minutos a 121°. Ajustar o pH para 7,4 +- 0,2 a 25°C.

CALDO CHROMOCULT**:** Meio cromogênico para confirmação da presença de *Enterococus* sp.

Fórmula:

Proteose peptona	8,6
Cloreto de sódio	6,4
5-bromo-4-cloro-3-indolil-ß-D-glicopiranosídio (X-GLU)	0,04
Azida sódica	0,6
Tween 80	2,2
H_2O	1000mL
PH a 25ºC	7,5+/- 0,2

Preparo: Suspender 18 g (concentração simples) ou 36 g (dupla-concentração) em 1 litro de água desmineralizada, dispensar em frascos adequados e autoclavar (15 min a 121 °C).

CALDO LMX: Meio diferencial para confirmação da presença de *E. coli.*

Fórmula:

Triptose	5,0g
Cloreto de sódio	5,0g
Sorbitol	1,0g
Triptofano	1,0g
Fosfato de hidrogênio di-potássio	2,7g
Lauril-sulfato	0,1g
5-bromo-4-cloro-3-indol-ß-D-galactopiranosideo (X-GAL)	0,08g
4-metilumbeliferil-ß-D-glucoronido (MUG)	0,05g
1-isopropil-ß-D-1-tiogalactopiranosido	0,1g
H_2O	1000mL

Preparo: Suspender 17 gramas em 1000 ml de água destilada. Misturar até que uma suspensão uniforme seja obtida. Aquecer com 201requente agitação até dissolução completa. Distribuir em tubos e esterilizar em autoclave por 15 minutos a 121°. Ajustar o pH para 7,4 +- 0,2 a 25°C.

APÊNDICE P - SOLUÇÕES E TAMPÕES

ÁGUA DE DILUIÇÃO: É utilizada para diluição das amostras.

Solução-estoque A 1,25mL

Solução-estoque B 5,00mL

Água destilada 1000,00mL

Preparar uma solução-estoque A com a seguinte composição:

Fosfato de potássio monobásico (KH_2PO_4) 34,0g

Água destilada q.s.p 1000,00mL

Preparar uma solução-estoque B com a seguinte composição:

Cloreto de Magnésio ($Mg\ Cl_2\ 6H_2O$) 8,11g

Água destilada 100ml

Misturar as soluções A e B e distribuir 90ml em frascos com tampa.

TAMPÃO TBE 1X

Trisma base (Hidroximetil amino metano)	89 mM
EDTA (etileno diamino tetra acetado)	2,5 mM
H3BO3 (Ácido bórico)	89 mM

TAMPÃO TAE 50X

Trisma base	2 M
Ácido acético glacial	1 M
EDTA	50 mM

- As soluções foram autoclavadas por 20 minutos a 1210C e 1 atm, e estocadas à temperatura ambiente.

CORANTE PARA ELETROFORESE DE DNA

Glicerol	50% (v/v)
EDTA pH 7.5	20mM

Azul de Bromofenol	0,05% (p/v)
Xileno Cianol	0,05% (p/v)

CORANTE "DCODE" PARA VISUALIZAÇÃO DO GRADIENTE

Azul de Bromofenol	0,05g
Xileno Cianol	0,05g
Solução TAE 1X	10 mL

SOLUÇÃO DE ACRILAMIDA 40%

Acrilamida	38,93g
Bis-acrilamida	1,07g
Água bisdestilada q.s.p	100mL

SOLUÇÃO 0% DESNATURANTE (GEL 6% DE ACRILAMIDA)

Solução de acrilamida 40%	15 mL
Tampão TAE 50X	2 mL
Água bidestilada q.s.p	100 mL

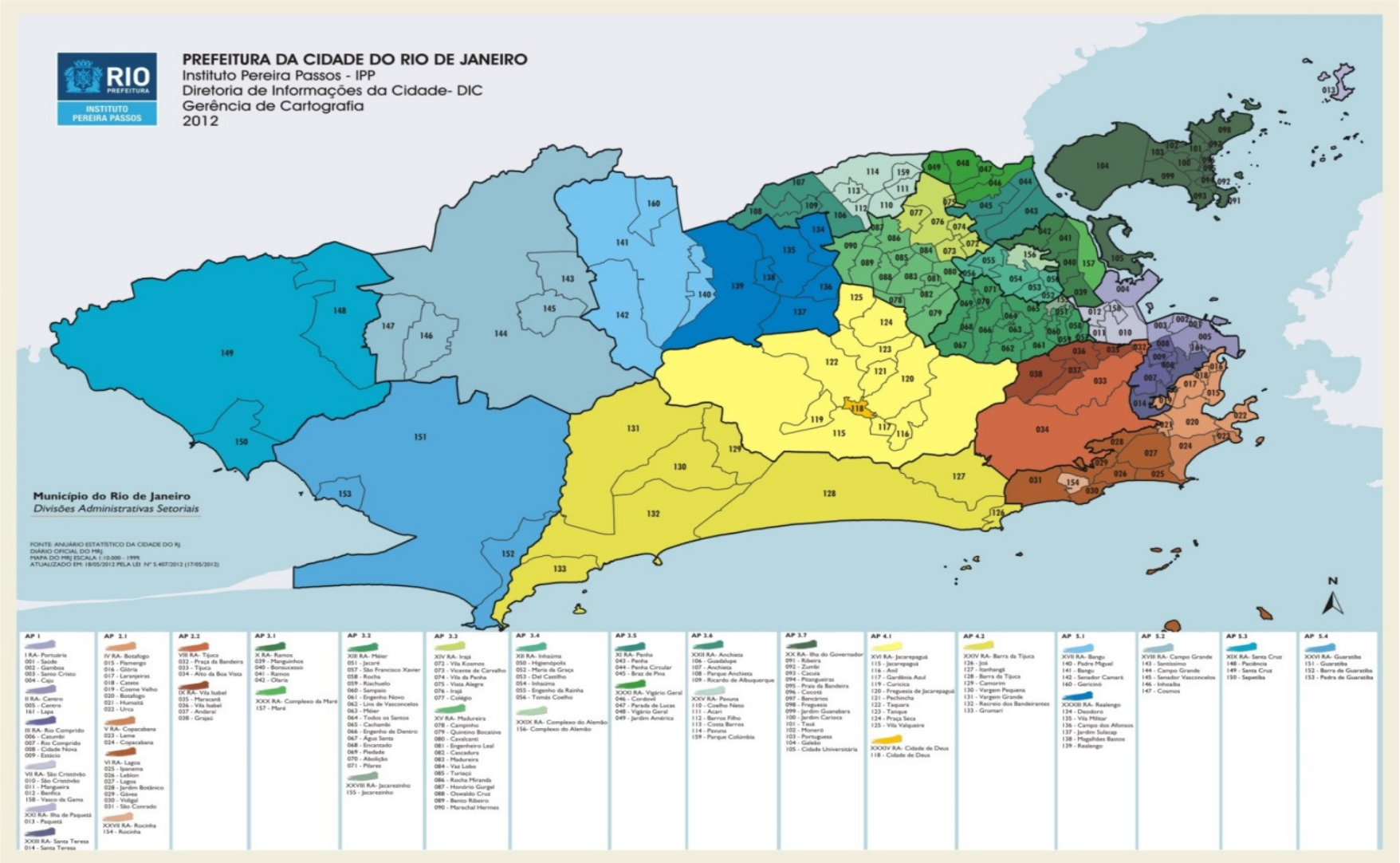
SOLUÇÃO 70% DESNATURANTE (GEL 6% DE ACRILAMIDA)

Solução de acrilamida 40%	15 mL
Tampão TAE 50X	2 mL
Formamida deionizada	28 mL
Uréia	29,4 g
Água bisdestilada q.s.p	100 ml

- as soluções contendo acrilamida foram filtradas em membrana Whatman 0,45 µm e estocadas a 40C envoltas em papel laminado ou frasco âmbar.

FORMAMIDA DEIONIZADA

Resina AG 501-X8 (BioRad Laboratories, UK)	5 g
Formamida	100 mL

ANEXO

ANEXO A– ÁREAS DE PLANEJAMENTO DA CIDADE DO RIO DE JANEIRO, SEGUNDO O INSTITUTO PEREIRA PASSOS (IPP).