

Avaliação das Metodologias para Isolamento de *Salmonella* Em Chorume de Resíduos Sólidos Domiciliares

Priscila Gonçalves Moura

Carlos Augusto Machado da Costa e Silva

RESUMO

Os resíduos sólidos urbanos, conhecidos por lixo, têm gerado debates e pesquisas, pois o manejo impróprio e a disposição inadequada destes colocam em risco a saúde pública e o meio ambiente. A *Salmonella* vem sendo empregada como importantes indicadores de poluição, inclusive em chorume de lixo urbano. O presente trabalho teve por objetivo avaliar metodologias para isolamento de uma estirpe padrão de *Salmonella* espécie *entérica* sorovar Choleraesuis inoculada em chorume de resíduos sólidos domiciliares. Para o isolamento, as amostras de chorume de lixo domiciliar foram submetidas à verificação de pH sendo separadas duas alíquotas: uma com o pH tal qual e outra com pH elevado a 7, 2, o ideal para o crescimento das enterobactérias. Logo após foi inoculada a cada alíquota 1mL da cultura da estirpe teste, seguido de homogeneização manual e repouso por 15 minutos. As metodologias avaliadas incluíram: tetracionato Müller-Kauffmann (TT), caldo selenito (S), caldo selenito cistina (SC), Rappaport modificado com verde brilhante (RPT), água peptonada + tetracionato Müller-Kauffmann (APT+ TT) e água peptonada + Rappaport modificado com verde brilhante (APT + RPT), os meios seletivos ágar XLD e ágar SS seguidos de provas bioquímicas. Nenhuma das metodologias mostrou a eficácia esperada, entretanto, as que apresentaram os melhores resultados foram TT e APT +TT. Nos meios S e APT+RPT não houve isolamento. Não foram observadas diferenças expressivas no isolamento em relação aos valores de pH tal qual (que variou entre 4,8 a 6,0) e o pH 7,2. A estirpe teste foi recuperada em apenas quatro amostras. Os meios sólidos seletivos empregados não mostraram diferenças significativas quanto ao número de colônias isoladas. Alguns

fatores podem ter contribuído para a dificuldade de isolamento da estirpe teste, tais como, a competição microbiana, a presença de metais pesados, de substâncias químicas e outras condições adversas encontradas no chorume.

Palavras chave: chorume, isolamento, *Salmonella* sp.

1. INTRODUÇÃO

Desde quando o homem abandonou a vida nômade, teve que aprender a conviver com o seu lixo. Atualmente as cidades do mundo se preocupam com a coleta e o destino final do lixo gerado pela maior parte das populações que continua com o mau hábito de jogar o lixo nas ruas, nos rios, lagoas, praias, no mar, ou seja, em qualquer lugar ocasionando riscos para a saúde pública e poluição para o meio ambiente.

Dessa forma, diversos problemas ambientais, especialmente a contaminação do solo, dos corpos d'água superficiais e subterrâneos, e do homem, decorrem do manejo impróprio e da disposição inadequada dos resíduos sólidos, em função dos riscos físicos, químicos e biológicos atribuídos ao lixo.

Essas questões têm gerado debates, estudos, pesquisas e ações na tentativa de selecionar as melhores formas de gerenciamento, acondicionamento, coleta, transporte, tratamento e destino final do lixo.

O lixo urbano recebe produtos tóxicos, corrosivos, inflamáveis e reativos. Também contém matéria fecal humana e de outros animais, além de restos de vegetais e solo entre outros. É constituído por uma biota composta por vírus, bactérias, fungos, protozoários, helmintos e larvas de mosca entre outros.

Entre as bactérias destaca - se a *Salmonella* sp que é uma bactéria intestinal encontrada também no meio ambiente, e que vem sendo utilizada como bioindicadora de poluição pela sua maior capacidade de sobrevivência no ambiente em relação aos coliformes.

Alguns fatores, como baixo padrão higiênico dos alimentos, da população, e a falta de saneamento básico, entre outros, viabilizam o contato da *Salmonella* sp com o homem determinam a importância deste estudo.

1.1 Resíduos Sólidos Urbanos (RSU)

Os resíduos sólidos urbanos (popularmente denominados lixo) são definidos como todo material sólido ou semissólido indesejável e que necessita ser removido por ter sido considerado inútil por quem o descarta em qualquer recipiente destinado a este ato. Essa definição de lixo é relativa, pois há a possibilidade de reaproveitamento daquilo que já não apresenta nenhuma serventia para quem o descarta como matéria-prima para um novo produto ou processo (IBAM, 2001).

Os RSU podem ser classificados de diversas maneiras. A classificação a seguir está descrita conforme a Lei Municipal nº 3.273 de 6 de setembro de 2001 que dispõe sobre a Gestão do Sistema de Limpeza Urbana no Município do Rio de Janeiro:

- *Lixo domiciliar – lixo gerado nas residências em geral, composto basicamente de restos de alimentos, embalagens e outros resíduos domésticos.*
- *Lixo público – resíduos sólidos provenientes de serviços de varrição, raspagem, capina e outros que se façam necessários para a conservação e limpeza de logradouros e demais áreas de uso público.*
- *Lixo hospitalar (resíduos sólidos de serviços de saúde) – lixo proveniente de unidades de serviço de saúde, como estabelecimentos hospitalares, clínicas, casas de saúde, prontos-socorros, ambulatórios, postos de saúde, laboratórios e farmácias.*
- *Lixo de grandes geradores – lixo do tipo domiciliar gerado exclusivamente em imóveis não residenciais (estabelecimentos comerciais, de serviço instituições públicas em geral e demais imóveis não residenciais), cuja produção diária exceda o volume de 120 litros ou o peso de 60 Kg. Também é conhecido como lixo domiciliar extraordinário. Os grandes geradores têm sua coleta feita por pequenas empresas particulares cadastradas e fiscalizada pela Companhia Municipal de Limpeza Urbana - COMLURB.*

- *Lixo de particulares – lixo vazado nos aterros sanitários diretamente por particulares.*
- *Lixo industrial inerte – lixo gerado e transportado por indústrias.*

Esta categoria necessita da autorização da Fundação Estadual de Engenharia do Meio Ambiente - FEEMA, através do manifesto de resíduos, garantindo que os resíduos são inertes e não apresentam riscos ambientais.

- *Lixo de órgãos públicos – lixo produzido e transportado por órgãos do governo, como o Departamento de Parques e Jardins, Companhia de Engenharia de Tráfego – CET-RIO, Forças Armadas e outros.*
- *Lixo para destruição – composto normalmente por produtos industrializados com prazo de validade vencido ou que não passaram nos controles de qualidade. A destruição pode ser feita nas usinas (trituração) ou aterros (enterrado em trincheiras).*
- *Lixo de prefeituras – lixo vazado por prefeituras vizinhas ao Rio de Janeiro nos aterros controlados pela COMLURB, com características similares ao do lixo domiciliar.*

1.1.2. Caminhos do Lixo

Na cidade do Rio de Janeiro o lixo é coletado em logradouros e encaminhado pelos caminhões compactadores (figura 1) para as estações de transferência (atualmente localizadas nas usinas de reciclagem e compostagem), que servem como ponto de apoio na operação, transferindo o lixo para carretas de maior capacidade. As carretas por sua vez, dirigem-se aos aterros onde o lixo é disposto. Parte do lixo é destinado às usinas onde o material reciclável é separado, a matéria orgânica é transformada em composto orgânico e o restante, denominado rejeito, é transferido para os aterros (www.comlurb.rio.rj.gov.br)

Figura 1 – Caminhão compactador.



1.1.3. Lixo Domiciliar

O lixo domiciliar, apresenta composição microbiana variada sendo possível a ocorrência de vírus, bactérias, fungos, protozoários e helmintos, entre outros. Estes microrganismos se originam dos seres humanos, dos animais e dos vegetais em decomposição e do solo e chegam ao lixo domiciliar através de papéis higiênicos, fraldas descartáveis, carcaças e vísceras de animais, alimento deteriorado, resíduos provenientes de doentes em residências e fezes *in natura*, entre outras fontes (COMLURB,2005).

Diversos problemas ambientais e de saúde pública decorrem do manejo impróprio e da disposição inadequada dos resíduos sólidos domiciliares. Em função disso, os resíduos sólidos em geral têm sido tema de discussões, estudos e pesquisas.

1.1.4. Chorume

As águas das chuvas e aquelas que de outra forma chegam aos resíduos sólidos tendem a percolar através da massa de lixo causando o

arraste de organismos patogênicos, de produtos tóxicos (ácidos, solventes, cianeto, fenóis e metais pesados) e outros poluentes que juntamente com substâncias provenientes da decomposição do lixo formam o chorume (figuras 2 e 3), líquido altamente poluente, com carga orgânica elevada, rico em microrganismos e com diversas substâncias químicas (COSTA E SILVA, 2005).

Figura 2 – Chorume na Bacia do caminhão coletor.



Figura 3 – Chorume na calha do dreno do caminhão coletor.



A qualidade e quantidade do chorume variam em função das características do lixo, do regime de chuvas, das condições de evaporação, do tipo e espessura do material de cobertura utilizada no aterro e do grau de compactação do lixo.

O chorume gerado de lixo novo ou recentemente depositado é diferente do chorume de lixo velho. O pH apresenta-se ácido passando para faixa alcalina no chorume velho. A Demanda Bioquímica de oxigênio (DBO) e a Demanda Química de Oxigênio (DQO) inicialmente mostram altos valores, porém, com o passar do tempo tendem a decrescer (PHILIPS et al., 1994 apud SISINO et al., 2000).

Se o solo não for adequado à disposição de resíduos e não houver medidas de contenção do chorume, poderá ocorrer poluição dos corpos d'água superficiais e subterrâneos.

1.2. O Gênero Salmonella

As salmonelas são bastonetes gram-negativos, que pertencem à família *Enterobacteriaceae* e ao gênero *Salmonella*. São bactérias intestinais (enterobactérias) amplamente distribuídas na natureza e vêm sendo empregadas como bioindicadores em microbiologia ambiental. O gênero *Salmonella* divide-se em duas espécies: *S. enterica* e *S. bongori* (SALVERS & WHITT, 1994).

O esquema de Kauffmann – White divide as salmonelas em sorotipos. Atualmente existem 2.501 sorotipos e a maioria deles são potenciais patógenos humanos (TRABULSI, 2005).

A *Salmonella* espécie *entérica* sorovar *Choleraesuis* é foi utilizada neste estudo por sua importância epidemiológica, causar gastroenterite, ser um sorovar encontrado em esgoto, por apresentar padrão de resistência a produtos químicos sendo empregada em testes com desinfetantes, álcoois e outros saneantes de uso geral e uso hospitalar para avaliar a rotina com saneantes e validar processos de tratamento de resíduos.

1.2.1. Perfil Bioquímico

As salmonelas crescem com facilidade em meios de cultura simples, dificilmente fermentam lactose e sacarose, podem formar gás a partir de glicose e manose, podendo também formar H₂S. São resistentes a deter-

minadas substâncias químicas como verde-brilhante, tetrionato sódico e desoxicolato sódico, que inibem outras bactérias entéricas.

De acordo com COSTA & HOFER (1972) o perfil bioquímico para a identificação do gênero *Salmonella* deve abranger as seguintes provas: fermentação da glicose e lactose, utilização de citrato como única fonte de carbono, descarboxilação da L-lisina, desaminação da fenilalanina, motilidade, produção de indol e H₂S (Quadro 1).

Quadro 1 – Perfil bioquímico da *Salmonella*

Glicose	+
Lactose	-
H ₂ S	+/-
Gás	+/-
Indol	-
Motilidade	+
Lisina	+
Citrato	+/-
Fenilalanina	-

1.2.2. Importância Sanitária

As salmonelas são patógenos primários que estão entre as bactérias mais comumente responsabilizadas pelo elevado número de infecções gastrointestinais que representam um importante problema em saúde pública. O habitat das enterobactérias é o intestino normal e patológico, podendo também ser localizadas fora do intestino: sangue, urina, secreções purulentas, solo, lixo, água contaminada, esgoto, nas aves e em bovinos, em excretas humanas e animais eventualmente usados como adubo no cultivo de hortaliças e plantas frutíferas (COSTA E SILVA, 2005).

Além das salmonelas, o grupo das enterobactérias inclui também diversos patógenos oportunistas causadores de infecções, entre os quais: *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Enterobacter* sp e *Citrobacter* sp.

Muitos fatores podem facilitar a entrada de *Salmonella* sp em um ambiente, dentre eles o baixo padrão higiênico da população, dos alimentos,

a falta de saneamento básico adequado para manter a água em condições aceitáveis de qualidade entre outros.

1.2.3. *Salmonella sp* como bioindicadora

Investigar e monitorar a presença da enorme gama de organismos patogênicos possíveis de serem encontrados em resíduos sólidos e líquidos bem como em águas brutas e outras amostras ambientais constitui – se em um trabalho laborioso, pois exige procedimentos demorados, de complexidades variáveis e muitas vezes por demais onerosos para serem aplicados rotineiramente. Em função disso, o uso de microrganismos indicadores em análises de amostras ambientais, tais como as bactérias do gênero *Salmonella*, tem sido uma prática internacionalmente aceita (PELCZAR et al., 1981).

Vários autores têm proposto o uso de *Salmonella sp* como indicador de poluição, pois enfatizam que esta pode, em certas circunstâncias, sobreviver durante mais tempo do que os coliformes, tendo sido detectada em águas com baixa densidade de coliformes (COSTA E SILVA, 2005).

A extrema resistência de bactérias do gênero *Salmonella* aos fatores ambientais justifica também a utilização deste parâmetro em estudos que visam avaliar a eficácia dos processos de tratamento de águas residuais e de lodos de esgotos, bem como do controle da qualidade de águas utilizadas em aqüicultura (CETESB, 1993).

De acordo com GUIMARÃES (1978), não existe um indicador microbiano ideal de poluição muito menos que consiga abranger todos os organismos patogênicos. Segundo o autor, e conforme BIDONE et al. (2000), um microrganismo indicador deve apresentar requisitos tais como:

- ser aplicável a todos os tipos de águas;
- estar presente em águas poluídas se ausente em águas não poluídas;
- estar presente na água quando os micro-organismos patogênicos também aí se encontrarem;
- estar presente em maior número do que os patogênicos;
- ter na água um tempo de sobrevivência maior do que o dos organismos patogênicos e desaparecer rapidamente logo após o desaparecimento dos patogênicos;

- sua densidade deve ter alguma relação direta com o grau de poluição;
- apresentar densidades uniformes e estáveis;
- ser facilmente demonstrável por exames quantitativos de rotina por técnicas laboratoriais padronizadas;
- ser inofensivo ao homem e outros animais.

1.2.4. Ocorrência da *Salmonella* em resíduos

De acordo com FARIAS (2000) as salmonelas têm sido isoladas em amostras de águas de rios, águas tratadas, esgoto, recreacionais, águas de irrigações e lagos. Ainda segundo a autora, a ocorrência de *Salmonella* em águas superficiais geralmente é causada pela contaminação cruzada com águas de esgoto ou por descartes de matéria fecal nas mesmas.

Para CIMINO *et al.* (1987), a microbiota dos resíduos sólidos tem sido considerada semelhante à dos esgotos.

Segundo ZANON (2002) patógenos primários, como, por exemplo, a *Salmonella*, podem ser encontrados no lixo domiciliar, porém não sobrevivem por mais de oito dias, nem se disseminam para os resíduos adjacentes.

A *Salmonella* pode estar ausente em resíduos dependendo do tipo de tratamento aplicado ou da presença de substâncias tóxicas (RIVERA & MARTINS, 1996).

2. OBJETIVO

2.1 *Objetivo geral*

O objetivo deste trabalho experimental foi avaliar diferentes metodologias para a recuperação e isolamento de *Salmonella*, tendo como estirpe padrão o sorovar *Choleraesuis* inoculado em chorume de resíduos sólidos domiciliares.

2.2 *Objetivo específico*

Padronizar uma metodologia para enriquecimento e isolamento de *Salmonella*, avaliar a capacidade de sobrevivência com diferentes pH, vi-

sando fornecer subsídios para otimizar a avaliação da qualidade sanitária de resíduos sólidos no tocante à pesquisa de *Salmonella* sp.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Obtenção das amostras

As amostras de chorume foram obtidas diretamente nas bacias de caminhões coletores que fazem a coleta do lixo domiciliar da cidade do Rio de Janeiro após o encerramento dos roteiros de coletas. As coletas foram realizadas entre setembro de 2007 e maio de 2008 e foram provenientes dos seguintes bairros: Barra (1), Itanhangá (2), Gardênia Azul (3), Cidade de Deus (4), Vargem Pequena (5), Vargem Grande (6) e Ilha do Governador (7) totalizando sete amostras. As amostras foram coletadas em frascos esterilizados, utilizando uma garra com um cabo alongado ao qual o frasco foi acoplado para facilitar a coleta (figuras 4 e 5). As amostras foram encaminhadas e processadas em seguida no laboratório.

Figura 4 – Abertura do frasco para o início da coleta.



Figura 5 – Coleta do chorume.



3.2 Estirpe padrão

Utilizou-se uma estirpe padrão de *Salmonella entérica* sorovar Choleraesuis, ATCC 10708, INCQS 0028, proveniente do Laboratório de Materiais de Referência do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS) na Fundação Instituto Oswaldo Cruz (FIOCRUZ).

3.3 Preparo da cultura teste

A cultura fornecida pela FIOCRUZ apresenta-se na forma liofilizada e acondicionada em ampolas cuja substituição ocorre semestralmente. A cultura foi submetida ao processo de reidratação, que consiste em adicionar caldo nutriente, que é um meio indicado para este processo, homogeneizar, transferir a suspensão para tubos contendo o meio de ágar nutriente (ANEXO) inclinado e incubar durante 37°C/ 24 horas podendo-se prolongar a incubação caso o meio de cultivo não apresente crescimento.

As estirpes foram mantidas em meio ágar nutriente inclinado de onde foram feitos repiques mensais.

A ativação da estirpe padrão, foi realizada a partir da cultura estoque, através de um repique em duplicata em 10 mL de caldo nutriente (ANE-

XO), em tubos de 25x150mm, usando uma alça de 4mm de diâmetro como inóculo, seguidos de incubação por 37°C/ 24 horas em estufa bacteriológica (INCQS,2006).A quantidade de células bacterianas, após o tempo de incubação, foi estimada através da escala de MacFarland que consiste numa série de tubos contendo suspensões de sulfato de bário de turvação crescente (BIER,1976). A concentração utilizada foi a 0.2 que correspondente a 600 milhões de bactérias por mL.

3.4 Procedimento analítico

Em virtude da dificuldade de se encontrar na literatura uma metodologia específica para isolamento de *Salmonella* sp em chorume de resíduos sólidos domiciliares (RSD), optou-se pelo emprego de um método analítico elaborado pela Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental – CETESB, que recomenda meios de enriquecimento e isolamento amplamente empregados em metodologias tradicionais. O referido método é indicado para esgotos e águas brutas (CETESB, 1993).

As análises foram efetuadas no laboratório da Divisão de Microbiologia da Gerência de Pesquisa Aplicada da COMLURB no Rio de Janeiro.

As seguintes metodologias foram avaliadas:

- *Inoculação direta em Tetrionato Müller-Kauffmann;*
- *Inoculação direta em Rappaport modificado com verde brilhante (adaptado);*
- *Inoculação em Tetrionato Müller-Kauffmann com pré-enriquecimento em Água Peptonada;*
- *Inoculação em Rappaport, com pré-enriquecimento em Água Peptonada;*
- *Inoculação direta em Caldo Selenito;*
- *Inoculação direta em Caldo Selenito Cistina;*
- *Inoculação direta em ágar XLD (Xilose-Lisina-Desoxicolato);*
- *Inoculação direta em ágar SS (Salmonella Shigella).*

Em uma segunda avaliação a amostra foi modificada quanto ao potencial de hidrogênio, elevando o pH natural do chorume a marca

de 7,2 considerado o ideal ao crescimento da maioria das enterobactérias (COSTA E SILVA, 2005) e foi submetida às metodologias em questão.

Os meios enriquecidos foram semeados nos meios sólidos seletivos XLD e SS (ANEXO). Após a incubação de 37°C/ 24 horas foram realizadas as seguintes provas bioquímicas:

- TSI – três açúcares (lactose, glicose e sacarose) e ferro;
- SIM – produção de H₂S (sulfeto de hidrogênio), produção de indol e motilidade;
- Lisina – descarboxilação da L-lisina;
- Citrato – utilização deste como única fonte de carbono;
- Fenilalanina – desaminação da fenilalanina.

3.5 Aplicação da metodologia

Foram utilizadas duas alíquotas com 99 mL cada das amostras de chorume para aplicação das diferentes metodologias (figura 8). Após verificação do pH uma alíquota foi mantida com o pH tal qual e a outra o pH foi elevado a 7.2. A cada alíquota foi acrescentado 1mL da cultura de *S.Choleraesuis*, seguido de homogeneização manual por 25 vezes conforme APHA (1998) e mantido em repouso por 15 minutos para que houvesse competição microbiana.

Depois, 10mL de cada alíquota foram adicionadas a:

- 10 mL de Tetracionato Müller-Kauffmann (TT) ;
- 10 mL de Caldo Selenito (S);
- 10 mL de Caldo Selenito Sistina (SC);
- 10 mL de Rappaport modificado com verde brilhante (RPT – adaptado);
- 90 mL de Água Peptonada (APT);

A figura 6 ilustra a inoculação da amostra nos meios de enriquecimento.

Todos os meios foram incubados em estufa bacteriológica a 37°C/ 24 horas com exceção dos caldos Selenito e Selenito Cistina que foram incubados em banho maria a 42°/ 24horas.

Após 24 horas foram retirados 10 mL do caldo de pré-enriquecimento (Água Peptonada) inoculados em 10mL de Tetracionato Müller-Kauffmann e Rappaport modificado com verde brilhante. Em seguida, foram incubados a 37°C/ 24 horas para, somente após esse processo, serem semeados em placas de SS e XLD (anexo) incubadas a 37°C/ 24 horas.

Após incubação, todos os meios (ANEXO) TT, S, SC, RPT, APT+TT, APT+RPT foram semeados em placas de SS e XLD (figura 7) e incubados a 37°C/ 24 horas, em seguida foram selecionadas as colônias suspeitas de *Salmonella* para a identificação a partir das provas bioquímicas descritas no item 3.4.

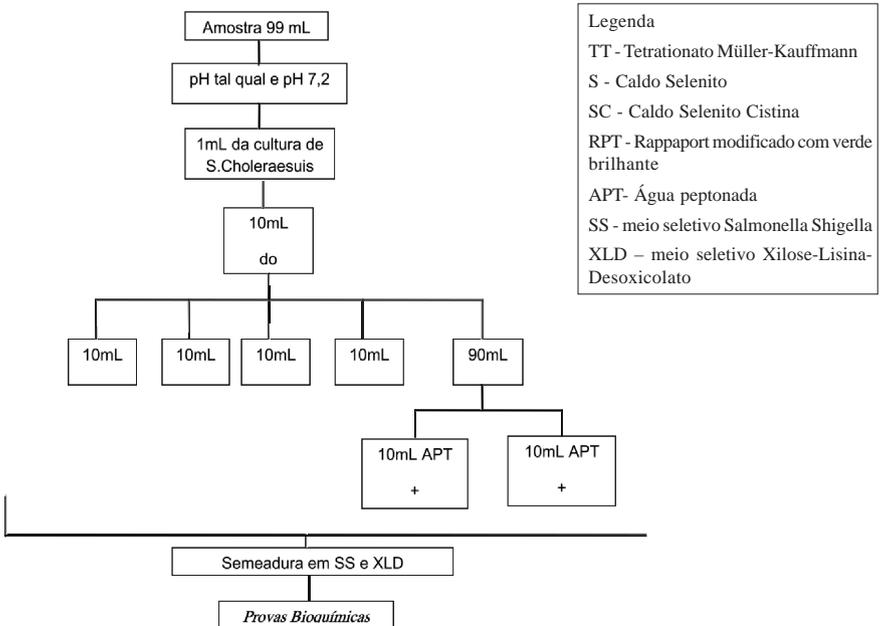
Figura 6 – Inoculação da amostra nos meios de enriquecimento.



Figura 7 – Semeadura em meio sólido seletivo.



Figura 8 – Sequência das etapas para isolamento de *Salmonella*.



4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A tabela 1 mostra os resultados das análises com relação à recuperação da estirpe para os diferentes valores de pH. Em apenas quatro amostras foi possível a recuperação da estirpe.

Tabela 1 – Recuperação da *S. Choleraesuis* nas amostras de chorume para os valores de pH.

Amostras	pH tal qual		pH 7.2	
	Valor	Recuperação de <i>S. Choleraesuis</i>	Valor	Recuperação de <i>S. Choleraesuis</i>
1	4,8	sim		não
2	5.5	não		não
3	6,0	não		sim
4	5,0	sim	7,2	não
5	4,8	sim		sim
6	5,5	não		não
7	6,0	não		não

Os valores de pH das amostras variaram de 4,8 a 6,0 corroborando os resultados de COSTA E SILVA (2005).

A recuperação da estirpe teste no tocante aos valores de pH nas amostras tal qual (4,8 a 6,0) e nas amostras com pH elevado a 7,2 não mostrou diferenças expressivas. No pH tal qual foi possível recuperar 43% e no pH 7,2 foi possível recuperar 28% da *S. Choleraesuis* em relação ao total de 7 amostras.

A tabela 2 apresenta os números de amostras nas quais foram possíveis as recuperações da estirpe teste, bem como os números de colônias de *S. Choleraesuis* nas sete amostras analisadas para os valores de pH nas diferentes metodologias.

Tabela 2 – Números de amostras positivas e de colônias de *S. Choleraesuis* em sete amostras de chorume para os valores de pH nas diferentes metodologias.

Metodologias testadas	Amostras positivas	Colônias isoladas			
		pH tal qual		pH 7.2	
		SS	XLD	SS	XLD
Tetrionato Müller-Kauffmann	2 (28%)	-	1	2	2
Rappaport modificado com verde brilhante	1 (14%)	-	-	1	-
Caldo Selenito	1 (14%)	-	1	-	-
Caldo Selenito Cistina	-	-	-	-	-
Água peptonada + Rappaport	-	-	-	-	-
água peptonada + Tetrionato Müller-Kauffmann	2 (28%)	1	1	-	-

SS – ágar *Salmonella Shigella* XLD – ágar *Xilose Desoxicolato*.

Dentre as diferentes metodologias avaliadas, nenhuma delas possibilitou recuperação efetiva da estirpe teste.

Os melhores resultados foram observados com o Tetrionato Müller-Kauffmann e com o Tetrionato Müller-Kauffmann pré – enriquecido com água peptonada com 28 % de recuperação da estirpe teste em ambos.

Os resultados confirmam a indicação de MICHAEL (2003) no tocante ao melhor desempenho do Tetrionato Müller-Kauffmann em relação aos outros enriquecimentos e que este influencia diretamente a capacidade seletiva e indicadora dos meios sólidos seletivos utilizados.

O Caldo Selenito Cistina e o Caldo Rappaport enriquecido com Água Peptonada apresentaram os piores resultados, ou seja, não foi possível recuperar a *S. Choleraesuis* sem nenhuma das amostras analisadas.

Os meios seletivos SS e XLD não mostraram diferenças significativas quanto aos números de colônias isoladas. O meio SS deveria ter diferenciado melhor a *Salmonella*, pois é um meio mais fácil para trabalhar do que o XLD.

Segundo a Universidade Estadual Paulista de Botucatu, os meios SS e XLD considerados clássicos para isolamento de *Salmonella* não são os mais eficazes porque nestes meios a *Salmonella* apresenta-se muito parecida com o *Proteus*. Os meios cromogênicos são os mais eficazes para esse tipo de isolamento porque diferenciam a *Salmonella* dos coliformes.

Há poucas referências de trabalhos com meios de cultura para isolamento de *Salmonella* no meio ambiente principalmente em resíduos sólidos urbanos, há bastante na área de alimentos.

Embora os caldos de enriquecimento e os meios seletivos atuem de forma a inibir a microbiota contaminante, favorecendo assim a bactéria alvo, nenhuma metodologia é totalmente eficaz neste sentido. Dessa forma, com base na tabela 3, verificou-se que as metodologias avaliadas permitiram encontrar outras enterobactérias.

Tabela 3 – Ocorrência de outras Enterobactérias e os respectivos percentuais em relação às sete amostras analisadas.

Enterobactérias isoladas	Amostras positivas	Total
<i>Enterobacter aerogenes</i>	2	28%
<i>Enterobacter agglomerans</i>	1	14%
<i>Escherichia coli</i>	2	28%
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	5	71%
<i>Klebsiella oxytoca</i>	1	14%
<i>Morganella morganii</i>	2	28%
<i>Proteus mirabilis</i>	7	100%
<i>Proteus vulgaris</i>	2	28%

A maior prevalência foi de *Proteus mirabilis* que ocorreu em todas as amostras, seguida por *Klebsiella pneumoniae* em 71% das amostras analisadas. Essas prevalências coincidem com as observadas nos trabalhos de caracterização microbiológica do lixo domiciliar do Município do Rio de Janeiro efetuado pela COMLURB (2005, 2006, 2007).

A menor prevalência observada foi de *Klebsiella oxytoca* e *Enterobacter agglomerans* com 14% das amostras analisadas.

Houve uma extrema dificuldade de diferenciar a *Salmonella* do *Proteus* nos meios sólidos seletivos utilizados, pois ambos não fermentam lactose e produzem H₂S.

5. CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES

Nas condições testadas nenhuma das metodologias mostrou-se eficaz na recuperação da *Salmonella Choleraesuis* em chorume de resíduos sólidos domiciliares (RSD).

As metodologias que possibilitaram recuperação da *S. Choleraesuis* em 28% foram Tetracionato Müller-Kauffmann e Tetracionato Müller-Kauffmann pré – enriquecido com Água Peptonada.

Os valores de pH das amostras não apresentaram diferenças expressivas e sugerem não causar interferências na recuperação da *S. Choleraesuis*.

Alguns fatores podem ter contribuído para a dificuldade de isolamento da *S. Choleraesuis* em RSD, tais como: a competição microbiana, a atividade antibiótica da microbiota, a presença de metais pesados, a disponibilidade de nutrientes, os produtos de metabolismos, a produção de substâncias antagônicas e outras condições adversas presentes no chorume.

Recomendamos a utilização do meio ágar Rambach e do caldo Rappaport-Vassiliadis para futuras avaliações. O ágar Rambach é um indicador cromogênico que diferencia a *Salmonella* dos coliformes e o CHROMagar que também é um indicador cromogênico e segundo a Universidade Estadual Paulista de Botucatu é o meio mais eficiente para isolamento de *Salmonella* em carcaças de frango.

Sugerimos também, o emprego do caldo Rappaport-Vassiliadis que é um meio recomendado pela APHA (1993) por apresentar alta seletividade e melhor produção em relação a outros enriquecimentos. É igualmente indicado por MICHAEL (2003) e por GELLI (2003) porque além de apresentar um bom desempenho, inibe o crescimento invasor de *Proteus* sp nos meios sólidos usados.

REFERÊNCIAS

APHA, AWWA, WPC. *Standard Methods for Examination of Water and Wastewater*. New York: 20th ed., 1998.

BIER, O. *Bacteriologia e Imunologia*. Ed Melhoramentos, São Paulo, 1976, 1072p.

BIDONE, F.R.A.; SOUZA, L.F.; MACHADO, R.M. *Microrganismos 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 Congresso Interamericano de Engenharia Sanitária y Ambiental. Porto Alegre – RS. 2000.

CETESB – COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL. *Salmonella – isolamento e identificação – método de ensaio*. L5. 218. CETESB, São Paulo. 1993. 42p.

CIMINO, J.A.; MAMTANI, R. *Occupational Hazards for New York City Sanitation workers*. Journal of Environmental Health 1987, 50, 1:8-12.

COMLURB – COMPANHIA MUNICIPAL DE LIMPEZA URBANA. *Caracterização gravimétrica e microbiológica dos resíduos sólidos domiciliares do Município do Rio de Janeiro*. 2005, 2006, 2007.

COMLURB – Disponível em <<http://www.comlurb.rio.rj.gov.br>>. Acesso em maio/2008.

COSTA E SILVA, C.A.M. *Caracterização Microbiológica de Lixiviados de Resíduos Sólidos de Serviços de Saúde e Resíduos Sólidos Domiciliares*. Dissertação de Mestrado, Universidade estadual do Rio de Janeiro, Curso em Engenharia Ambiental, 2005, 138 p.

COSTA G A, HOFER E. *Isolamento e Identificação de Enterobactérias*. Rio de Janeiro, RJ. Instituto Oswaldo Cruz 1982: 120 p.

FARIAS, E. W. C. *Pesquisa de Oocistos de Cryptosporidium spp e Salmonella spp em Amostras de Águas de esgoto e Águas de Córrego da Cidade São Paulo*. Dissertação de Mestrado, Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, curso em Ciências, 2000, 82 p.

GELLI, D. S.; RISTORI, C. A. e BUZZO, A. A. *Controle de qualidade em laboratório de microbiologia de alimentos e avaliação de desempenho de meios de cultura no isolamento de Salmonella spp*. Rev. Inst. Adolfo Lutz, 62(3): 159 - 164, 2003.

GUIMARÃES, F.P. *Manual de Análises Bacteriológicas da Água. Governo do Estado do Rio de Janeiro.* Fundação Estadual de Engenharia do Meio Ambiente – FEEMA. Rio de Janeiro. 1978. 111p.

IBAM – INSTITUTO BRASILEIRO DE ADMINISTRAÇÃO MUNICIPAL. *Manual Gerenciamento Integrado de Resíduos Sólidos.* Rio de Janeiro: IBAM, 2001. 200 p.:il.

INCQS - Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Fundação Instituto Oswaldo Cruz – *Método de diluição de uso*, nº 653.210.007, 2006, rev. 8, 21p.

MICHAEL, BRENNER G., SIMONETI, ROSELIS, COSTA, MARISA da et al. *Comparação de diferentes etapas de enriquecimento seletivo no isolamento de Salmonella sp. de fezes de suínos de terminação.* Braz. J. Microbiol., abr./jun. 2003, vol.34, no.2, p.138-142. ISSN 1517-8382.

MERK. *Manual de Microbiologia de alimentos.* 1995.159 p

PELCZAR, M.J.; REID, R.; CHAN, E.C.S. *Microbiologia.* São Paulo: McGraw-Hill do Brasil. 2v, 1981.

PHILIPS, P.S.; FREESTONE, N. P.; HALL, R.S. *Dealing with leachate.* Chemistry in Britain, 30: 828-830,1994 apud SISINO, C. L. S., OLIVEIRA, R. M. *Impacto Ambiental dos Grandes Depósitos de Resíduos Urbanos e Industriais.* P. 59-78. In: SISINO, C. L. S.; OLIVEIRA, R. M., FERREIRA, J. A., DIAS, A. E. X. O., KLIGERMAN, D. C., FREITAS, C. M., VALADARES, J. C. *Resíduos Sólidos, Ambiente e Saúde – uma visão multidisciplinar.* Rio de Janeiro: Ed.FIOCRUZ, 2000. 142p.

RIO DE JANEIRO. Lei Nº 3.273 de 6 de Setembro de 2001. Dispõe sobre a Gestão do Sistema de Limpeza Urbana no Município do Rio de Janeiro.

RIVERA, I.N.G. & MARTINS, M.T. *Bactérias Eneteropatogênicas no Ambiente Aquático.* Rev. Ciênc. Farm., 17: 115-36, 1996.

SALVERS & WHITT, *Bacterial Pathogenesis- A molecular approach.* Ed 1 a. ASM Press, Washington,1994.

TRABULSI, L.R.; ALTETHUM, F.; *Microbiologia*. 4º edição, ed. Atheneu: São Paulo, 2005.

Universidade Paulista de Botucatu – *Evaluation of three enrichment broths and five plating media for Salmonella detection in poultry*, 2005

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. 1996. 243p.

ZANON, U.; ZANON, A.S.M. *A Verdadeira Periculosidade dos Resíduos Sólidos para a Saúde Pública e o Meio Ambiente*. p.73-95. In: *Lixo Hospitalar: Ficção Legal ou Realidade Sanitária?* Secretaria de Estado de Meio Ambiente e Desenvolvimento Sustentável do Rio de Janeiro, 2002, 116 p.