

AValiação DA DISPERSÃO DE *Staphylococcus aureus* PARA A ATMOSFERA, POR MEIO DE LAGOA DE OXIDAÇÃO DO IFGOIANO – CAMPUS URUTAI-GO

Luciana Cristina Vitorino¹; Kerly Cristina Pereira²

¹Mestranda, bolsista FAPEG - Instituto Federal Goiano – *campus* Rio Verde
(lu.vitorino@hotmail.com);

²Ms. Instituto Federal Goiano – *campus* Urutaí. Goiás. Brasil
(kerlycp2000@hotmail.com)

Data de recebimento: 02/05/2011 - Data de aprovação: 31/05/2011

RESUMO

As lagoas de estabilização foram projetadas no sentido de constituírem sistemas adequados ao tratamento de resíduos domésticos, contudo, se não forem devidamente monitoradas, podem tornar-se fontes potenciais para a dispersão de micro-organismos patogênicos, tais como *Staphylococcus aureus* para a atmosfera. *S. aureus* é um patógeno de periculosidade moderada, contudo, muitas cepas da espécie têm apresentado resistência a uma grande variedade de antibióticos. Objetivou-se com este trabalho, testar a potencialidade de uma lagoa de estabilização para a dispersão de *S. aureus* para atmosfera local. O método utilizado foi o de sedimentação em placa, seguido de confirmação das colônias em Coagulase Plasma-EDTA, o que comprovou a disseminação desse patógeno para as correntes aéreas próximas à lagoa.

PALAVRAS-CHAVE: lagoa de estabilização, unidades formadoras de colônias, contaminação atmosférica.

EVALUATION OF THE DISPERSION OF *Staphylococcus aureus* TO THE ATMOSPHERE, THROUGH OXIDATION LAGOON FROM “IFGOIANO – CAMPUS URUTAI-GO”

ABSTRACT

The stabilization lagoons were designed to constitute adequate systems to the treatment of domestic residual, however, if they are not properly monitored, they can turn in potential sources to the spread of pathogenic micro-organisms, like *Staphylococcus aureus* to the atmosphere. *S. aureus* is a pathogen of moderate dangerousness, however, several strains of the specie have showed resistance to a high variety of antibiotics. The aim of this work was to test the potentiality of a stabilization lagoon to the dispersion of *S. aureus* to the local atmosphere. The method used was subsidence in plaque, followed by confirmation of the colonies in “Coagulase Plasma- EDTA”, what testified the spread of this pathogen to the air streams near the lagoon.

KEYWORDS: stabilization lagoon, colony units of formation, atmospheric contamination.

INTRODUÇÃO

As lagoas de estabilização são sistemas naturais de tratamento de esgotos domésticos que vêm sendo empregadas em todas as regiões do país. Nesses sistemas o tratamento ocorre mediante fenômenos bioquímicos, biológicos e físico-químicos regulados por uma ampla diversidade de organismos, os quais são responsáveis pela reciclagem da matéria orgânica e dos nutrientes. A lagoa de estabilização do IFGoiano-*campus* Urutaí é do tipo facultativa. Estas têm por característica o fato de a detenção hidráulica ocorrer por períodos prolongados e a profundidade ser relativamente reduzida estabelecendo três zonas: anaeróbia (lodo sedimentado), facultativa e aeróbia (ALVES, 2004).

Nesse tipo de lagoa, os processos de oxidação bacteriana convertem o material orgânico a dióxido de carbono, amônia e fosfatos, sendo as *Pseudomonas sp*, *Flavobacterium sp* e *Alcaligenes sp*, as principais bactérias envolvidas (KÖNING, 1990). Contudo, há o risco de outras bactérias, de caráter patogênico, tais como *Staphylococcus aureus*, desenvolverem-se nessas lagoas, conforme detectado por MARTINS (2005) que retratou a proliferação de *Aeromonas sp* em águas de superfície como efeito da emissão dos efluentes domésticos.

Staphylococcus aureus provoca patogenias de perigo moderado, usualmente de curta duração e sem ameaça de morte ou seqüelas, com sintomas auto limitados, que causam severo desconforto (SILVA et al., 2007). Sendo, porém, associado a doenças graves adquiridas na comunidade nosocomial (EMORI, 1993; STAINBERG, 1996). Síndromes clínicas associadas com os quadros severos incluem bacteremia, pneumonia, endocardite, artrite séptica, osteomielite e formação de abscessos profundos (ENRIGHT, 2000).

As doenças provocadas por *S. aureus* vão desde problemas intestinais a afecções respiratórias. Cepas de *S. aureus* resistentes a metilicina se tornaram um problema clínico grave nos hospitais durante os anos 60 na Europa e 70 nos EUA e em outros lugares (PANLILIO et al., 1992; SPELLER et al., 1997; GRUBB, 1998). E já se tem observado uma diminuição da sensibilidade de *S. aureus*, tanto a vancomicina quanto a teicoplanina. O que tem aumentado ainda mais a preocupação com o surgimento de amostras de *S. aureus* resistentes aos glicopeptídeos (DAUM et al., 1992), bem como com a dispersão de cepas desse micro-organismo por fontes domiciliares ou ambientais, visto que muitos outros micro-organismos patogênicos têm sido detectados em amostras de esgotos sanitários, tais como *Escherichia coli* (LEE et al., 2006), *Salmonella spp*, *Shigella spp*, *Vibrio cholerae* (PANT e MITTAL, 2007), etc..

Objetivou-se com este trabalho medir o nível de contaminação por *S. aureus* na atmosfera circundante da lagoa de estabilização localizada na área do IFGoiano-*campus* Urutaí, no sentido de avaliar se esta contribui, ou não para aumentar os níveis dessa bactéria na atmosfera local.

MATERIAIS E MÉTODOS

Meio de cultivo e coleta das amostras

As amostras foram cultivadas em meio BD (Agar Baird-Parker) moderadamente seletivo, enriquecido com gema de ovo e acrescido de solução 1% de Telurito de potássio. Este foi autoclavado a 121°C por 15 minutos e vertido, sob capela de fluxo laminar, em placas de Petri (90mmx15mm) previamente

esterilizadas. As placas foram conduzidas assepticamente até a proximidade da lagoa. Suportes de madeira com 40cm de altura foram dispostos radialmente no entorno da lagoa servindo à deposição das placas, após serem devidamente esterilizados com álcool 70% (Figura 1). O método utilizado para a coleta das amostras foi o de sedimentação em placa. Sobre os suportes de madeira as placas contendo o meio de cultivo foram abertas assim permanecendo por 15 minutos, tempo necessário para que as bactérias se sedimentassem. Foram colocadas 03 placas por suporte, cada uma correspondendo a uma repetição, o que totalizou 120 placas. Transcorridos os 15 minutos, as placas foram então fechadas, lacradas com filme de PVC e levadas às instalações do laboratório de Microbiologia do IFGoiano-*campus* Urutaí, onde foram incubadas invertidas, em estufa de crescimento à 37°C por 48 horas.

As coletas foram realizadas no período da manhã, sob condições amenas de vento, temperatura de 28°C e Umidade relativa de 30%.

Contagem das Unidades Formadoras de Colônias (UFC)

A contagem das colônias típicas de *S. aureus* tomou por base, o fato de estas serem circulares, pretas ou cinza escuras, com 1,5-3,0 mm de diâmetro, lisas, convexas, com bordas perfeitas, podendo haver massa de células esbranquiçada nas bordas, ou estar rodeada por uma zona opaca e/ou um halo transparente se estendendo para além da zona opaca (SILVA et al, 2007).

Teste de Confirmação das Colônias

Colônias típicas, bem como colônias suspeitas foram selecionadas nas placas contendo o meio de crescimento (BP) e transferidas via alça bacteriológica para tubos de Caldo Infusão Cérebro-Coração (BHI). Este preparado foi submetido à temperatura de 37°C em estufa de crescimento por 24 horas. Só então foi possível realizar o teste de confirmação para as referidas colônias.

Para este teste, 0,2mL de cada cultura obtida em BHI, foram transferidos para tubos estéreis de 10x100mm, adicionando-se 0,5 mL de Coagulase Plasma-EDTA (plasma de coelho com EDTA). O conteúdo dos tubos foi misturado com movimentos de rotação, sem agito, para não interferir na coagulação. Esses tubos foram incubados a 37°C em banho-maria e observados periodicamente durante 6 horas.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, utilizando-se fatorial 10 X 4 (10 posições no entorno da lagoa X 4 raios). Os quatro raios de distância da lagoa amostrados foram respectivamente 0,5; 1; 5 e 10m (Figura 1 e 2).

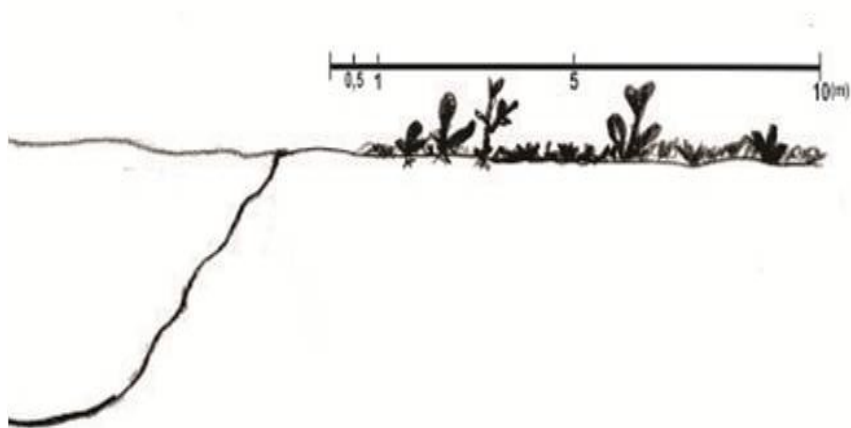


FIGURA 1 – Esquema da margem da lagoa demonstrando os raios de distância utilizados para coleta das amostras.

As amostras foram analisadas em triplicata, totalizando 120 unidades amostrais. A confirmação das colônias foi feita em uma amostra por triplicata. Os dados foram avaliados estatisticamente, sendo as médias comparadas pelo teste de TUKEY a 5% de probabilidade, com o auxílio do software SISVAR (FERREIRA, 2003).

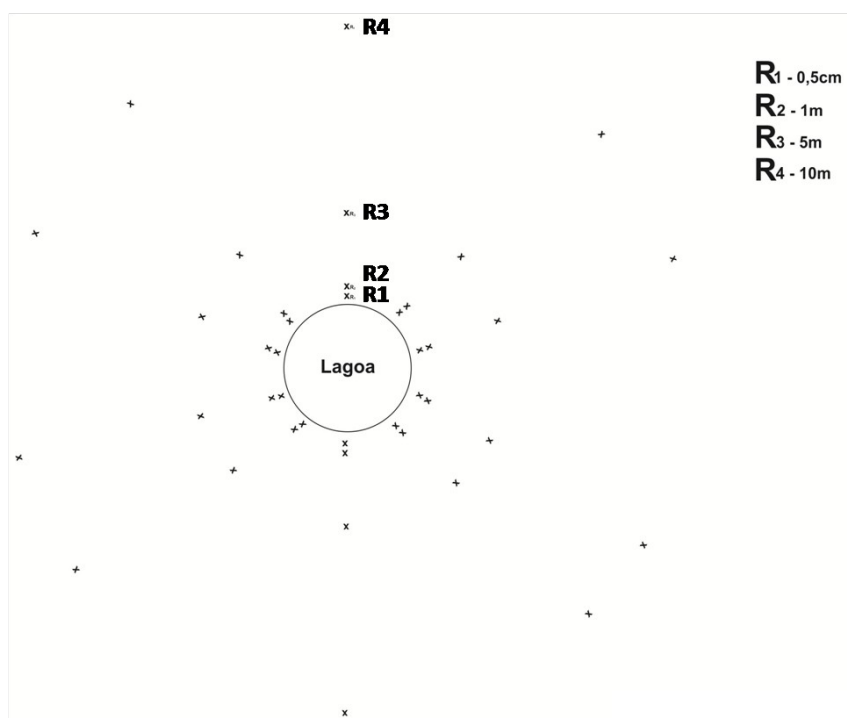


FIGURA 2 – Esquema mostrando a disposição das placas no entorno da lagoa no momento da coleta das amostras.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise estatística revelou diferenças significativas de contaminação entre os quatro raios de distancia analisados, não sendo contudo, significativas, as diferenças entre as 10 posições dos raios analisados separadamente, o que pode ser explicado pelas condições atmosféricas do dia, que mostravam vento ameno. Nessas condições, de pouco vento e altas temperaturas, o resíduo evaporado pode ser disperso para todas as direções, sedimentando-se homogeneamente nos meios.

A contagem das UFCs mostrou uma diminuição progressiva na contaminação, conforme o raio se distancia da lagoa (Figura 3), o que confirma a identidade da lagoa como fonte potencial na dispersão de *S. aureus* para a atmosfera local.

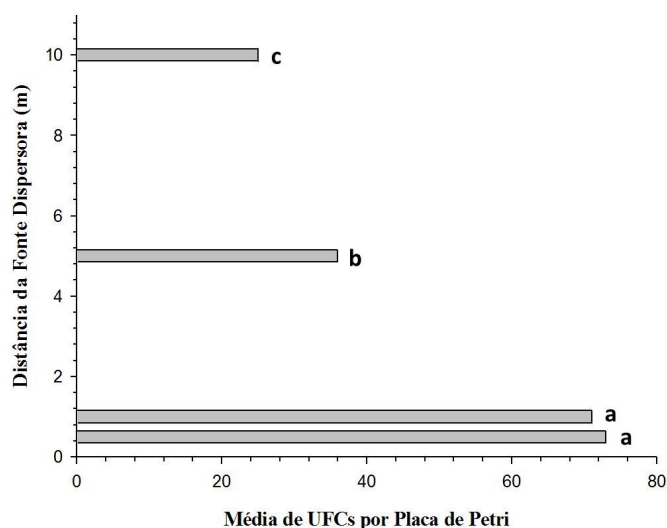


FIGURA 3 – Média de Unidades Formadoras de Colônias (UFCs) por placa de Petri para os quatro raios de distância entre as placas e a lagoa de estabilização.

Como método preventivo, não é possível assegurar ausência de contaminação apenas mantendo-se distância dessa fonte, pois as correntes de ar podem conduzir micro-organismos a distâncias imprevisíveis.

No teste de confirmação das colônias, foi reafirmada a dispersão de *S. aureus* pela lagoa, já que este foi positivo para todas as colônias testadas das placas referentes aos diversos tratamentos utilizados. A formação de coágulo foi constatada já nas três primeiras horas de incubação (Figura 4). Ao final das seis horas essa coagulação atingiu nível 4+ em todos os tubos, formando um coágulo firme que não se rompia quando o tubo era virado para baixo. Conforme SILVA e outros (2007), coagulações de nível +4 (observada), bem como de nível +3 (não observada), são confirmativas de *S. aureus* coagulase positivo.

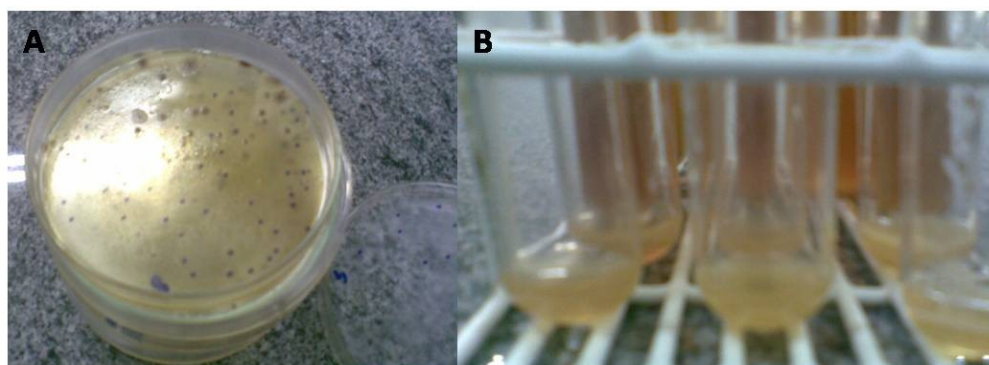


FIGURA 4 – (A) Placas contendo as colônias típicas de *S. aureus* que cresceram em meio BP. (B) Tubos mostrando reação de coagulação nível +4. Fonte: Arquivo de fotos do projeto.

Sabe-se da dificuldade que os sistemas de lagoas de estabilização apresentam para atender aos limites de qualidade da água impostos pela Resolução Nº 357/2005 do CONAMA para os corpos receptores, embora esta se atenha apenas a *Escherichia coli* e corpos de água. Este presente trabalho vem alertar da necessidade de se estipular níveis de dispersão também para a atmosfera e para outros micro-organismos patogênicos, tal como *S. aureus*. O alerta é também para a projeção e transformação das lagoas de estabilização em modelos altamente eficientes no tratamento de águas residuárias (MARQUES e D'ÁVILA, 1995). PEREIRA e LAPOLLI (2009) propõem a criação de tilápias em efluentes dessas lagoas como forma de melhorar a qualidade do efluente gerado, reduzindo as concentrações de Nitrogênio orgânico total e diminuindo os sólidos suspensos. No mesmo trabalho, as análises de coliformes fecais, *Salmonella* sp. e *S. aureus* dos efluentes e da carne dos peixes produzidos ficaram dentro dos padrões exigidos pela OMS (Organização Mundial de Saúde).

CONCLUSÃO

Este trabalho confirma a dispersão de *S. aureus* para a atmosfera, por meio de uma lagoa de estabilização mantida na área do IFGoiano-campus Urutaí. Sugere-se a criação de projetos que minimizem os impactos dessa lagoa sobre a atmosfera local, estes podem ir desde a criação de peixes nessa lagoa, pois estes irão consumir os resíduos diminuindo a turbidez do efluente e a quantidade de matéria orgânica sob ação bacteriana, até a instalação de uma barreira verde no entorno da lagoa, diminuindo a dispersão aérea de patógenos por esse loco. Sugere-se ainda, novos trabalhos que visem a detecção de outros tipos bacterianos na atmosfera desse campus.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, R. V. (2004) **Avaliação de desempenho de lagoas de estabilização para o tratamento de dejetos de suínos: aspectos microbiológicos**. Viçosa, MG. BRASIL. **Resolução nº 357**, de 17 de março de 2005. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res05/res35705.pdf>>. Acesso em: 13 de julho de 2009.

DAUM, R.S.; GUPTA S.; SABBAGH, R.; MILEWSKI, W.M. (1992) Characterization of *Staphylococcus aureus* isolates with decreased susceptibility to vancomycin and teicoplanin: Isolation and purification of a constitutively produced protein associated with decreased susceptibility. **J Infect Dis.**; 166: 1.066-72

EMORI, T. G.; GAYNES R.P. (1993) An overview of nosocomial infections, including the role of the microbiology laboratory. **Clin. Microbiol. Rev.** 6:428–442.

ENRIGHT, M.C.; DAY, N.P.J.; DAVIES, C.E.; PEACOCK, S.J.; SPRATT, B.G. (2000) Multilocus Sequence Typing for Characterization of Methicillin-Resistant and Methicillin-Susceptible Clones of *Staphylococcus aureus*. **Journal of clinical microbiology**. p. 1008–1015 Vol. 38, No. 3.

FERREIRA, D.F. (2003) **Sisvar**: versão 4.2. Lavras: UFLA.

GRUBB, W. B. 1998. Genetics of MRSA. **Rev. Med. Microbiol.** 9:153–162.

KÖNIG, A. **Biologia de lagoas de estabilização**, capítulo 2. In: MENDONÇA, S. R. (1990) Lagoas de estabilização e aeradas mecanicamente: novos conceitos. João Pessoa, PB. 388p.

LEE, D.Y.; SHANNON, K.; BEAUDETTE, L.A. (2006) Detection of bacterial pathogens in municipal wastewater using an oligonucleotide microarray and real-time quantitative PCR. **Journal of Microbiological Methods**, v.65, p. 453-467.

MARQUES, J. J.; d'AVILA, J. S. (1995) An algorithm optimization to project and simulate aerobic and facultative stabilization ponds. In: 3rd. **Iawq international specialist conference and workshop**. Waste Stabilization ponds: Technology an Applications. (1995: João Pessoa, Pb) João Pessoa: IAWQ.

MARTINS, A.G.L.A. (2005) **Efeitos da emissão dos efluentes domésticos na proliferação de Aeromonas sp. Em águas de superfície e pescado do estuário do rio Bacanga**. São Luís do Maranhão. Fortaleza. 95.p.

PANLILIO, A. L.; CULVER D.H.; GAYNES R.P.; BANNERJEE, S.; HENDERSON T.S.; TOLSON J.S.; MARTONE, W.J. (1992) Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in US hospitals, 1975–1991. **Infect. Control Hosp. Epidemiol.** 13:582–586.
PANT, A.; MITTAL, A.K. (2007) Monitoring of pathogenicity of effluents from the UASB based sewage treatment plant. **Environ. Monit. Assess**, v. 133, p. 43-51.

PEREIRA, C.M.; LAPOLLI, F.R. (2009) Criação de tilápias no efluente doméstico tratado em lagoas de estabilização. **Biotemas**, 22 (1): 93-102.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A.; TANIWAKI, M.H.; SANTOS, R.F.S. e GOMES, R.A.R. (2007) **Manual de Análise Microbiológica de Alimentos**. 3. ed. São Paulo: Livraria Varela. 552 p.

SPELLER, D. C.; JOHNSON, A.P.; JAMES, D.; MARPLES, R.R.; CHARLETT, A.; GEORGE, R.C.. (1997) Resistance to methicillin and other antibiotics in isolates of *Staphylococcus aureus* from blood and cerebrospinal fluid, England and Wales, 1989–1995. **Lancet**. 250:323–325.

STEINBERG, J. P.; CLARK, C.C.; HACKMAN, B.O. (1996) Nosocomial and community-acquired *Staphylococcus aureus* bacteremias from 1980 to 1993: impact of intravascular devices and methicillin resistance. **Clin. Infect. Dis.** 23:255–259.