

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BÁSICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
MICROBIOLOGIA AGRÍCOLA E DO AMBIENTE**

**AVALIAÇÃO DO PERFIL DE RESISTÊNCIA
A ANTIMICROBIANOS E METAIS PESADOS EM BACTÉRIAS ISOLADAS
DE PROCESSO DE COMPOSTAGEM**

KARINA HECK DA SILVA

Bióloga – UFRGS

Maio de 2011

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BÁSICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
MICROBIOLOGIA AGRÍCOLA E DO AMBIENTE**

**AVALIAÇÃO DO PERFIL DE RESISTÊNCIA
A ANTIMICROBIANOS E METAIS PESADOS EM BACTÉRIAS ISOLADAS
DE PROCESSO DE COMPOSTAGEM**

Karina Heck da Silva
Bióloga – UFRGS

Dissertação apresentada
como um dos requisitos para a
obtenção do grau de Mestre em
Microbiologia Agrícola e do Ambiente.

Porto Alegre, RS, Brasil
Maio de 2011

CIP - Catalogação na Publicação

Heck da Silva, Karina

Avaliação do perfil de resistência a antimicrobianos e metais pesados em bactérias isoladas de processo de compostagem / Karina Heck da Silva. -- 2011.

109 f.

Orientadora: Sueli Van Der Sand.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola e do Ambiente, Porto Alegre, BR-RS, 2011.

1. compostagem. 2. antimicrobiano. 3. metal pesado. 4. bactérias. 5. resistência. I. Van Der Sand, Sueli, orient. II. Título.

Agradecimentos

A Dr. Sueli Van Der Sand, pela orientação, pelos momentos agradáveis e, principalmente, por ter confiado em mim.

A todas as amigas do Laboratório 164, pelas trocas de experiências e amizade, em especial à Évilin De Marco, Mariana Duarte e Ana Bárbara Hahn.

Às grandes amigas Gisele Nachtigall e Sabrina Salamoni, pelo apoio profissional e emocional, e por me ensinarem a amar o que se faz.

Ao amigo Daniel Meyer, pelo apoio e amizade sincera durante esses dois anos, e à Carolina Gusatti, colega e companheira do início ao fim da trajetória.

Aos amigos Marcela Baptista, Gabriele Volkmer, Thiago Pedroso, Eder Oliveira e Julie Zanin pelo apoio e compreensão.

À professora Kátia Silva, pela amizade, apoio e carinho.

Aos funcionários do Departamento de Microbiologia, em especial às técnicas Leila, pelas gentilezas do dia-a-dia, e Sayonara Peixoto, pela amizade, convívio e sugestões para o trabalho.

Às colegas do Laboratório de Biorremediação de Solos, Lucélia Cabral e Patricia Giovanella, pelas contribuições ao trabalho.

Aos professores do PPGMAA que contribuíram para o meu aprendizado.

Ao Dr. Fernando Spilki e à bolsista de Iniciação Científica Mariana Kluge, do Laboratório de Microbiologia Molecular da Universidade FEEVALE, pela parceria de análises.

Ao Laboratório de Microbiologia do Departamento Municipal de Água e Esgoto (DMAE), pelas análises cedidas como cortesia.

Aos funcionários do Departamento Municipal de Limpeza Urbana (DMLU), pela cooperação durante a realização das coletas.

Aos meus pais, à Família Heck, pelo apoio e incentivo, e principalmente a minha irmã Liege, pela cumplicidade.

À CAPES, pelo apoio financeiro durante o período de pesquisas.

AVALIAÇÃO DO PERFIL DE RESISTÊNCIA A ANTIMICROBIANOS E METAIS PESADOS EM BACTÉRIAS ISOLADAS DE PROCESSO DE COMPOSTAGEM¹

Autor: Karina Heck da Silva

Orientador: Sueli T. Van Der Sand

Resumo

A produção de resíduos gerou uma problemática a ser abordada em nível de redução, reciclagem e reutilização de produtos. A técnica da compostagem é uma alternativa promissora para tratar resíduos sólidos orgânicos, bem como o lodo produzido nas estações de tratamento de esgotos. Os micro-organismos que promovem a degradação durante o processo de compostagem podem apresentar perfil de resistência a antimicrobianos e metais pesados, consequência da pressão seletiva de produtos químicos que estão misturados à matéria orgânica. Para avaliar o perfil de resistência a antimicrobianos, foram testadas 344 bactérias isoladas do processo de compostagem, utilizando-se 14 antimicrobianos. Para os ensaios de concentração inibitória mínima (CIM) de metais pesados, foram avaliados 91 isolados do início e final do processo, utilizando cromo, cobre, zinco e chumbo. Também foi avaliada a qualidade microbiológica do composto, segundo a Resolução 375/2006 do CONAMA. Os resultados apontaram para um perfil de 88% dos isolados resistentes a pelo menos um antimicrobiano. O antimicrobiano com maior índice de resistência foi a nitrofurantoína (64,82%), e o mais eficiente foi o imipenem, com apenas um isolado resistente. Das bactérias isoladas do início do processo de compostagem, 33,3% foram resistentes a MIC acima de 710 mg.L⁻¹ de cromo, 38,9% foram resistentes ao mínimo de 1020 mg.L⁻¹ de cobre, 91,7% resistentes ao zinco, e 100% resistentes ao chumbo. No final do processo, 41,8% dos isolados foram resistentes ao cromo, 41,8% ao cobre, 94,5% ao zinco e 96,4% ao chumbo. *Escherichia coli* apresentou NMP de 4x10⁴ UFC/g⁻¹, acima do limite preconizado pelo CONAMA.

¹Dissertação de Mestrado em Microbiologia Agrícola e do Ambiente, Instituto de Ciências Básicas e da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre-RS, Brasil.

EVALUATION OF ANTIMICROBIAL AND HEAVY METAL RESISTANCE PROFILE OF BACTERIA ISOLATED FROM COMPOSTING PROCESS¹

Author: Karina Heck da Silva

Advisor: Sueli T. Van Der Sand

Abstract

With the production of residues comes the need for reduction, recycling and reuse of products. The composting technique is a promising alternative for the treatment of solid organic residues, along with the sludge produced in sewage treatment plants. The microorganisms that promote the degradation during the composting process might show antimicrobial and heavy metal resistance as a result of the selective pressure of chemical products mixed to the organic matter. The antimicrobial resistance profile was evaluated by testing 344 bacteria isolated from the composting process, using 14 antimicrobial agents. The minimum inhibitory concentration (MIC) for heavy metals was evaluated using 91 isolates from the initial and final stages of the process, using chrome, copper, zinc and lead. The microbial quality of the compound was also evaluated, according to the 375/2006 resolution from the Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA). The results showed that 88% of the isolates showed resistance to at least one antimicrobial. The antimicrobial nitrofurantoin showed the highest resistance rate (64.82%), and imipenem was the most efficient, as only one isolate showed resistance. Among the bacteria isolated during the initial stages of the composting process, 33.3% showed resistance to MIC over 710 mg.L⁻¹ chrome, 38.9% showed resistance to a minimum of 1020 mg.L⁻¹ copper, 91.7% were resistant to zinc, and 100% were resistant to lead. In the end of the process, 41.8% of the isolates showed resistance to chrome, 41.8% to copper, 94.5% to zinc and 96.4% to lead. *Escherichia coli*'s NMP was 4x10⁴ UFC/g⁻¹, above the limit recommended by CONAMA.

¹Masters Dissertation in Agriculture and Environmental Microbiology, Instituto de Ciências Básicas e da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre-RS, Brasil.

SUMÁRIO

Lista de Tabelas.....	viii
Lista de Figuras.....	ix
Lista de Abreviaturas.....	x
1. Introdução.....	1
2. Revisão Bibliográfica.....	4
2.1. A geração de resíduos.....	4
2.2. Lodo ativado de esgoto.....	6
2.3. Compostagem.....	8
2.3.1. Fatores que influenciam no processo de degradação	
2.3.1.1. Temperatura.....	11
2.3.1.2. Umidade.....	13
2.3.1.3. pH.....	13
2.3.1.4. Aeração.....	14
2.3.1.5. Nutrientes – Relação carbono / nitrogênio (C/N).....	15
2.4. Presença de Metais Pesados.....	16
2.5. Resistência a Antimicrobianos e Metais Pesados.....	19
2.6. Qualidade Microbiológica do Composto – Resolução nº375 de 29 de Agosto de 2006 do Conselho Nacional do Meio Ambiente – CONAMA.....	20
2.6.1. <i>Escherichia coli</i> e <i>Salmonella</i> sp.	21
2.6.2. Ovos viáveis de helmintos.....	23
3. Material e Métodos.....	25
3.1. Área de Campo.....	25
3.2. Monitoramento e Coletas.....	25
3.3. Processamento.....	26
3.4. Análises físico-químicas.....	27
3.5. Colimetria.....	27
3.6. Contagem de bactérias heterotróficas.....	27
3.7. Semeadura e isolamento bacteriano.....	28
3.8. Teste de antibiograma.....	28
3.9. Teste de concentração inibitória mínima (CIM) de Metais Pesados.....	29
3.10. Identificação de isolados.....	31
3.11. Teste de viabilidade de ovos de helmintos.....	31
4. Resultados e Discussão.....	33
4.1. Análises físico-químicas, temperatura, pH e relação carbono / nitrogênio (C/N).....	33
4.2. Colimetria e contagem de heterotróficos.....	36
4.3. Antibiogramas.....	41
4.3.1. Isolados bacterianos resistentes a 7 até 10 antimicrobianos.....	50
4.3.1.1. Identificação de isolados multirresistentes.....	51
4.4. Concentração inibitória mínima (CIM) de Metais Pesados.....	61
4.4.1. Identificação de isolados com maiores valores de CIM.....	66
4.4.2. Isolados Resistentes a Antimicrobianos e Metais Pesados.....	69
4.5. Resolução 375/2006 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA).....	72

5. Conclusão.....	76
6. Referências.....	77
7. Anexos.....	94

LISTA DE TABELAS

TABELA 1. Relação de temperatura da leira e pH das amostras de cada coleta de resíduo em processo de compostagem.....	34
TABELA 2. Temperatura da leira de compostagem <i>versus</i> contagem de coliformes e heterotróficos por coleta.....	37
TABELA 3. Valores de resistência aos antimicrobianos testados com os isolados de compostagem, em relação às coletas amostrais.....	48
TABELA 4. Incidência e perfil de espécies multirresistentes do gênero <i>Pasteurella</i> sp. isoladas durante o processo de compostagem (junho/2009 a janeiro/2010).....	55
TABELA 5. Incidência e perfil de espécies multirresistentes do gênero <i>Burkholderia</i> sp. isoladas durante o processo de compostagem (junho/2009 a janeiro/2010).....	56
TABELA 6. Incidência e perfil de espécies multirresistentes menos frequentes, isoladas durante o processo de compostagem.....	58
TABELA 7. Perfil de resistência a metais pesados de isolados de compostagem da Coleta 2.....	62
TABELA 8. Comparação entre limites de concentrações dos metais possíveis de serem encontrados no produto de lodo ativado, estabelecidos pelo CONAMA, e concentrações de metais pesados encontradas no composto maturado.....	66
TABELA 9. Perfil de resistência a metais pesados de isolados de compostagem da Coleta 11.....	67
TABELA 10. Perfil de resistência a antimicrobianos e metais pesados dos isolados de compostagem das coletas 2 e 11.....	69
TABELA 11. Padrões microbiológicos preconizados pelo CONAMA e valores obtidos do produto de compostagem.....	73

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1. Frequência de resistência e resistência múltipla a antimicrobianos em bactérias isoladas ao longo do processo de compostagem..... 43
- FIGURA 2. Percentual de bactérias isoladas de resíduos em processo de compostagem resistentes aos 14 antimicrobianos utilizados nos ensaios de susceptibilidade..... 46
- FIGURA 3. Percentual dos isolados identificados e resistentes a cada antimicrobiano, obtidos dos resíduos do processo de compostagem..... 51
- FIGURA 4. Representação do número de isolados dos gêneros identificados, resistentes a 10, 9, 8 e 7 antimicrobianos..... 53
- FIGURA 5. Percentual comparativo de isolados de compostagem das coletas 2 e 11 resistentes aos metais testados..... 65

LISTA DE ABREVIATURAS

C/N: relação carbono/nitrogênio

mg.Kg⁻¹: miligrama por kilograma

mg.L⁻¹: miligrama por litro

CIM: concentração inibitória mínima

NMP: número mais provável

pH: potencial de hidrogênio

rpm: rotações por minuto

UFC: unidade formadora de colônia

μL: microlitro

°C: grau Celsius

1. INTRODUÇÃO

Questões contemporâneas que englobam a urbanização, o aumento da população e do consumo *per capita* e por fim, o aumento da geração de resíduos, tornaram-se uma problemática a ser resolvida em nível de redução, reciclagem e reutilização dos bens de consumo. A carência de tratamento e a incorreta destinação de resíduos acarretam severos impactos de natureza ambiental e sanitária, consequência da inapropriada disposição de resíduos em lixões a céu aberto, sem contar o lançamento de resíduos em mananciais, cursos e corpos d'água, que comprometem a qualidade e potabilidade dos recursos hídricos.

A técnica da compostagem é bastante promissora no que diz respeito à amenização da problemática da destinação dos resíduos orgânicos, uma vez que reduz consideravelmente o volume de resíduos que seriam encaminhados a outros fins, como o aterro sanitário.

Paralelamente ao tópico de geração de resíduos, depara-se com a questão o uso indiscriminado da água potável e seu precário tratamento, produzindo mais uma fonte de resíduos que carece de um eficiente tratamento antes de ser lançado novamente em fontes aquíferas. O lodo produzido nas estações de tratamento de efluentes (ETE) – quando o efluente é submetido a

tratamento - é mais um agravante no que diz respeito à geração de resíduos, uma vez que o lodo ativado de esgoto possui alta umidade e concentração de nutrientes, o que o torna instável e suscetível à decomposição microbiana. A carga patogênica remanescente deste resíduo é potencialmente prejudicial à saúde pública. Essas características fazem com que se busque uma alternativa de sanitização do material oriundo do tratamento de águas residuais.

A compostagem é, mais uma vez, uma alternativa promissora para a redução da umidade, teor nutritivo e carga patogênica do lodo, através do aumento da temperatura, que é resultado do processo de degradação da matéria orgânica realizado via metabolismo microbiano. O produto final deste processo pode servir como um excelente insumo agrônômico, capaz de substituir fertilizantes químicos no ramo de produção agrícola, além de auxiliar e acelerar a recuperação de solos degradados.

No entanto, um minucioso monitoramento e pré-seleção do material de resíduo sólido orgânico, bem como a redução do lançamento de produtos químicos nas águas residuais, que se constituirão no lodo ativado de esgoto, são imprescindíveis e estão diretamente relacionados com a qualidade do composto maturado. As concentrações de metais pesados, que perduram no produto final da compostagem, podem selecionar micro-organismos resistentes, que permanecerão no composto e, posteriormente, serão inseridos no local destinado ao material. Além disso, agentes patogênicos podem permanecer no composto, oferecendo riscos de contaminação aos seres vivos presentes nos arredores do local destinado. Uma análise cuidadosa da qualidade do composto é recomendada para garantir o bom uso do material compostado.

Os objetivos deste trabalho foram avaliar o perfil de resistência aos antimicrobianos em bactérias isoladas ao longo do processo de compostagem; avaliar o perfil de resistência a metais pesados, comparando os dados obtidos no início e no final do processo de degradação; realizar a identificação bioquímica dos isolados potencialmente resistentes, em ordem decrescente de grandeza; avaliar a presença de agentes patogênicos, tais como *Salmonella* sp., *Escherichia coli* e ovos viáveis de helmintos, garantindo, dessa forma, a qualidade microbiológica do composto maturado, de acordo com as preconizações da resolução nº 375/2006 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA).

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 A geração de resíduos

O crescimento da população, urbanização, industrialização e desenvolvimento econômico são indicativos e causa do aumento da geração de resíduos (Sujauddin et al., 2008; Talyan et al., 2008), sendo o poder aquisitivo de bens de consumo a principal influência sobre a geração de resíduos sólidos domésticos (Beigl et al., 2008). O desenvolvimento econômico proporciona mudanças no estilo de vida e no aumento do consumo, que gera aumento no volume de resíduos produzidos. Essa progressão exige a criação de um sistema de manejo de resíduos (Miliūtė & Staniskis, 2010), para que as populações não se deparem com impactos futuros, pois o manejo ineficiente dos resíduos sólidos pode gerar problemas urbanos, sanitários e ambientais (Sessa et al., 2009).

A reciclagem de materiais, através do manejo de resíduos, pode poupar a utilização de matérias-primas e fontes não renováveis para a produção de novos bens de consumo, contribuindo para a economia local e minimizando os impactos sobre o ambiente (Miliūtė & Staniskis, 2010). A maior porcentagem de resíduos domésticos gerados diariamente é de origem orgânica, e o descarte inadequado destes resíduos resulta em problemas

sanitários e ambientais, propiciando o surgimento de um ambiente para parasitas e vetores de doenças, além de contaminação das águas drenadas e emissão de odores e gases poluentes (Kumar et al., 2009; Turan et al., 2009). Sendo assim, uma das principais problemáticas da atualidade é a geração de resíduos de diversas origens. A principal dificuldade é definir um consenso de destino dos resíduos produzidos durante as atividades urbanas, como os resíduos sólidos orgânicos, que não são passíveis de reciclagem, e o lodo ativado, resultante do tratamento de esgotos e efluentes. A disposição a céu aberto e em aterros sanitários e a incineração são técnicas bastante agressivas ao meio ambiente e à saúde pública, além de onerosas, fazendo da prática um procedimento não sustentável.

A decomposição de resíduos orgânicos em aterro sanitário ocasiona a emissão de gases poluentes, sendo necessária sua remoção do aterro, seguida de tratamento (Wagner & Arnold, 2008; Machado et al., 2009), necessitando, dessa forma, de técnicas de estabilização da matéria orgânica, a fim de minimizar os impactos sobre o solo. Uma alternativa para a redução de custos de transporte de resíduos até o local de aterro sanitário é o investimento em centros de triagem e compostagem de resíduos orgânicos, bem como o estímulo da prática de compostagem doméstica (Adhikari et al., 2010).

No Brasil, houve uma evolução no que diz respeito à destinação dos resíduos a aterros sanitários em detrimento aos lixões a céu aberto, passando de 17,3% municípios em 2000 para 27,7% municípios que encaminhavam seus resíduos aos aterros sanitários em 2008. Os programas de coleta seletiva

de resíduos sólidos aumentaram de 58, registrados em 1989, para 451 no ano de 2000, alcançando o índice de 994 no ano de 2008 (IBGE).

2.2 Lodo Ativado de Esgoto

Biossólidos são produtos orgânicos resultantes do tratamento de esgotos, que podem ser reciclados ou reutilizados, desde que não acarrete prejuízos ambientais ou para a saúde humana e de animais (USEPA, 1995).

O processo de tratamento de esgoto visa separar a parte sólida da líquida, e o resultado deste processo é a produção de uma massa - o lodo de esgoto - constituída de matéria orgânica, nutrientes e outros contaminantes potencialmente prejudiciais. Este material é gerado à medida que o processo torna-se eficiente e ágil, ou seja, quanto maior for a quantidade de efluente tratado (Corrêa et al., 2007).

A utilização como fertilizante agrícola é a alternativa mais promissora para o gerenciamento do lodo produzido, em virtude das vantagens econômicas, ambientais e sanitárias, desde que a qualidade do produto esteja ajustada aos critérios políticos pré-estabelecidos (Andreoli et al., 2000). A agricultura e a indústria podem se beneficiar da produção de lodo para fins agrícolas, como condicionador de solos ou recuperação de áreas degradadas, uma vez que esses fertilizantes orgânicos tornam-se produtos de baixo custo e a indústria economiza com as despesas com aterros e outras formas de disposição final para o resíduo. Dessa forma oportuniza-se um destino para a reciclagem de biossólidos (Capizzi-Banas et al., 2004). O uso de biossólidos e compostos na agricultura pode melhorar a produtividade do solo, bem como

suas propriedades físicas, pois contribui com a incorporação de material orgânico e nutrientes.

Contudo, o uso extensivo de biossólidos na agricultura pode acarretar problemas ambientais, com a lixiviação de nutrientes como o nitrogênio e o fósforo através do solo para corpos d'água, se não tratados ou estabilizados adequadamente (Korentajer, 1991; Nikolaidis et al., 1999; Binder et al., 2002; Elliot et al., 2002). O material orgânico que constitui os biossólidos contribui para a retenção de água no solo, melhora a estrutura argilosa das partículas, reduzindo a atividade de erosão, e aumenta o conteúdo orgânico, que facilita as atividades biológicas e físico-químicas no solo (Scott & Ahlstrom, 1985).

O lodo de esgoto pode sofrer alterações na sua composição, de acordo com a origem de seus efluentes, visto que as instalações de tratamento de efluentes podem, muitas vezes, receber fontes industriais em escoamentos públicos e residenciais. Daí a importância do reconhecimento e identificação das substâncias e constituintes presentes no material para localizar a fonte liberadora de resíduos químicos. A carga de metais pesados presente no lodo de esgoto compromete sua qualidade e, conseqüentemente, gera custos elevados no que diz respeito às alternativas de destino final do material (Ferreira & Andreoli, 1999).

De maneira que o lodo seja resultado do tratamento de esgotos cloacais, é comum a presença de micro-organismos e parasitas em sua constituição, como bactérias, protozoários, helmintos e também vírus. A constituição microbiana diz respeito à qualidade do produto, de forma a

oferecer riscos de contaminação, comprometendo o aproveitamento e a utilização deste por questões de saúde pública, se não tratado corretamente ou se a carga patogênica não for minimamente combatida e reduzida (Corrêa et al., 2007).

Os produtos finais de biossólidos são classificados de acordo com a constituição e carga microbiana presentes no material. Pertencem à “Classe A” os biossólidos que se apresentam livre de carga patogênica, ou, ainda, respeitando limites quantitativos representativos de *Escherichia coli*, *Salmonella* sp., ovos viáveis de helmintos e vírus entéricos; e à “Classe B” os produtos de biossólidos cujos limites excedem os permitidos por legislação competente local (USEPA, 1999; CONAMA, 2006). O produto de Classe “A” requer monitoramento e confirmação da padronização dos índices de coliformes fecais, vírus entéricos, ovos de helmintos e *Salmonella* sp. (Viau & Peccia, 2009), e, por essa razão, a aplicação do produto de Classe “B” no solo requer manejo para a conversão do produto em Classe “A” a fim de reduzir a carga patogênica e tornar rígidos os critérios e cuidados com a exposição pública, já que a aplicação de material de Classe “A” não apresenta restrições.

2.3 Compostagem

A técnica da compostagem tem sido utilizada pelo homem para fins de reciclagem de resíduos sólidos orgânicos, com objetivo de homogeneizar, estabilizar e reduzir o volume de resíduos gerados e, ao mesmo tempo, controlar a disseminação de doenças desencadeadas por vetores de transmissão durante o processo de decomposição. Dessa forma, a

compostagem é empregada no tratamento de resíduos orgânicos como restos de alimentos, resíduos vegetais e agrícolas e fezes de animais, sendo convertidos em um produto estável, com aplicabilidade como insumo agrícola e corretores de solos (Ceustermans et al., 2007), além de ser amplamente utilizada para a sanitização do lodo resultante das estações de tratamento de esgotos e efluentes (Sharma et al., 1997; Hernández et al., 2006). A técnica apresenta ainda a propriedade de evitar a produção de odores da putrefação e decomposição acelerada do resíduo (Fukumoto & Inubushi, 2009).

A compostagem pode ser definida por um processo através do qual comunidades microbianas realizam o processo de decomposição da matéria orgânica, convertendo-a em nutrientes inorgânicos e outras macromoléculas orgânicas recalcitrantes, como o ácido húmico (Hsu & Lo, 1999). A compostagem é um processo aeróbio, que oxida a matéria orgânica, requerendo espaços aerados para a circulação de gases. A umidade, temperatura e pH são fatores que, assim como o oxigênio, influenciam diretamente no desenvolvimento do processo, determinando as comunidades microbiológicas que constituirão a ecologia de decomposição da leira de compostagem (Haug et al., 1993; Arthurson, 2008; Rebolledo et al., 2008). A temperatura é o principal fator que determinará a representatividade de espécies microbianas da fase de degradação, sendo elas a mesofílica e termofílica (Rebolledo et al., 2008). Alguns gêneros de bactérias são comumente envolvidos em processos de compostagem, como *Micrococcus* sp., *Staphylococcus* sp. e *Bacillus* sp. (Hassen et al., 2002); *Bacillus* sp., *Escherichia* sp., *Enterobacter* sp. e *Pseudomonas* sp. (Hoffmeister, 2002);

Enterobacter sp., *Escherichia* sp., *Bacillus* sp. e *Pseudomonas* sp. (Symanski, 2005); *Bacillus* sp., *Streptomyces* sp., *Actinomyces* sp. e *Pseudomonas* sp. (Rebollido et al. (2008); *Escherichia* sp. e *Salmonella* sp. (Shepherd Jr. et al., 2009).

Quando o lodo ativado de esgoto é adicionado ao processo de compostagem, os micro-organismos presentes na leira são também responsáveis pela degradação da matéria orgânica do lodo, cuja atividade metabólica resulta no aumento da temperatura, podendo atingir 60°C ou valores superiores, porém de forma controlada por umidificação e/ou revolvimento (Pederson, 1983; Straub et al., 1993). A temperatura da leira reduz-se à medida que a fonte de carbono exaure e a matéria orgânica é mineralizada a CO₂ e H₂O, e parte do carbono permanece durante a produção de substâncias húmicas (Straub et al., 1993).

Considerando que a compostagem seja empregada durante o processo de degradação e sanitização do lodo ativado de esgoto, a temperatura e o tempo de exposição do material são fatores cruciais no que diz respeito à redução e eliminação de organismos patogênicos presentes no início do processo (Straub et al., 1993). As interações ecológicas competitivas interespecíficas também colaboram para a eliminação de muitos micro-organismos patogênicos (Arthurson, 2008), incluindo a produção de metabólitos secundários por certas espécies de micro-organismos.

Finalmente, o composto somente estará apto a ser aplicado em solos se a temperatura do material equivaler-se à temperatura ambiente, ou seja, estiver cessada a atividade metabólica de degradação microbiana, e a

relação carbono/nitrogênio (C/N) estiver equilibrada em valores em torno de 10. O composto imaturo pode provocar a mobilização de nutrientes no solo, além de torná-lo um ambiente redutor devido ao consumo de O₂ pela população microbiana do solo para o suprimento da continuidade do processo degradativo da matéria orgânica, que ainda não foi concluída (Jahnel et al., 1999).

Diversos trabalhos foram desenvolvidos na abordagem de caracterização microbiológica do processo de compostagem na equipe de pesquisa (Hoffmeister, 2002; Oliveira, 2003; Salamoni, 2005; Symanski, 2005; Rodrigues, 2006; Salamoni, 2010; Oliveira, 2010), tornando as informações relevantes para a compreensão do processo e contribuindo para a aplicação futura dos resultados.

2.3.1 Fatores que Influenciam no processo de degradação

2.3.1.1 Temperatura

O aumento da temperatura durante o processo de compostagem é indicativo da atividade metabólica dos micro-organismos envolvidos no processo de degradação. Dessa forma, a temperatura é determinante sobre a diversidade de micro-organismos envolvidos ao longo do processo, sendo também um parâmetro de velocidade de decomposição da matéria orgânica (Hassen et al., 2002) e indicadora da qualidade e caracterização do processo (Burge et al., 1981; Fernandes & Silva, 1999; Bueno et al., 2008).

O processo de compostagem divide-se basicamente em três etapas: a fase mesofílica, durante os primeiros dias do processo; a fase termofílica, que perdura por mais tempo e que apresenta intensa atividade metabólica; e novamente a fase mesofílica, que indica o término do processo de degradação, com a redução da atividade degradadora. A fase termofílica, além de ser responsável por maior parte da atividade de decomposição, tem relevância no processo de desinfecção do material, pela capacidade de eliminar os micro-organismos patogênicos (Palmisano et al., 1996; Salter & Cuyler, 2003). No entanto, a eficiência da sanitização depende do tempo de exposição do material a determinadas temperaturas e da uniformidade da temperatura mínima de inativação por toda a leira (Strauch, 1991; Hay, 1996; Arthurson, 2008). Fernandes & Silva (1999) consideram primordial o monitoramento e controle de temperatura na faixa de 55-65°C, a fim de intensificar a atividade de degradação microbiana do substrato, sendo que temperaturas maiores comprometem o desempenho microbiano e a perda da qualidade do processo.

As bactérias entéricas sofrem redução em contagem durante a fase termofílica, mas podem ressurgir ao final do processo ou mesmo após a aplicação do composto no solo (Pietronave et al., 2004), indicando provável insuficiência da exposição do material em compostagem a altas temperaturas. Por outro lado, o tratamento termofílico de resíduos sólidos é considerado eficiente na redução de organismos patogênicos e entéricos, comparado a outros tratamentos sem liberação de calor, como a digestão anaeróbica de

lodo e outros tratamentos de resíduos que fazem uso de produtos químicos (Gantzer et al., 2001; Sahlström et al., 2004).

2.3.1.2 Umidade

A presença de água é fundamental para a ocorrência das reações bioquímicas. O teor de umidade do material em processo de decomposição é ideal na faixa de 50 – 60%, sendo necessária a manutenção da umidade através da irrigação com água. Elevados teores de água fazem com que o material torne-se saturado, ocupando os espaços aerados da leira, propiciando o surgimento de zonas anóxicas, e o processo de degradação passa a atuar em condições de anaerobiose. Por outro lado, menores teores de umidade (inferior a 40%) limitam e retardam o processo de decomposição (Fernandes & Silva, 1999).

A aplicação da técnica da compostagem para o tratamento de lodo ativado misturado a outros materiais é também uma alternativa para promover a desidratação do lodo devido às altas temperaturas atingidas no interior da leira, ao mesmo tempo em que o lodo tem a propriedade de umedecer o material em processo de decomposição, já que seu conteúdo apresenta alto teor de água (Gomes et al., 2001).

2.3.1.3 pH

O início da atividade de compostagem é marcado por uma redução do pH, variando de 5,5 a 6,0 devido à produção de ácidos orgânicos resultantes da degradação de moléculas simples (Fernandes & Silva, 1999).

Com o início da fase termofílica ocorre a degradação de proteínas e compostos nitrogenados, com liberação de amônia, resultando em um aumento do valor do pH, mantendo-se alcalino ao longo do processo (Sanchez-Monedero et al., 2001).

O lodo de esgoto apresenta um pH em torno de 7,0, não havendo, dessa forma, interferência ou alterações na estrutura físico-química do material durante o processo de compostagem (Fernandes & Souza, 2001).

2.3.1.4 Aeração

Sendo a compostagem um processo aeróbio, o fornecimento de O₂ ao sistema é imprescindível à atividade microbiana para que haja a oxidação da matéria orgânica. Durante o início do processo, a atividade de decomposição é intensa e a demanda de O₂ é elevada. Se a leira de compostagem não estiver suficientemente aerada, a degradação do material torna-se comprometida, podendo o sistema atuar em anaerobiose, ocasionando a acidificação do meio e conseqüente alteração do pH e reduzindo a velocidade de decomposição, sendo assim um fator limitante do processo (Chang et al., 2006).

A constituição pastosa do material do lodo dificulta a penetração e circulação de ar na leira. Os resíduos orgânicos da compostagem apresentam granulometria grosseira, com a vantagem de manter os espaços aerados e funcionando como agente estruturante do sistema, equilibrando e favorecendo a penetração de O₂ no material em decomposição (Fernandes & Souza, 2001). A falta de aeração no material pode ocasionar o aumento da temperatura

interna da leira, prejudicando o metabolismo bacteriano e comprometendo o processo de degradação (Pereira Neto, 1996). A aeração ainda tem papel na emanção de odores que são produzidos durante a decomposição do material (Fernandes & Silva, 1999). Assim, o processo de revolvimento da leira é fundamental para promover a aeração do material.

2.3.1.5 Nutrientes – Relação C/N

A relação carbono/nitrogênio é um padrão utilizado para mensurar a taxa de decomposição ao longo de um processo, assim como a estabilidade do material curado (Haug, 1993; Kianirad et al., 2010). Em relação aos nutrientes requeridos para o crescimento celular, os micro-organismos necessitam majoritariamente de carbono como substrato de oxidação e obtenção de energia, e de nitrogênio para a síntese de proteínas (Pereira Neto, 1987). Dessa forma, a relação carbono/nitrogênio (C/N) é considerada o fator que melhor caracteriza o equilíbrio de degradação dos substratos.

Há diversos valores estipulados para a relação C/N ideal durante o início do processo de degradação, como 25/1 (De Bertoldi et al., 1983); 30/1 (Fernandes & Souza, 2001); 30/1 a 40/1 (Pereira Neto, 1986). Tanto a carência de carbono como a de nitrogênio limitam a atividade microbológica. Se a relação C/N for muito baixa, ou seja, grande quantidade de nitrogênio presente na composição do material, há uma tendência de ocorrer perda de nitrogênio através da volatilização da amônia, principalmente sob temperaturas acima de 60°C (Osada et al., 2000; Ogunwande et al., 2008). Por outro lado, se a relação C/N for elevada, pode não haver disponibilidade de nitrogênio para a

síntese de proteínas. Ao final do processo de compostagem, a relação C/N permanece na média de 10, devido às perdas de carbono durante o processo respiratório, com emissão de CO₂. (Fernandes & Souza, 2001).

O lodo ativado de esgoto é um produto residual rico em nitrogênio, enquadrando-se perfeitamente no manejo através do processo de compostagem, cuja relação C/N apresenta-se em torno de 30/1, balanceando, enfim, a relação C/N final ideal, em torno de 20 a 30 (Fernandes & Souza, 2001; Zmora-Nahum et al., 2007).

2.4. Presença de Metais Pesados

Os metais pesados são elementos que apresentam peso específico maior que 6g.cm⁻³ ou número atômico maior que 20. Constituem rochas e solos, onde normalmente ocorrem em baixas concentrações, não representando em condições naturais riscos ao homem, animais e plantas (Costa et al., 2004). São ubíquos na maioria dos materiais e persistentes como poluentes ambientais que são introduzidos no ambiente por atividades antropogênicas, minerações e fundições, irrigação e outras fontes de resíduos industriais.

A presença de metais pesados no ambiente representa um risco a longo prazo, pois não são biodegradáveis e apresentam uma tendência à bioacumulação, permanecendo ao longo do tempo nos diversos níveis tróficos (Koby et al., 2005; Liao et al., 2008). Sua introdução no ambiente pode induzir diversas alterações relacionadas às comunidades microbianas, bem como em suas atividades biológicas, pois podem exercer ação inibitória através do

bloqueio de grupos funcionais essenciais, deslocamento de íons metálicos, ou modificações da conformação ativa de enzimas biológicas (Ryan et al., 2005). Alguns metais são micronutrientes, como o cromo, níquel, ferro, manganês, cobalto e zinco, sendo essenciais às reações bioquímicas dos micro-organismos, e ditos elementos traços (Bruins et al., 2000). Estão envolvidos em processos redox, como estabilizadores de moléculas, co-fatores de reações enzimáticas e na regulação de balanço osmótico (Doelman et al., 1994; Hussein et al., 2005).

Em contrapartida, muitos dos metais não têm função biológica, sendo prejudiciais aos micro-organismos mesmo em baixas concentrações, como o cádmio, mercúrio, arsênio e chumbo, embora a toxicidade dos metais em geral seja desencadeada em altas concentrações, seja o metal um elemento essencial ou não (Nies, 2004; Leedjäv et al., 2009; Rathnayake et al., 2009). Os metais pesados interferem na atividade metabólica e no crescimento das populações microbianas causando impactos sobre a diversidade microbiológica (Roane et al., 2000), bem como danos à estrutura da membrana celular e do DNA, alteração da especificidade de enzimas e rompimento de funções celulares. A toxicidade também ocorre por deslocamento de metais essenciais de seu sítio ligante em proteínas, alterações na estrutura de conformação do DNA, ou interferindo em fosforilações oxidativas e no balanço osmótico (Bruins et al., 2000). A sobrevivência dos micro-organismos em solos poluídos com metais pesados está intimamente relacionada às adaptações estruturais, fisiológicas e genéticas, bem como na especiação dos metais para formas menos tóxicas (Wuertz & Mergeay, 1997).

Compostos provenientes de biossólidos fornecem ao solo nutrientes essenciais, como nitrogênio, fósforo, cálcio e potássio (Oberhaster, 1991) – e nutrientes traço – boro, cobre, ferro, magnésio, níquel e zinco – fundamentais ao crescimento das plantas. Em altas concentrações, esses elementos comprometem a produtividade das plantas, devido ao estresse gerado pela toxicidade aos vegetais, acarretando alterações na produção e conteúdo de fibras, lipídios, proteínas e amido (Garrido et al., 2005).

Os resíduos sólidos urbanos de origem orgânica, que são recolhidos diariamente pelos setores de limpeza urbana, não apresentam exclusivamente material orgânico em sua composição, podendo conter consideráveis concentrações de poluentes químicos, a citar os metais pesados. Diversos materiais presentes juntamente ao resíduo orgânico portam algum tipo de metal pesado, como baterias em geral (mercúrio, cádmio e zinco), tinta de papeis impressos (cromo, chumbo e cádmio); e plásticos, com a presença de cádmio (Sharma et al., 1997), além da presença de peças de utensílios metálicos com alto teor de alumínio.

O volume de material orgânico é reduzido à proporção que o processo de compostagem progride, porém, como os metais pesados não são biodegradados, a concentração desses elementos por volume sólido de composto aumenta em relação à concentração inicial presente nos resíduos originalmente coletados (Pereira Neto, 1996).

Os metais pesados presentes no lodo são oriundos das águas pluviais de escoamentos, efluentes industriais e rejeitos domésticos. O lodo de estações de tratamento de esgoto que recolhem esgotos de origem doméstica

contém concentrações relativamente baixas de metais pesados, mas é comum ocorrer ligações clandestinas de pequenas fontes de contaminações industriais durante o recolhimento de efluentes, que adicionam certa quantidade de metais à água residuária de produção industrial (Jordão & Pessoa, 1995).

2.5. Resistência a Antimicrobianos e Metais Pesados

Os micro-organismos desenvolveram mecanismos para contornar o estresse por metais pesados, em resposta à pressão seletiva desses elementos no ambiente. Várias vias de resistências são conhecidas, como transporte ativo de substâncias, bombas de efluxo, alteração da sensibilidade a íons metálicos em sítios específicos, extrusão por barreiras de permeabilidade, sequestro de metais pesados complexados e especiação de metais (Bruins et al., 2000; Levy, 2002; Nies, 2003). O mecanismo mais comum é a extrusão de íons metálicos da célula por transporte ativo, embora as reações de oxidação, redução, metilação e desmetilação também desempenhem eficiência durante a resposta ao estresse (Leedjårv et al., 2008). Teitzel & Parsek (2003) consideram a bomba de efluxo o sistema mais comum dentre os mecanismos de resistência bacteriana.

Há evidência de correlação entre tolerância a metais pesados e resistência a antimicrobianos. Assim, é vantajoso, em termos ecológicos, que um micro-organismo possua ou adquira resistência a antimicrobianos e metais pesados, simultaneamente, em benefício de sua adaptação e sobrevivência em um ambiente contaminado (Lawrence, 2000; Spain & Alm, 2003) As populações microbianas evoluem rapidamente em direção a uma resistência

fenotípica por meio de mutação de genes alvo que compartilham mais de um determinante de resistência (Thelwell et al., 1998). A resistência a antimicrobianos e metais pesados ocorre simultaneamente tendo em vista que os genes que expressam os fatores de resistência estão inseridos no mesmo elemento genético, sendo geralmente um plasmídeo, transposon ou integron (Frost et al., 2005; Venner et al., 2009). Plasmídeos são os mais conhecidos por estarem relacionados aos mecanismos de resistência bacteriana (Sobecky, 1999).

A resistência a antimicrobianos inclui mudanças regulatórias e genéticas, envolvendo majoritariamente atividades fisiológicas como bombas de transporte de membrana que realizam a extrusão de antimicrobianos. Mudanças geneticamente codificadas são mais complexas, já que podem conferir altos níveis de resistência a específicos ou múltiplos agentes e porque podem persistir e ser transferidas entre bactérias durante a divisão celular ou horizontalmente, por mecanismos de transferência gênica (Silbergeld et al., 2008). A resistência a antimicrobianos é uma consequência inevitável de adaptação evolutiva dos micro-organismos, e o uso abusivo de drogas antimicrobianas tem levado ao rápido aumento de resistência tanto em micro-organismos patogênicos como em comensais (Silbergeld et al., 2008). Fato esse que corrobora a realidade do aumento progressivo de surtos infecciosos de grande complexidade de tratamento e longos períodos de terapia entre a população.

2.6. Qualidade Microbiológica do Composto - Resolução nº375 de 29 de Agosto de 2006 do Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA

A Resolução 375/2006 do CONAMA, coordenada pelo Ministério do Meio Ambiente, determina, dentre outros, parâmetros microbiológicos para a utilização de lodo de esgoto como insumo agrícola, uma vez que o lodo gerado nas estações de tratamento de esgoto apresenta consideráveis cargas de micro-organismos patogênicos, oferecendo, portanto, potencial risco de saúde pública e de impactos no ambiente. Por outro lado, o lodo de esgoto apresenta altas concentrações de nutrientes e matéria orgânica, trazendo benefícios ao solo e à agricultura, além do que a disposição do material em solos é uma alternativa de baixo custo e vantajosa em relação aos outros destinos de tratamento ou estabilização.

Sendo assim, o lodo de esgoto a ser encaminhado para a disposição em solos tem de ser classificado como material de Classe "A", obedecendo aos seguintes critérios:

- Menos de 10^3 NMP de coliformes fecais por grama de sólidos totais
- Ausência de *Salmonella* sp. em 10 gramas de sólidos totais
- Menos de 0,25 ovos viáveis de helmintos por grama de sólidos totais
- Menos de 0,25 Unidades Formadoras de Placa (UFP) de vírus entéricos por grama de sólidos totais

2.6.1 *Escherichia coli* e *Salmonella* sp.

Enteropatógenos como *Escherichia coli* O157:H7 e *Salmonella enterica* sorovar Typhimurium estão diretamente relacionados com o consumo de vegetais crus (Hilborn et al., 1999; Sivapalasingam et al., 2004), entre outras fontes de alimentos de origem animal.

Dentro do grupo de patógenos animais e humanos, a presença de representantes dos gêneros *Salmonella* sp. e *Shigella* sp. é considerada um dos maiores problemas de qualidade de higiene do composto (Hussong et al., 1985; Yanko, 1995; Hay, 1996). Estes contaminantes podem causar problemas de saúde para os trabalhadores que manipulam o material compostado, bem como para o consumidor de produtos vegetais que foram submetidos a tratamento com fertilizantes compostados (De´portes et al., 1995; Islam et al., 2004). Estes organismos têm uma forte capacidade de adaptação às mudanças ambientais, com elevados índices de sobrevivência, e podem ser relativamente resistentes a técnicas de estabilização de lodo empregadas comumente (Sahlström, 2003).

Os riscos à saúde descritos para estes patógenos, em termos de espalhamento do lodo de esgoto em solos cultiváveis, estão relacionados com a aplicação de lodo sem tratamento prévio nem monitoramento, bem como a capacidade dos patógenos manterem as propriedades de virulência durante a estocagem e distribuição no solo destinado a usos agronômicos (Jones, 1980; Kearney, 1983).

Portanto, o processo de compostagem deveria garantir, por meio do tratamento termofílico, a eliminação de patógenos animais e humanos que podem estar presentes no material inicial que foi submetido a tratamento

(Ceustermans et al., 2007). A sobrevivência em baixos números de bactérias entéricas, como *Salmonella* sp., durante o processo de compostagem, também foi descrita como a possibilidade de ressurgimento durante a estocagem do produto final (Russ & Yanko, 1981; Pietronave et al., 2004). Há de se considerar, ainda, a possibilidade de que contaminações externas podem também surgir de várias fontes, como de pássaros e fezes de roedores (Fenlon 1985; Pietronave et al., 2004). Dessa forma, além do monitoramento cauteloso durante o processo de compostagem, a fim de garantir a qualidade do processo de sanitização, a estocagem do produto final também tem que ser monitorada, visto ser esta outra oportunidade de recontaminação do material.

2.6.2. Ovos viáveis de helmintos

Das classes de patógenos presentes em biossólidos, ovos de helmintos são os mais resistentes que perduram em ambientes após a deposição de resíduos orgânicos. Ovos do gênero *Ascaris* sp. têm as mais altas taxas de resistência e sobrevivência dentro de todas as condições de tratamento (Feachem et al., 1983; Gaasenbeek & Borgsteede, 1998; WHO, 2006; Koné et al., 2007; Pecson et al., 2007), mesmo a altas temperaturas (Pereira-Neto, 2001), graças a adaptações morfológicas (Andreoli et al., 2001). A eficiência de inativação de ovos de *Ascaris* sp. varia de acordo com a temperatura utilizada durante o tratamento do lodo (20 – 80°C), sendo assim, a temperatura máxima atingida e o tempo de exposição do material são criticamente importantes (Feachem et al., 1983; Briancesco et al., 2008).

A concentração residual de ovos de helmintos em bioossólidos é dependente da prevalência e intensidade entre índices de infecção e perfil da população da qual o lodo de esgoto é coletado, bem como de outros vários fatores que influenciam na sobrevivência do parasita. A temperatura, secagem e luz ultravioleta são os principais fatores que influenciam a sua morte. Dados da literatura revelam que ovos de helmintos podem sobreviver de 10 a 12 meses após a evacuação e inserção em sistemas de esgoto em climas tropicais (Larsen & Roepstorff, 1999; Sanguinetti et al., 2005).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Área de Campo

A leira de compostagem, objeto desse estudo, foi montada por funcionários da Usina de Triagem de Resíduos da Lomba do Pinheiro, no município de Porto Alegre, RS, em Junho de 2009. Na usina existe instalada uma esteira onde transbordam os resíduos urbanos coletados diariamente, na qual é realizada a triagem de resíduos recicláveis, pela equipe da cooperativa de separação de resíduos, e a seleção de resíduos orgânicos destinados às leiras de compostagem.

A constituição da leira foi de 11 toneladas de resíduos orgânicos domiciliares, recolhidos diariamente pelo Departamento Municipal de Limpeza Urbana (DMLU); seis toneladas de podas vegetais, originárias de cortes de árvores do local; e quatro toneladas de lodo ativado de esgoto, oriundo do tratamento de efluentes de esgoto do Departamento Municipal de Água e Esgoto (DMAE).

3.2 Monitoramento e coletas

A leira de compostagem foi monitorada, e as coletas realizadas em intervalos de aproximadamente 15 dias, entre Junho de 2009 e Janeiro de

2010. A manutenção da umidade durante o processo foi realizada exclusivamente pelas precipitações pluviais. O revolvimento da leira ocorreu de 2 a 3 vezes por semana, por meio de uma retroescavadeira.

No dia da coleta, era determinada a temperatura média da leira obtida a partir da leitura da temperatura do ápice, centro e base da leira. As coletas das amostras foram realizadas retirando-se porções de material em processo de compostagem de três pontos (ápice, centro e base da leira), para garantir a máxima diversidade de espécies de bactérias, totalizando 1Kg de amostra coletada. O material foi armazenado em recipientes assépticos e conduzido até o Laboratório de Microbiologia para processamento do material.

3.3 Processamento

O material da leira de compostagem já se mostrara particulado desde o início do processo, visto que os resíduos orgânicos domiciliares permaneceram estocados por cerca de 10 dias antes da montagem da leira de compostagem, dando início, assim, ao processo de decomposição. As amostras das coletas foram processadas misturando-se 10 gramas de amostra de resíduo em 90mL de água destilada estéril. A solução foi homogeneizada sob agitação a 120 rotações por minuto (rpm), à temperatura de 30°C durante 30 min. A partir da primeira diluição, seguiram-se as diluições seriadas, utilizando-se a quarta, quinta e sexta diluições para os testes colimétricos e semeaduras em placas de Petri com meios de cultura seletivos e não seletivos.

3.4 Análises físico-químicas

As análises físico-químicas do composto, como a relação carbono nitrogênio (C/N) e quantificação de metais pesados (mg.Kg^{-1} de composto), foram realizadas na primeira e última coleta do processo de compostagem, bem como na análise do lodo ativado de esgoto. Os metais analisados foram: cobre, zinco, cádmio, cromo, níquel, chumbo, molibdênio, selênio, arsênio, bário e mercúrio. Os testes foram realizados no Laboratório de Análises de Solos da Faculdade de Agronomia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, e estão apresentados em anexo.

3.5 Colimetria

O Teste colimétrico foi realizado pela técnica da fermentação de tubos múltiplos com seriação de cinco tubos (APHA, 1998), determinando-se o número mais provável (NMP) de coliformes totais e coliformes termotolerantes (padronizado por *Escherichia coli*). Houve variações quanto ao fator de diluição das amostras no decorrer do processo de compostagem a ser utilizada nos testes colimétricos. Dessa forma, no início do processo, a sexta diluição foi utilizada e, ao final do processo, a quarta diluição. Para o teste colimétrico do material de lodo ativado de esgoto, foi utilizada a terceira diluição.

3.6 Contagem de bactérias heterotróficas

A contagem de bactérias heterotróficas foi realizada em placas de PCA após o período de incubação de 24-48h a 37°C. Foram consideradas para a contagem as placas que apresentaram crescimento de colônias bacterianas entre 30-300 unidades formadoras de colônias (UFC).

3.7 Semeadura e isolamento bacteriano

As diluições 10^{-4} , 10^{-5} e 10^{-6} das amostras processadas foram semeadas pela técnica de semeadura em superfície, em placas de Petri contendo meios seletivos: ágar eosina azul de metileno (EMB), ágar cetrimide, ágar *Salmonella Shighella* (SS) e ágar amido caseína; e não seletivos: ágar triptona de soja e ágar padrão para contagem (PCA). As placas foram incubadas por 24-48 horas a 37°C, com exceção das placas com ágar amido caseína, incubadas por 5 a 10 dias a 30°C. As semeaduras foram realizadas em triplicata.

As colônias bacterianas obtidas das diferentes placas, com diferentes meios, foram selecionadas para o isolamento e purificação. A seleção foi aleatória, obtendo uma colônia por quadrante de placa, que foram isoladas e purificadas através de esgotamento em placa, no mesmo meio de cultura de origem. Após o esgotamento, as colônias foram submetidas à coloração de Gram, a fim de confirmar a pureza, morfologia e arranjos das células, bem como classificar os isolados em Gram positivos e Gram negativos. Os isolados foram crescidos em caldo nutriente a 37°C por 24h e armazenados em criotubos, com 20% de glicerol, sob temperatura de -20°C.

3.8 Teste de antibiograma

Os antibiogramas foram realizados pela técnica de difusão em ágar (Kirby-Bauer). Durante a realização dos testes, os isolados foram inoculados em caldo triptona de soja (TSB) a 37°C por 24h, resuspendendo a turbidez da

escala 0,5 de Mac Farland (aproximadamente $1,5 \times 10^8$ UFC.mL⁻¹). Suabes estéreis foram embebidos nas culturas, retirando-se o excesso de líquido, e semeados uniformemente em placas contendo ágar Müller Hinton. Os discos de antimicrobianos foram depositados de forma equidistante sobre a superfície do meio inoculado. Os antimicrobianos utilizados foram: nitrofurantoína (NIT 300µg), norfloxacin (NOR 10 µg), amoxicilina + ácido clavulônico (AMC 20/10 µg), ampicilina (AMP 10 µg), tetraciclina (TET 30 µg), estreptomicina (EST 10 µg), ciprofloxacina (CIP 5 µg), ceftriaxona (CRO 30 µg), cefalotina (CFL 30 µg), cefoxitina (CFO 30 µg), sulfametoxazol + trimetoprim (SUT 25 µg), imipenem (10 µg), cloranfenicol (30 µg) e gentamicina (10 µg). As placas foram incubadas a 37°C por 18-24h e, após este período, os halos de inibição foram medidos. A interpretação das zonas de inibição foi realizada de acordo com a tabela de valores de resistência e antibiogramas da *Clinical and Laboratory Standards Institute* / 2007. As cepas controle utilizadas foram *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* ATCC 25922 e *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

3.9 Teste de concentração inibitória mínima de metais pesados

Os testes de concentração inibitória mínima biocida de metais pesados (CIM) foram conduzidos utilizando a técnica de microdiluição em microplacas de 96 poços, segundo Giovanella et al. (2010), com modificações. Os isolados foram incubados em caldo TSB a 37°C por 24h, estabelecendo o parâmetro de turbidez da escala 0,5 de Mac Farland. Em cada poço foi adicionado 97,5% de caldo TSB (195µL) com diferentes concentrações de

soluções dos sais metálicos, e 2,5% do inóculo (5 μ L). As concentrações metálicas foram preparadas a partir de soluções-estoque prontamente diluídas em água destilada estéril (10g.L⁻¹). Os sais metálicos utilizados foram dicromato de potássio (K₂Cr₂O₇), com concentrações de 0,5 a 5g.L⁻¹, sulfato de cobre pentahidratado (CuSO₄.5H₂O), de 1 a 10g.L⁻¹, sulfato de zinco (ZnSO₄), de 1 a 6g.L⁻¹ e nitrato de chumbo [Pb(NO₃)₂], com concentrações salinas no intervalo de 0,1 a 3g.L⁻¹. Esses metais foram os que apresentaram as maiores concentrações presentes nas amostras de compostagem, conforme laudo (ANEXO).

Para preparar as diferentes concentrações salinas a serem distribuídas nos poços, foram preparadas as soluções de caldo de cultura + solução salina em tubos de ensaio de 10mL, utilizando o cálculo

$$C1.V1 = C2.V2, \text{ onde:}$$

C1 = concentração do estoque de solução salina (10g.L⁻¹);

V1 = volume de solução salina a ser misturada ao caldo de cultura;

C2 = concentração final de sal metálico no caldo de cultura;

V2 = volume final de solução salina + caldo de cultura (10mL).

Os experimentos foram conduzidos em triplicata, sendo preparados poços com concentrado salino e com inóculo (teste); meio sem concentrado salino e com inóculo (controle positivo de crescimento do inóculo); meio sem concentrado salino e sem inóculo (controle negativo de crescimento do inóculo) e meio com concentrado salino e sem inóculo (controle negativo). As placas foram incubadas a 37°C por 24-48h, e posteriormente uma alíquota de 20 μ L de cada poço com concentrado salino e cultura, porém sem turbidez, foram inoculadas em placas de ágar triptona de soja (TSA) e incubadas a 37°C por

24h. A concentração salina da qual não se obteve crescimento em placa foi considerada a concentração inibitória mínima biocida.

3.10 Identificação dos isolados

As bactérias isoladas durante o processo de compostagem foram identificadas por testes bioquímicos, segundo os sistemas de Krieg & Holt (1996) e Mac Faddin (2000).

O critério para selecionar as bactérias a serem identificadas foi as que apresentaram os maiores índices de resistência, quanto ao número de antimicrobianos. Para a identificação das bactérias resistentes a metais pesados, foram selecionadas as que mostraram valores mínimos estipulados (em mg.L^{-1}) de concentrações inibitórias mínimas (CIM) estabelecidas de acordo com cada solução salina. Assim, foram identificados os isolados que apresentaram CIM superior a 710 mg.L^{-1} de Cr^{3+} e 1040 mg.L^{-1} de Cu^{2+} .

Os principais testes bioquímicos empregados foram: crescimento em ágar Mac Conkey, OF, catalase, citocromo oxidase, SIM (produção de H_2S , indol e motilidade), vermelho de metila, Voges Proskauer, ágar tríplice açúcar e ferro, citrato, urease, redução de nitrato, fermentação e oxidação de glicose e lactose, hidrólise da esculina e hidrólise do amido.

3.11 Teste de viabilidade de ovos de helmintos

Os experimentos para verificar a presença de ovos de helmintos no composto, e sua viabilidade, foram realizados no Laboratório de Bacteriologia

da Divisão de Pesquisas do Departamento Municipal de Água e Esgoto (DMAE), em Porto Alegre, RS, seguindo o protocolo de Alves (2005).

A análise consistiu em pesar 50g do material sólido (biossólido), homogeneizando com solução tamponada (tampão fosfato) com tween 80 a 1%. Após a suspensão, o material foi filtrado para a remoção de partículas sólidas e mantido à temperatura ambiente por 12 horas para ocorrer a sedimentação. O sobrenadante foi retirado com auxílio de sifão, e diluído a 50% com água destilada, seguindo sedimentação por 3h. Após, o sobrenadante foi novamente retirado e o sedimento ressuspensionado por agitação com água (50mL), seguindo centrifugação a 660x g por 3 min. O sedimento resultante foi transferido para tubos de centrifuga (50mL) e submetido à centrifugação a 3.500 rpm por 3 min. Após, ressuspensionado com igual volume de solução tampão aceto-acética pH 4,5 e volume de éter correspondente ao dobro do volume de sedimento. Uma alíquota da amostra final foi retirada com uma pipeta de Pasteur, transferida para a câmara de McMaster e deixada em repouso por 5 min. para que os ovos flutuassem, atingindo superfície do retículo de contagem. A câmara foi observada ao microscópio em objetivas de 10x ou 40x para contagem dos ovos. A análise foi baseada na morfologia da membrana de ovos de helmintos, pois a integridade da membrana caracteriza o formato do ovo em viabilidade.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Análises físico-químicas: temperatura, pH e relação carbono /nitrogênio (C/N)

A leira de compostagem foi monitorada durante os meses de junho de 2009 a janeiro de 2010, período em que foram realizadas as coletas, em intervalos de aproximadamente 15 dias. Durante cada coleta, foram determinados a temperatura média da leira e o pH da amostra suspensa em água destilada estéril (1:10).

A temperatura média da leira de compostagem variou de 37,3 °C no início do processo de degradação, com aumento da temperatura a um valor máximo de 67,6°C durante a fase termofílica, e retornando ao valor inicial de 37°C ao final do processo, sendo esta a temperatura ambiente no dia da coleta (Tabela 1). A fase termofílica iniciou na coleta 2 (55°C), encerrando durante a coleta 6 (46°C). Durante esse período, está associada a intensa atividade de degradação da matéria orgânica disponível na leira, e à medida que as fontes de carbono exauriram, houve a redução do metabolismo microbiano, levando o sistema a entrar novamente na fase mesofílica, de maturação do composto.

TABELA 1. Temperatura média da leira e pH das amostras de cada coleta de resíduo em processo de compostagem

Coleta	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Temperatura da Leira (°C)	37,3	55	57	63,3	67,6	46	24	20	32	36,6	37
pH da Amostra em Suspensão	6,7	6,9	8,3	8,37	8,2	7,6	8,1	7,6	8,05	7,9	7,5

Os valores máximos de temperatura da fase termofílica do presente trabalho foram semelhantes aos obtidos por Ren et al. (2010), investigando compostagem de resíduos de espigas de milho com esterco suíno, e aos resultados de Cofie et al. (2009), de análises de compostagem de lodo de origem fecal com resíduos orgânicos. Temperaturas máximas de 60°C durante a fase termofílica de compostagem foram encontradas em resultados de Silva et al. (2009), também com processo de compostagem com esterco suíno. Kianirad et al. (2010) observaram valores de temperatura máxima abaixo de 55°C, em tratamentos comparativos de compostagem por altas e baixas temperaturas, indicando reduzido tempo de decomposição e maior eficiência de degradação pelo tratamento por altas temperaturas, com duração de 75 dias, em relação ao processo por baixas temperaturas, que teve duração de 105 dias. Portanto, o aumento da temperatura durante o processo de compostagem é consequência do metabolismo de decomposição microbiana, podendo ser considerado um parâmetro de eficiência do processo de degradação, desde que o sistema seja controlado.

Durante a fase inicial da compostagem foram registrados os menores valores de pH, entre 6,7 e 6,9, que estão relacionados ao intenso

processo de decomposição e ação de enzimas sobre moléculas simples, com produção de ácidos orgânicos (Hanajima et al., 2010). Resultados semelhantes foram encontrados em trabalhos de Kalamdhad & Kazmi (2009) e Yang et al. (2008). Os altos valores de pH foram observados durante a fase termofílica do processo. Estes valores podem estar relacionados com a baixa relação carbono/nitrogênio presente no lodo ativado, uma vez que as altas concentrações de compostos nitrogenados que estão presentes no material são degradados, provocando a volatilização de amônia e tornando o pH alcalino, processo este que também é influenciado pelas altas temperaturas do sistema termofílico. Yang et al. (2008) observaram que 56,7% da amônia dos constituintes nitrogenados do sistema volatilizou durante e após a fase termofílica do processo de compostagem. A relação carbono/nitrogênio e o valor de pH estão intimamente ligados, já que a amônia resultante da degradação de nitrogenados provoca aumento nos valores de pH.

O composto maturado apresentou pH na faixa de 7,5. Rebolledo et al. (2008) obtiveram o mesmo valor ao final do processo de compostagem de resíduos sólidos urbanos, e Chang et al. (2006) relataram valor de pH superior a 8 ao final do processo de compostagem de resíduos vegetais.

A relação carbono/nitrogênio é um indicativo das etapas de degradação em um sistema de compostagem, padronizando valores entre 30:1 e 20:1 durante o estágio inicial de degradação, e abaixo de 10:1 sinalizando o término de um processo de decomposição. O valor da relação C/N inicial neste trabalho foi 18,3/1, resultado semelhante ao encontrado por Yang et al. (2008), com valores iniciais de 19,8/1. Por outro lado, Kianirad et al. (2010),

trabalhando com compostagem de resíduos de espigas de milho, obtiveram resultados variando de 38 no estágio inicial e 13,9 ao final do processo. Kurola et al. (2011) obtiveram valores acima de 25/1 em um experimento de compostagem com a adição de cinzas de madeira.

O composto maturado apresentou valor C/N de 4/1. Resultado semelhante foi encontrado em um trabalho de co-compostagem de lodo com resíduos capilares, cujos produtos de compostagem de diferentes proporções de misturas tiveram valores entre 4 e 7,2 (Barrena et al., 2007). Esse valor abaixo de 10/1, que é padrão indicativo de término de atividade de degradação, pode estar relacionado à carga nitrogenada presente no lodo durante o processo.

4.2 Colimetria e contagem de heterotróficos

O objetivo dos testes de colimetria é investigar a presença de contaminantes possivelmente patogênicos e de origem fecal presentes no material do resíduo compostado, de maneira a garantir a qualidade, higiene e segurança do produto de degradação a ser utilizado.

As colimetrias foram realizadas a cada coleta do monitoramento da leira de compostagem. No início do processo de compostagem foi observada a maior contagem de coliformes totais e fecais (Tabela 2), presentes exclusivamente no material constituinte da leira de compostagem de resíduos orgânicos. A coleta 2 foi realizada com o material misturado ao lodo de esgoto que foi adicionado ao sistema após a montagem da leira. Os índices de

coliformes mostraram-se mais baixos no material com lodo, em relação aos valores obtidos pela colimetria dos resíduos orgânicos iniciais.

TABELA 2. Temperatura da leira de compostagem *versus* contagem de coliformes e heterotróficos por coleta

Coleta	Temperatura da Leira (°C)	Heterotróficos (UFC.g ⁻¹)	Coliformes Totais (UFC.g ⁻¹)	<i>Escherichia coli</i> (UFC.g ⁻¹)
1	37,3	5,2 X 10 ⁷	3 x 10 ⁷	2 x 10 ⁶
2	55	2,2 X 10 ⁵	3,4 x 10 ⁴	1,1 x 10 ⁴
3	57,3	2,1 X 10 ⁶	9 x 10 ⁶	9 x 10 ⁴
4	63,3	2,6 X 10 ⁶	2,8 x 10 ⁶	7 x 10 ⁴
5	67,6	8,3 X 10 ⁵	1,3 x 10 ⁶	2 x 10 ⁴
6	46	8,7 X 10 ⁵	5 x 10 ⁵	4 x 10 ⁴
7	24	1,8 X 10 ⁵	5 x 10 ⁵	4 x 10 ⁴
8	20	8,1 X 10 ⁵	3,3 x 10 ⁵	8 x 10 ⁴
9	32	4 X 10 ⁴	4 x 10 ⁴	2 x 10 ⁴
10	36,6	5 x 10 ⁵	2,7 x 10 ⁴	0
11	37	2,5 X 10 ⁶	3,4 x 10 ⁵	4 x 10 ⁴

Os índices colimétricos sofreram uma redução durante a fase termofílica, que pode estar relacionada com o aumento progressivo da temperatura da leira em consequência da atividade de degradação da matéria orgânica. Após a fase termofílica, ocorreram oscilações de contagem de coliformes totais e *E. coli*, que podem estar vinculados às diferenças de temperatura por toda a dimensão da leira de compostagem, já que a temperatura não é distribuída de maneira homogênea no material, e a presença de coliformes pode ser mais concentrada em regiões com temperaturas mais baixas, recontaminando, assim, outras regiões durante o revolvimento da leira. Na coleta 10 não foi registrada a presença de *E. coli*,

indício de um processo de sanitização eficiente do material, ou, então, a amostra coletada era oriunda de uma região não contaminada da leira. Ainda há a possibilidade de eliminação de *E.coli* por fatores ecológicos e/ou nutricionais, como competição (Puri & Dudley, 2010) ou exaustão de fontes de energia, respectivamente.

A coleta 11 foi realizada com o composto maturado e peneirado, e à temperatura ambiente (37°C). As colimetrias revelaram o ressurgimento de coliformes totais e de *E. coli*, evidenciando uma recontaminação do material. Esse perfil de ressurgimento de coliformes ao final do processo de compostagem também foi observado por Hassen et al. (2002); Kim et al. (2009); Sobratee et al. (2009) e Khalil et al. (2011), durante o processo de compostagem.

Em relação aos resultados obtidos neste trabalho, a recontaminação do composto também pode ser resultado do material presente nas retroescavadeiras que são utilizadas para o revolvimento de leiras em diferentes estágios do processo de compostagem, ou pela exposição do material a céu aberto e à mercê de animais de sangue quente presentes no local, como aves e cães. Shepherd et al. (2010) relataram a ausência de *E. coli* após a fase termofílica, porém, houve a recontaminação após a adição de material parcialmente compostado na leira.

Resultados positivos para a eliminação de *E. coli* durante o processo foram observados durante a investigação de disposição de fraldas descartáveis em leiras de compostagem de resíduos sólidos, pois não foram encontrados micro-organismos patogênicos ao final do processo, segundo o

autor, graças ao aumento da temperatura e revolvimento constante da leira (Colón et al, 2010).

Mupondi et al. (2011), em um trabalho com vermicompostagem antecedida de pré-compostagem termofílica, verificaram a redução de 94% de coliformes fecais no período de pré-compostagem e eliminação total de indicadores patogênicos no processo final, sucedido por vermicompostagem, atribuído à ação digestiva dos anelídeos. Por fim, resultados de comparações entre sistemas de compostagem estéreis e não-estéreis controlados mostraram que a rápida redução de *E. coli* esteve relacionado à competição por outros micro-organismos presentes ao longo do processo (Puri & Dudley, 2010).

O sucesso na eliminação de micro-organismos patogênicos durante o processo de compostagem depende, portanto, de altas temperaturas, do tempo de exposição do material a essas temperaturas elevadas e da uniformidade da temperatura sobre o material da leira de compostagem (Rihani et al., 2010).

De acordo com a Resolução nº 375/2006 do CONAMA, o critério “presença de *Escherichia coli*” é preconizada pelo limite de 10^3 UFC.g⁻¹ de composto maturado. Dessa forma, a qualidade do composto maturado estudado não se enquadra nas normas, pois houve uma recontaminação no final do processo, e o índice de *E. coli* atingiu 4×10^4 UFC/g. Por outro lado, há possibilidade de erros ou imprecisão ao estimar a contagem durante os testes colimétricos, subestimando a significância que invalidaria a qualidade microbiológica do composto.

A contagem de micro-organismos heterotróficos poderia mensurar o grau de atividade microbiana durante o processo de degradação da matéria orgânica, a relação da temperatura da leira com o aumento ou redução de populações microbianas e, por fim, a taxa de decomposição através da disponibilidade de carbono prontamente assimilável.

Os resultados da contagem de micro-organismos heterotróficos são observados na Tabela 2. Os valores obtidos oscilaram com o decorrer do processo, sem indicar alterações evidentes da atividade das populações microbianas. As maiores contagens de bactérias heterotróficas ocorreram durante as coletas 1, 3, 4 e 11, com valores de $5,2 \times 10^7$, $2,1 \times 10^6$, $2,6 \times 10^6$ e $2,5 \times 10^6$ UFC.g⁻¹, respectivamente. Uma hipótese para a alta contagem de heterotróficos durante a fase termofílica seria a germinação de endosporos presentes na leira (Gomes et al., 2007), ou mesmo a proliferação de bactérias termotolerantes.

A coleta 1, realizada a partir do material constituído por resíduos orgânicos, revelou a maior contagem de bactérias durante o processo. A menor contagem ocorreu durante a coleta 9, com 4×10^4 UFC.g⁻¹, seguindo até o final do processo de compostagem com aumentos nos valores das contagens, o que corrobora mais uma vez com a hipótese de recolonização do material compostado. Khalil et al. (2011) observaram, no início da degradação de resíduos com lodo ativado, valores de heterotróficos totais de $1,49 \times 10^{10}$ UFC.g⁻¹, havendo redução na contagem ao longo da fase termofílica e aumentando posteriormente para valores em torno de 2×10^{16} UFC.g⁻¹ no produto final da compostagem. Em uma análise de diversidade microbiológica

de compostos de diferentes origens orgânicas, Vaz-Moreira et al. (2008) observaram a contagem de heterotróficos de $4,4 \times 10^7$ UFC.g⁻¹ para produtos de origem domiciliar, 7×10^5 UFC.g⁻¹ para produto oriundo de lodo de esgoto, e 5×10^4 UFC.g⁻¹ para compostos de resíduos orgânicos municipais. Segundo os autores, a justificativa para o aumento na contagem de heterotróficos no produto de origem domiciliar seria o fato de a leira não ultrapassar as temperaturas de 50°C, o que não contribuiria para a mortalidade dos micro-organismos. Arikan et al. (2009) verificaram a contagem de $2,3 \times 10^9$ UFC.g⁻¹ no início do processo de compostagem de esterco bovino, reduzindo o valor para $2,1 \times 10^6$ UFC.g⁻¹ na contagem do produto final.

Os resultados da contagem de heterotróficos mostraram oscilações ao longo do período de degradação, mostrando aumento nos valores durante o estágio final de maturação da compostagem, indicando recolonização por micro-organismos mesofílicos.

4.3 Antibiogramas

Os testes de antibiograma foram realizados com as 344 bactérias isoladas ao longo do processo de compostagem, sendo utilizados 14 antimicrobianos de 8 classes diferentes:

- cefalotina, cefoxitina e ceftriaxona (cefalosporinas)
- ampicilina e amoxicilina + ácido clavulônico (aminopenicilinas)
- estreptomicina e gentamicina (aminoglicosídeos)
- sulfazotrim, ciprofloxacina e norfloxacina (fluorquinolonas)
- imipenem (carbapenêmicos)

- tetraciclina
- cloranfenicol
- nitrofurantoína

A maior parte das bactérias isoladas e testadas é de Gram negativas (82,85%), e são as que se mostraram resistentes à maior parte dos antimicrobianos. As bactérias Gram positivas mostraram-se sensíveis à maioria dos antimicrobianos testados, com exceção de um coco Gram positivo que foi resistente a oito antimicrobianos. Para todos os antimicrobianos foi detectada resistência bacteriana, e 89,53% (308) dos isolados foram resistentes a pelo menos um antimicrobiano (Figura 1).

A nitrofurantoína foi o antimicrobiano ao qual as bactérias apresentaram maior perfil de resistência (64,82%), seguindo pela ampicilina (58,14%), cefalotina (50%), amoxicilina + ácido clavulônico (37,21%), cefoxitina (34,59%), cloranfenicol (31,98%) e ceftriaxona (29,94%). Os demais antimicrobianos apresentaram taxa de resistência abaixo de 20%, conforme mostrado na Figura 2.

Perfil de Resistência a Antibióticos

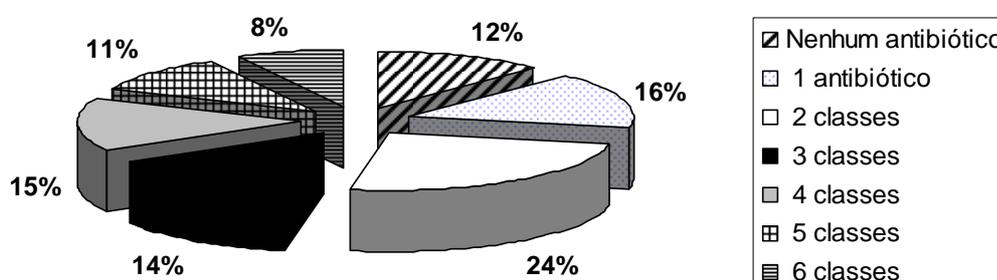


FIGURA 1. Frequência de resistência e resistência múltipla a antimicrobianos em bactérias isoladas ao longo do processo de compostagem.

Mashouf et al. (2009) reportaram perfil de resistência e resistência moderada à nitrofurantoína em 48,2% de isolados de infecções do trato urinário. A ampicilina ainda apresentou um valor superior, com 63,9% de isolados resistentes. Os autores relacionaram esses perfis de resistência com o uso e dosagem inadequados dos antimicrobianos entre a comunidade local.

Luczkiewicz et al. (2010) observaram 100% de sensibilidade à nitrofurantoína entre isolados de *E. coli* de uma estação de tratamento de águas residuais. Por outro lado, neste mesmo trabalho 34% dos isolados foram resistentes à ampicilina. Em outro estudo, Kashef et al. (2010) avaliaram isolados de infecções uropatogênicas e observaram que quase 95% dos isolados foram Gram negativos, e o antimicrobiano com maior eficiência sobre as bactérias foi a nitrofurantoína, agindo sobre 71,3% dos isolados, seguindo com a ciprofloxacina, com resultado de 68,1% de sensibilidade.

Uma hipótese para o alto índice de resistência à nitrofurantoína nos isolados do presente trabalho pode estar relacionada com a provável presença do antimicrobiano no lodo. A droga é ministrada oralmente e metabolizada rapidamente, sendo liberada pelas excretas, inclusive em sua forma inalterada (Conklin, 1978) e é amplamente utilizada em tratamentos de infecção urinária, estando entre os mais utilizados e prescritos, assim como alguns β -lactâmicos (Mashouf et al., 2009). Assim, não seria incomum isolar bactérias resistentes a nitrofuranos e β -lactâmicos ao longo deste estudo, por serem antimicrobianos consumidos de forma indiscriminada pela população. Há também a possibilidade de o grande índice de resistência estar relacionado às transferências horizontais (Silbergeld et al., 2008).

As bactérias isoladas neste trabalho apresentaram uma alta resistência à ampicilina e aos antimicrobianos pertencentes à classe das cefalosporinas, do grupo dos β -lactâmicos. Heringa et al. (2010) compararam diferentes sistemas de compostagem no estado da Califórnia (USA) e observaram que 63% dos isolados de *E. coli* de resíduos de esterco foram resistentes à ampicilina. O alto índice de resistência à ampicilina, segundo os autores, estaria relacionado à utilização desta droga como promotor de crescimento em animais de criação. Aypak et al. (2009), em um trabalho sobre a perspectiva de tratamentos de infecções urinárias, relataram que 55,1% dos isolados de *Escherichia coli* foram resistentes à ampicilina e 32,7% manifestaram resistência à amoxicilina + ácido clavulônico. Resultados estes corroboram com os resultados de alto índice de resistência aos β -lactâmicos obtidos neste trabalho.

A maioria das bactérias Gram negativas, especialmente as da família Enterobacteriaceae, possui uma resistência intrínseca aos antimicrobianos das classes do grupo dos β -lactâmicos, devido à capacidade de produção das enzimas β -lactamases, que realizam a clivagem do anel β -lactâmico, tornando-o inativo em relação ao sítio ligante na cadeia peptídica em formação na parede da célula bacteriana. As enzimas β -lactamases não possuem a capacidade de hidrolisar o anel β -lactâmico de antimicrobianos carbapenêmicos (Martínez-Martínez & Calvo, 2010) - no presente trabalho foi utilizado o imipenem. Provavelmente por essa razão as bactérias manifestam grande sensibilidade a essa droga, além deste químico ter atualmente uso restrito pela população.

As bombas de efluxo também possuem um papel crucial na eliminação de substâncias nocivas que penetram na célula bacteriana, contribuindo para a sobrevivência de micro-organismos em locais contaminados, para a adaptação e resistência a diversos produtos químicos e antimicrobianos (Kaye et al., 2004).

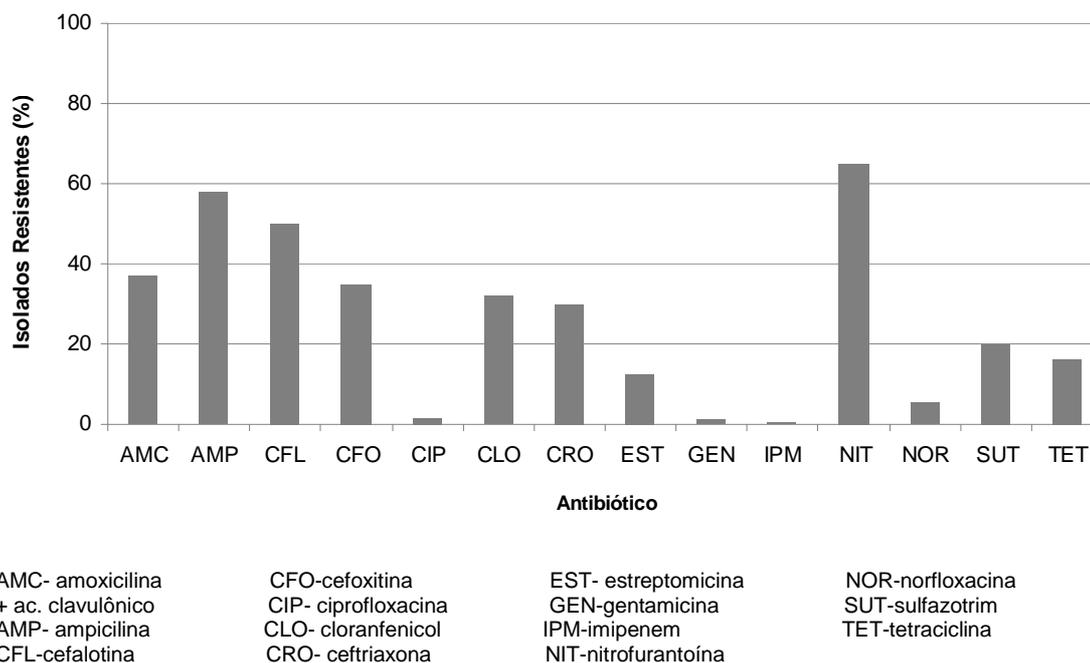


FIGURA 2. Percentual de bactérias isoladas de resíduos em processo de compostagem resistentes aos 14 antimicrobianos utilizados nos ensaios de susceptibilidade aos antimicrobianos.

Os antimicrobianos que foram mais eficientes na inibição do crescimento das bactérias foram o imipenem (apenas um isolado resistente), gentamicina (cinco isolados resistentes) e ciprofloxacina (seis isolados resistentes). Hölzel et al. (2010) obtiveram resultados semelhantes quanto ao perfil de sensibilidade dos isolados bacterianos, pois todos os isolados de *E. coli*, obtidos do lodo de tratamento de efluentes mostraram-se suscetíveis à ciprofloxacina e ao imipenem. Mais uma vez, a eficiência dessas drogas pode estar relacionada ao uso discriminado.

Analisando os índices de resistência dos isolados aos antimicrobianos ao longo do processo de compostagem, foram observadas diferenças de perfis entre algumas coletas, podendo se relacionar com a

constituição e origem de resíduos da leira, ou com diferentes estágios do processo de degradação do resíduo (Tabela 3).

TABELA 3: Percentual de isolados resistentes aos antimicrobianos testados, em relação a cada coleta.

Nºtotal															
Coleta	Isol./(%)	CIP	CLO	GEN	NIT	IPM	CRO	CFO	CFL	AMP	SUT	NOR	EST	TET	AMC
1	17	0	17,65	0	58,82	0	23,53	17,65	23,53	29,41	0	0	5,88	0	11,76
2	36	0	25	0	72,22	0	33,33	33,33	36,11	47,22	13,88	8,33	19,44	8,33	25
3	43	11,63	39,53	2,32	76,74	0	51,16	51,26	62,79	48,14	23,26	9,3	20,93	37,21	51,16
4	28	3,57	37,29	3,57	42,86	0	21,43	17,86	53,57	64,3	42,86	0	14,29	21,43	50
5	34	0	38,23	2,94	41,18	0	20,59	20,59	52,94	50	38,23	2,7	8,82	17,65	38,23
6	29	0	13,79	0	48,28	0	13,79	3,45	10,34	13,79	10,34	0	0	3,45	6,9
7	40	0	5	0	77,5	0	22,5	7,15	27,5	75	2,5	0	10	10	12,5
8	23	0	39,13	0	82,61	0	21,74	60,87	60,87	43,48	8,7	2,7	13	8,7	34,78
9	23	0	52,17	4,35	82,61	0	65,22	60,87	91,3	78,26	0	21,74	34,78	0	69,57
10	14	0	42,86	7,14	50	0	35,29	35,29	50	71,43	2,42	28,57	21,43	0	50
11	57	0	47,10	0	66,66	1,74	22,81	56,14	68,42	63,16	35,09	0	3,51	31,58	52,63

AMC- amoxicilina
+ ac. clavulônico
AMP- ampicilina

CFL-cefalotina
CFO-cefoxitina
CIP-ciprofloxacina

CIP-ciprofloxacina
CRO-ceftriaxona
GEN-gentamicina

EST- estreptomina
IPM-impipenem
NIT-nitrofurantoina

NOR-norfloxacina
SUT-sulfazotim
TET-tetraciclina

A coleta 1 foi realizada durante a montagem da leira de compostagem, após o transbordo de resíduos orgânicos oriundos da coleta de lixo domiciliar, misturados com palhas e podas vegetais. Durante a primeira coleta houve um dos menores índices de resistência antimicrobiana dos isolados ao longo do processo, comparado a outras coletas. O maior número de isolados apresentou resistência à nitrofurantoína (58,82%), e o menor percentual de resistência foi para estreptomicina (5,88%). Não houve resistência à ciprofloxacina, gentamicina, imipenem, sulfazotrim, norfloxacina e à tetraciclina.

A coleta 2 foi realizada após a adição de lodo de esgoto sobre a leira. Houve um aumento da incidência de resistência em todos os antimicrobianos, comparado aos valores da primeira coleta. O maior índice de resistência foi novamente à nitrofurantoína (72,22%). Os menores valores foram referentes à norfloxacina e tetraciclina (8%).

O maior percentual de isolados resistentes à nitrofurantoína ocorreu na coleta 8, com 82,61% dos isolados resistentes e, na coleta 9, os maiores índices de resistência foram relacionados à cefalotina (91,3%), ampicilina (78,26%) amoxicilina (69,57%) ceftriaxona (65,22%), e cloranfenicol (52,17%). Observou-se uma tendência dos isolados resistirem aos antimicrobianos β -lactâmicos ao final da compostagem, o que corrobora para a teoria da transferência gênica, adaptação fisiológica e aumento de resistências ao longo do processo.

A coleta 11 foi realizada a partir do composto maturado e peneirado, portanto, um produto que provavelmente possa ser destinado a áreas de solos

produtivos, ou, ainda, a áreas degradadas em recuperação. Foram avaliados 57 isolados Gram negativos dessa amostra. O perfil de resistência dos isolados foi ainda bastante alto. A maior resistência foi à cefalotina (68,42%), seguindo com nitrofurantoína (66,66%) e ampicilina (63,16%).

4.3.1 Isolados bacterianos resistentes a 7 até 10 antimicrobianos

Dos 344 isolados bacterianos analisados quanto ao perfil de resistência antimicrobiana ao longo do processo de compostagem, 77 isolados apresentaram os maiores índices de resistência quanto ao número de antimicrobianos utilizados para os testes de susceptibilidade, cujo índice de resistência microbiana variou entre o mínimo de resistência a 7 e 10 antimicrobianos, que foi o valor máximo de resistência detectado.

Analisando o perfil de resistência geral entre esses isolados em relação a cada antimicrobiano (Figura 3), foi observado que 76 isolados foram resistentes à ampicilina e cefalotina, seguindo com a nitrofurantoína e a cefoxitina, com 75 isolados resistentes.

O antimicrobiano que se mostrou mais eficiente na inibição de crescimento desses isolados foi o imipenem; dos 77 isolados, nenhum apresentou resistência a essa droga, e apenas 2 isolados foram resistentes à ciprofloxacina.

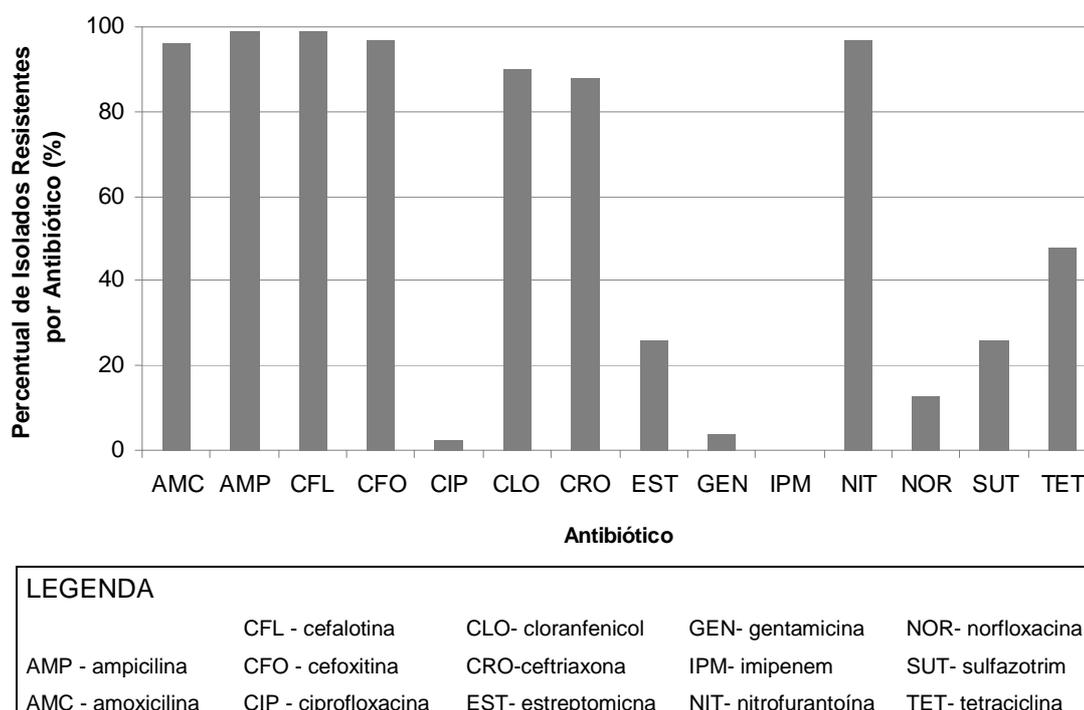


FIGURA 3. Percentual dos isolados identificados e resistentes a cada antimicrobiano, obtidos dos resíduos presentes no processo de compostagem.

4.3.1.1 Identificação de isolados multirresistentes

O critério para selecionar os isolados que seriam identificados em nível de espécie foi baseada naqueles isolados que apresentaram o maior perfil de resistência aos antimicrobianos, estabelecendo-se um corte de resistência mínima a 7 antimicrobianos. Dessa forma, foram identificados 77 isolados pertencentes a 14 gêneros que apresentaram um perfil de resistência entre 7 e 10 antimicrobianos. Destes, os gêneros que manifestaram maior incidência e perfil diversificado de resistência aos antimicrobianos foram *Pasteurella* sp., *Burkholderia* sp. e *Pseudomonas* sp., representando 37,6%, 23,38% e 13% do total de isolados identificados, respectivamente (Figura 4). O perfil de resistência desses gêneros estão apresentados nas tabelas 2, 3 e 4.

A espécie que foi resistente ao maior número de antimicrobianos foi *Burkholderia mallei*, sendo identificados dois isolados, da 3ª e 9ª coletas. Ambos foram resistentes a 10 antimicrobianos de seis classes diferentes.

Foram isoladas 12 bactérias resistentes a nove antimicrobianos, sendo três isolados de *Pseudomonas aeruginosa*, três isolados de *Burkholderia mallei*, dois isolados de *Citrobacter freundii*, um isolado de *Pseudomonas pseudoalcaligenes*, um isolado de *Pasteurella anatis*, um de *Pasteurella multocida* e um de *Brevibacterium epidermidis*. Todas as espécies resistentes a seis classes de antimicrobianos.

Quanto à resistência a oito antimicrobianos, foram identificados 33 isolados, dentre eles, 18 do gênero *Pasteurella* sp., seis *Pseudomonas* sp., cinco *Burkholderia* sp., dois *Flavobacterium* sp., um *Chromobacterium* sp., um *Flavimonas* sp., um *Gardnerella* sp., um *Moraxella* sp., um *Serratia* sp., e um *Xanthomonas* sp. Houve uma incidência de 25 isolados resistentes a sete antimicrobianos, sendo sete do gênero *Burkholderia* sp., nove *Pasteurella* sp., três *Enterobacter* sp., dois *Citrobacter* sp., dois *Klebsiella* sp., e dois *Serratia* sp. A relação do perfil de resistência das espécies menos frequentes durante as identificações está apresentada na tabela 7.

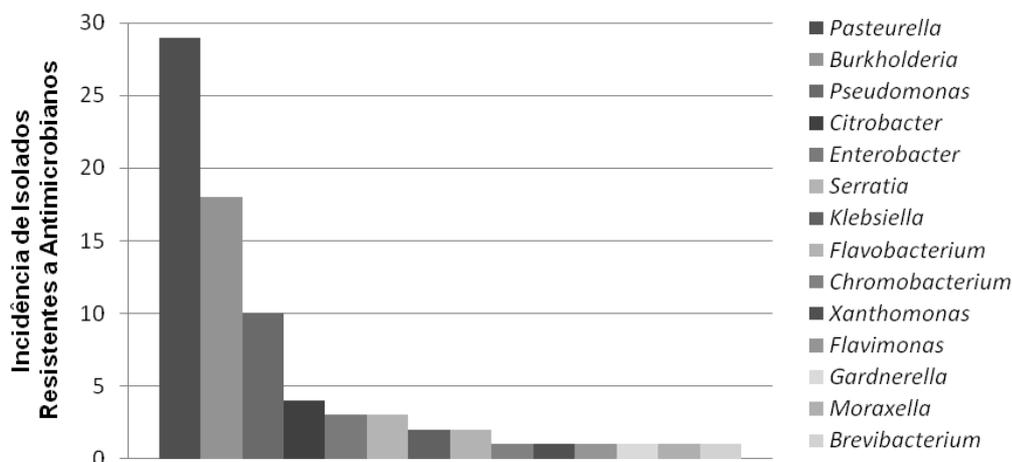


FIGURA 4. Percentual de resistência dos gêneros identificados, resistentes a 10, 9, 8 e 7 antimicrobianos.

O gênero *Pasteurella* sp. encontra-se frequentemente presente na cavidade oral de animais domésticos (Fukumoto et al, 2002), sendo relacionado majoritariamente a zoonoses, atingindo animais de grande porte, como bovinos, suínos, e animais de pequeno porte. Causa prejuízos à economia, pela grande incidência de doenças no trato respiratório de suínos (De Jong, 1999; Pijoan, 1999).

Os isolados do gênero *Pasteurella* sp. contemplaram 38% dos isolados resistentes ao maior número de drogas antimicrobianas neste trabalho (Tabela 4), sendo predominantes as espécies *P. anatis* e *P. multocida*, com 9 isolados de cada espécie. Em uma trabalho realizado com a virulência de *Pasteurella multocida* em suínos na China, Tang et al. (2009) investigaram o perfil de resistência desses isolados a antimicrobianos, e mais de 80% deles foram resistentes à ampicilina, 74,2% ao sulfazotrim e 58% à tetraciclina, entre

outras drogas testadas. Apenas 2,6% dos isolados foram resistentes ao cloranfenicol, e todos foram sensíveis à ciprofloxacina.

Outros dados sobre a multirresistência em *P. multocida* oriundas de suínos infectados revelaram resistência à ampicilina em todos os isolados (San Millan et al., 2009).

As infecções humanas geralmente estão vinculadas ao contato ou lesões ocasionadas por animais infectados, ou por consumo de alimentos de origem animal contaminados. Há casos registrados de endocardite (Naba et al., 2009), e com mais frequência, pneumonias, meningites, infecções urinárias e no peritônio (Guillet et al., 2007). León et al. (2007) relatou o isolamento de *Pasteurella* sp. durante o processo de compostagem de resíduos de matadouros de animais de corte.

Visto esse gênero ser isolado de animais e/ou contaminações provocadas por animais doentes, não é comum ser encontrado durante processos de compostagem, surgindo a possibilidade de que no material em processo de degradação possa estar inserido constituintes de fontes contaminadas.

TABELA 4. Incidência e perfil de espécies multirresistentes do gênero *Pasteurella* sp. isoladas durante o processo de compostagem (junho/2009 a janeiro/2010)

Gênero <i>Pasteurella</i> sp	CIP	CLO	GEN	NIT	IPM	CRO	CFO	CFL	AMP	SUT	NOR	EST	TET	AMC	*
<i>P. aerogenes</i>		R		R		I	I	R	R					R	
<i>P. aerogenes</i>		R	I	R		R	R	R	R					R	
<i>P. aerogenes</i>		R		R		R	R	R	R		I			R	2
<i>P.aerogenes</i>		R		R		I		R	R			R		R	
<i>P.aerogenes</i>				R		R	R	R	R		I			I	
<i>P. anatis</i>		R		R		I	R	R	R	I		I		I	
<i>P. anatis</i>		R		R		I	R	R	R			R	R		
<i>P. anatis</i>		R		R		R	R	R	R				R	R	4
<i>P. anatis</i>		R		R		R	R	R	R					R	
<i>P. anatis</i>		R				R	R	R	R				I	R	
<i>P. anatis</i>				R		R	R	R	R				R	R	
<i>P. mairii</i>		R		R			R	R	R	R		R		R	
<i>P. mairii</i>				R		R	R	R	R			R		R	
<i>P. mairii</i>		I		R		R	R	R	R					R	
<i>P. multocida</i>		R		R		R	R	R	R			I	R	R	
<i>P. multocida</i>		R		R		I	R	R	R			R	R		
<i>P. multocida</i>		R		R		R	R	R	R				R	R	3
<i>P. multocida</i>		R		R		R	R	R	R		R			R	
<i>P. multocida</i>		R		R		R	R	R	R		I			R	
<i>P. multocida</i>		R		R		R	R	R	R			I		R	
<i>P. multocida</i>		I		R		R		R	R				R	R	
<i>P.pneumotropica</i>		I		R		R	R	R	R			I		R	
<i>P.pneumotropica</i>		R		R		R	R	R	R		I			R	

AMC- amoxicilina
+ ac. clavulônico
AMP- ampicilina
CFL-cefalotina

CFO-cefoxitina
CIP- ciprofloxacina
CLO- cloranfenicol
CRO- ceftriaxona

EST- estreptomina
GEN-gentamicina
IPM-imipenem
NIT-nitrofurantoína

NOR-norfloxacina
SUT-sulfazotrim
TET-tetraciclina
*isolados com mesmo perfil

Espécies do gênero *Burkholderia* sp. são bactérias na sua grande maioria isoladas de solos. *Burkholderia mallei* é isolada de solos rizosféricos, com potencial como promotor de crescimento de plantas (Cain et al., 2000) por inibir a disseminação de fitopatógenos, além da atividade de biorremediação de solos (Butler et al., 1995; Master et al., 2002), e já foi isolada de processo de

compostagem de lodo municipal (Tiago et al., 2004). Por outro lado, está relacionada a infecções de fibrose cística em humanos, manifestando alta resistência a antimicrobianos (Butler et al., 1995; Mahenthiralingam et al., 2002).

Durante os ensaios de antibiogramas, dois isolados da espécie *Burkholderia mallei* foram identificados como resistentes a 10 antimicrobianos (Tabela 5), portanto, ao maior número de drogas testadas neste trabalho, do total de 14 antimicrobianos. Foi a espécie mais identificada, representada por 16 isolados no intervalo de seleção dos micro-organismos mais resistentes do processo de compostagem, havendo possibilidade de apresentar clones, devido à incidência de isolados com mesmo perfil de resistência.

TABELA 5. Incidência e perfil de espécies multirresistentes do gênero *Burkholderia* sp. isoladas durante o processo de compostagem (junho/2009 a janeiro/2010)

Gênero <i>Burkholderia</i> sp.	CIP	CLO	GEN	NIT	IPM	CRO	CFO	CFL	AMP	SUT	NOR	EST	TET	AMC	*
<i>B. gladioli</i>		R		R		R	R	R	I					I	
<i>B. gladioli</i>						R	I	I	I	R				I	
<i>B. mallei</i>	I			R		R	R	R	R		I	R	R	R	
<i>B. mallei</i>		R	I	R		R	R	R	R		R	I		R	
<i>B. mallei</i>		R		R		I	R	R	R	R		I		R	
<i>B. mallei</i>		R		R		R	R	R	R			I	R	R	2
<i>B. mallei</i>		I		R		R	I	R	R				R	R	4
<i>B. mallei</i>		R		R		R	R	R	R		I			R	
<i>B. mallei</i>		R		R		I	R	R	R					R	4
<i>B. mallei</i>				R		R	R	R	R			I		R	
<i>B. mallei</i>		R		R		R	R	R	R					R	

AMC- amoxicilina
+ ac. clavulônico
AMP- ampicilina
CFL-cefalotina

CFO-cefoxitina
CIP- ciprofloxacina
CLO- cloranfenicol
CRO- ceftriaxona

EST- estreptomicina
GEN-gentamicina
IPM-imipenem
NIT-nitrofurantoína

NOR-norfloxacina
SUT-sulfazotrim
TET-tetraciclina
*isolados com mesmo perfil

As espécies do gênero *Pseudomonas* sp. são bactérias Gram negativas, não fermentadoras, e amplamente distribuídas pelo ambiente. *Pseudomonas aeruginosa* é isolada de muitos ambientes, aquáticos e em solos, sendo um patógeno oportunista (Wunderink & Mendoza, 2007). Muitos isolados ambientais são multirresistentes, reagindo a várias classes de antimicrobianos (Edrington et al., 2009). Estão envolvidos em diversas doenças infecciosas em humanos, como inflamações no trato urinário e respiratório e fibrose cística (Gibson et al., 2003).

Em referência a isolados com alto grau de resistência antimicrobiana e de virulência, é de extrema importância que essa espécie seja erradicada durante o processo de compostagem, caso esteja presente no material em processo de decomposição. Kaszab et al. (2011) obtiveram isolados de *P. aeruginosa* multirresistentes no material cru, durante e ao final do processo de compostagem, sendo 48% dos isolados resistentes à ceftriaxona, e cuja ação de carbapenêmicos e gentamicina não foi eficiente.

Ao longo do processo de compostagem, foram observados 11 isolados de *P. aeruginosa*, 10 presentes na última coleta – composto maturado. Destes 10 isolados, três foram resistentes a nove antimicrobianos, e seis foram resistentes a oito (Tabela 6). Por apresentarem perfis semelhantes de resistência antimicrobiana, também há a possibilidade de esses isolados serem clones.

Coliformes termotolerantes foram identificados como resistentes a sete antimicrobianos, sendo eles *Enterobacter* sp. e *Klebsiella* sp., totalizando cinco isolados dos 11 gêneros que foram menos frequentes durante as

identificações bioquímicas (Tabela 6). Representantes destes gêneros podem ser patogênicos e indicadores da presença de outras espécies de bactérias nocivas no material analisado.

TABELA 6. Incidência e perfil de espécies multirresistentes menos freqüentes, isoladas durante o processo de compostagem.

Gênero	CIP	CLO	GEN	NIT	IPM	CRO	CFO	CFL	AMP	SUT	NOR	EST	TET	AMC	*
Pseudomonas sp.															
<i>P. aeruginosa</i>		R		R		I	R	R	R	R			R	R	3
<i>P. aeruginosa</i>		R		R			R	R	R	R			R	R	6
<i>P. pseudoalcaligenes</i>		R		R		R	R	R	R			R	R	R	
Citrobacter sp.															
<i>C. freundii</i>		R		R		I	R	R	R	R			I	R	2
<i>C. koseri</i>		R		R		I	R	R	I					I	2
Enterobacter sp.															
<i>E. aerogenes</i>				R		I	R	R	I			I		R	
<i>E. aerogenes</i>		I		R		I	I	R	R					R	2
Serratia sp.															
<i>S. ficaria</i>		R		R		R	R	R	R					R	
<i>S. marcessens</i>		R		R		I	R	R	I					I	
<i>S. proteamaculans</i>		R		R		I	R	R	R	R				R	
Klebsiella sp.															
<i>K. pneumoniae</i>		R		R		I	R	R	I					R	2
Flavobacterium sp.															
<i>F. aquatile</i>		R		R		R	R	R	R				R	R	
<i>F. branchiophilum</i>		R		R		R	I	R	R				R	R	
<i>Chromobacterium sp.</i>															
<i>C. violaceum</i>		R		R		I	R	R	R	R				R	
Xanthomonas sp.															
<i>X. fragariae</i>		R		R			R	R	R	R		R		R	
Flavimonas sp.															
<i>F. oryzihabitans</i>		R		I		R	R	R	R				I	R	
Gardnerella sp.															
<i>G. vaginalis</i>		R		R		I	R	R	R			I		I	
Moraxella sp.															
<i>M. atlantae</i>	R		R	I			I			R	R	R	R		
Brevibacterium sp.															
<i>B. epidermidis</i>		R		R		I	R	R	R	R			R	R	

AMC- amoxicilina
+ ac. clavulônico
AMP- ampicilina
CFL-cefalotina

CFO-cefoxitina
CIP- ciprofloxacina
CLO- cloranfenicol
CRO- ceftriaxona

EST- estreptomicina
GEN-gentamicina
IPM-imipenem
NIT-nitrofurantoína

NOR-norfloxacina
SUT-sulfazotrim
TET-tetraciclina
* isolados com mesmo perfil

A observação de isolados resistentes a antimicrobianos durante o processo de compostagem pode estar relacionada à presença de produtos químicos na leira de compostagem, ou nos materiais orgânicos oriundos dos resíduos domésticos e lodo ativado de esgoto. Resíduos orgânicos diversos podem conter agentes biocidas que conservam e retardam a decomposição de produtos alimentícios industrializados, contribuindo para a seleção de micro-organismos resistentes a agentes químicos. Além disso, a falta de separação de resíduos domésticos também contribui para a seleção de micro-organismos resistentes ao longo do processo de compostagem, pois materiais de diversas origens que estejam misturados aos resíduos orgânicos contaminam estes com diversas fontes poluentes.

Os sistemas de tratamento de efluentes são conhecidos como grandes fontes de liberação de produtos químicos e farmacêuticos, e a eficiência de remoção dessas substâncias é relativa, estando principalmente vinculada com a técnica da geração de lodo ativado (Göbel et al., 2007). Assim, quanto mais eficiente o tratamento físico e químico de efluentes de esgoto, menor a concentração de substâncias de diversas origens nos efluentes tratados que serão liberados em corpos d'água, e por consequência, maior a concentração desses poluentes que ficarão adsorvidos no lodo, o produto final e residual do tratamento.

Os fármacos que são liberados nas redes de esgoto em sua forma ativa agem seletivamente sobre os micro-organismos presentes nos efluentes,

induzindo a sobrevivência dos mais resistentes e eliminando os mais suscetíveis (Kim et al., 2007).

Muitos micro-organismos presentes nos efluentes apresentam resistência intrínseca a antimicrobianos, adquirem a resistência, ou, ainda, podem ser liberados pelas excretas como organismos resistentes. Grande parte dos antimicrobianos é excretada pelas fezes e urina sem sofrer alterações na estrutura da molécula ou sem ser metabolizado pelo organismo (Hirsch et al., 1999, Nagulapally et al., 2009).

Segundo Guan et al. (2007), mecanismos de compartilhamento de genes de resistência por transferência horizontal são relatados durante o processo de compostagem, o que também podem ocorrer durante o processo de tratamento dos efluentes e no material do lodo ativado (Soda, 2008). O lodo produzido durante o tratamento de efluentes apresenta grandes concentrações de bactérias que estão sujeitas à seleção por substâncias químicas, o que contribui para a disseminação de resistências microbianas (Zhang et al., 2009). Portanto, os biossólidos são retratados como portadores de elevadas concentrações de bactérias multirresistentes (Brooks et al., 2007).

Além disso, os antimicrobianos presentes durante o processo de compostagem podem comprometer a eficiência da atividade de degradação, retardando o processo em consequência da eliminação de micro-organismos mais eficientes na degradação do material orgânico (Kakimoto et al., 2007).

O processo de compostagem tem grande importância na sanitização do lodo ativado de esgoto. O aumento da temperatura gerada pelo aumento da velocidade e eficiência do metabolismo dos organismos envolvidos no

processo de degradação é o principal fator responsável pela eliminação de micro-organismos patogênicos e resistentes a drogas, bem como a eliminação de produtos químicos presentes no início do processo, que podem selecionar as bactérias resistentes.

O produto final do processo de compostagem deve ser assegurado quanto à qualidade microbiológica, de forma a não oferecer riscos à saúde pública ao ser condicionado às áreas destinadas, nem comprometer a qualidade do solo com a introdução de micro-organismos potencialmente resistentes ou patogênicos.

4.4. Concentração Inibitória Mínima (CIM) de Metais Pesados

Dentre as análises físico-químicas realizadas na primeira coleta, após a adição de lodo (coleta 2) e no final do processo de compostagem (coleta 11), foi determinada a concentração de metais pesados presentes no composto cru e maturado, analisando a presença de metais pesados. Foram selecionados quatro metais - cromo, cobre, zinco e chumbo - para os testes de resistência por estarem presentes em maiores concentrações no material (ANEXO). Na tabela 8 estão apresentados os valores encontrados e comparados aos valores preconizados pela Resolução 375/2006 do CONAMA.

Tabela 7. Comparação entre limites de concentrações dos metais possíveis de serem encontrados no produto de lodo ativado, estabelecidos pelo CONAMA, e concentrações de metais pesados encontradas no composto maturado.

Legislação	Metais Pesados (mg.Kg⁻¹)			
	Cr	Cu	Zn	Pb
CONAMA 375/06	1000	1500	2800	300
Resultados				
Laudo de Análises - Coleta 1	45	N.I.	141	17
Laudo de Análises - Lodo	71	N.I.	564	48
Laudo de Análises - Coleta 11	79	184	604	63

N.I.: não informado

Os resultados das análises indicam que todos os valores encontrados no composto maturado (coleta 11) estão de acordo com os padrões determinados pela legislação nacional, para que o composto possa ser destinado a solos com exploração agrícola, sem maiores riscos de contaminação.

Embora esses resultados estejam dentro dos padrões do CONAMA, Symanski (2005) obteve valores menores em amostra de composto de resíduos orgânicos domiciliares, relatando 71, 71, 160 e 25 mg.Kg⁻¹ para cromo, cobre, zinco e chumbo, respectivamente. As concentrações mais elevadas de metais no presente trabalho podem estar relacionadas com a adição de lodo ativado no sistema, pois foi verificado um aumento na concentração dos metais na coleta 2 em relação à coleta 1 (Tabela 7). Zheljazkov & Warman (2004) observaram concentrações de 312, 768 e 224 mg.Kg⁻¹ de cobre, zinco e chumbo, respectivamente, em composto de resíduos de alimentos, vegetais e lodo de esgoto. A deposição do lodo de esgoto em solos agrícolas pode

promover acúmulo de metais pesados, em especial Cd, Cr, Ni, Pb e Zn (Krebs et al., 1998).

Há uma tendência de aumento na concentração de metais pesados ao longo do processo de compostagem devido à redução do volume do conteúdo orgânico da leira, visto que os metais pesados não são degradados durante o período de decomposição, podendo ocorrer apenas alteração na especiação do elemento.

A Concentração Inibitória Mínima biocida (CIM) de metais pesados foi testada com os isolados da segunda coleta (2) e da última (11). Ao total, foram avaliados 91 isolados, sendo 36 obtidos durante a coleta 2 e 55 obtidos durante a coleta 11. Foi observado um percentual de 38,5% de isolados resistentes ao mínimo de 710 mg.L⁻¹ de cromo, 35,2% dos isolados resistentes ao CIM mínimo de 1040 mg.L⁻¹ de cobre, 93,4% de resistência a valores acima de 2900 mg.L⁻¹ de zinco, e 97,8% de resistência ao mínimo de 1250 mg.L⁻¹ de chumbo. Do total de isolados avaliados, 1,1% foram resistentes ao valor máximo de MIC obtido para o cobre, de 1650 mg. L⁻¹, e 2,2% foram resistentes ao máximo de 1450 mg. L⁻¹ de cromo.

Alam et al. (2010) isolaram bactérias de solo agrícola irrigado com efluente da indústria de cortume e obtiveram valor máximo de CIM de 3200 mg.L⁻¹ (1,8% dos isolados), seguido por 2400 mg.L⁻¹ (17,3%) e 1600mg.L⁻¹ (39,1%). As análises físico-químicas deste solo indicaram concentrações de 141 mg.Kg⁻¹ de Cr³⁺ enquanto que, no mesmo solo irrigado com água subterrânea, Cr³⁺ não foi detectado. O Cr³⁺ é um agente mutagênico em

potencial, podendo provocar uma série de enfermidades, como o carcinoma (Chirwa & Wang, 2000).

Alam et al. (2010) ainda testaram os isolados com concentrações inibitórias mínimas de cobre, e 14,5% dos isolados foram resistentes a 800 mg.L⁻¹ de Cu²⁺, valor este inferior ao encontrado no presente trabalho, de 1650 mg.L⁻¹. A concentração de Cu²⁺ (184 mg.Kg⁻¹) no composto foi superior ao valor encontrado no solo irrigado com efluente industrial (95,6 mg.Kg⁻¹). Portanto, é esperado que o valor de CIM de isolados do composto seja maior em relação aos valores encontrados em isolados do solo.

Não foi possível determinar os valores máximos de CIM do zinco e do chumbo para mais de 90% dos isolados testados (Tabela 8). Pode-se levantar duas hipóteses sobre os resultados dos ensaios: as bactérias realmente teriam apresentado alta resistência aos metais, ou os sais metálicos utilizados durante os experimentos teriam reagido com moléculas orgânicas do caldo de cultura utilizado para a incubação, ficando indisponíveis para serem absorvidos pelas células. A concentração de zinco encontrada no composto foi bastante elevada (604mg.Kg⁻¹), em comparação às concentrações dos outros metais analisados, portanto, não é descartada a possibilidade de que os isolados realmente tenham apresentado os maiores valores de CIM para este metal. Segundo Araújo e Nascimento (2005), o zinco é um dos metais encontrados em maior concentração no lodo de esgoto, e apresentando elevada biodisponibilidade.

Os isolados que apresentaram os valores de CIM a partir do ponto de corte determinado para a identificação bioquímica foram selecionados para uma comparação entre as coletas 2 e 11 (Figura 5).

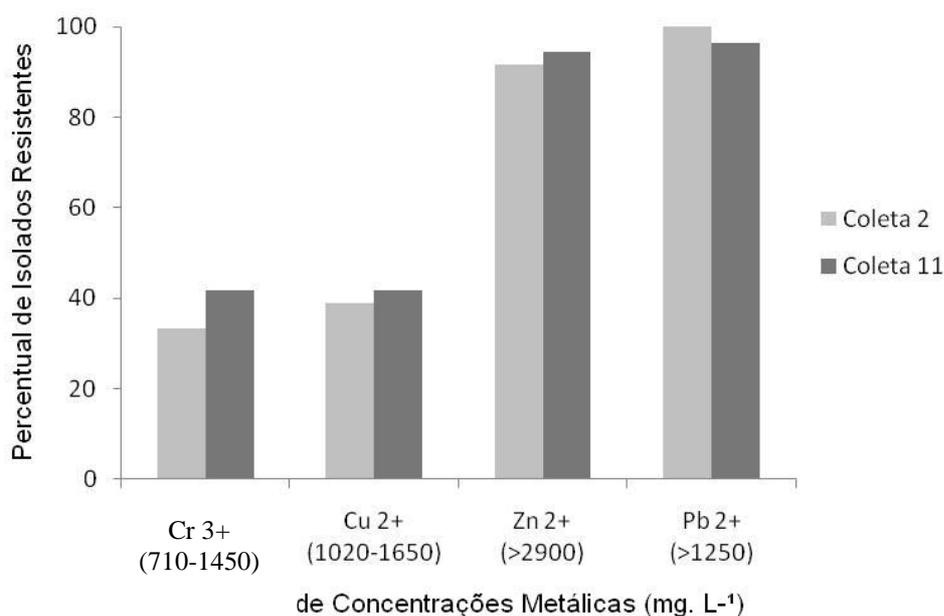


Figura 5. Percentual comparativo de Isolados de compostagem das coletas 2 e 11 resistentes aos metais testados.

Com a adição do lodo no sistema, podem ter sido introduzidas bactérias com alto perfil de resistência a metais pesados, devido às altas concentrações de metais no lodo. Os resultados entre os perfis de resistência das duas coletas foram semelhantes (Figura 5), de acordo com os pontos de corte nos valores de CIM, indicando que ao longo do processo de compostagem estiveram presentes isolados resistentes, conforme ocorre a persistência dos compostos metálicos.

4.4.1. Identificação de Isolados com maiores valores de CIM

Para a identificação bioquímica dos isolados com perfil de resistência aos metais analisados, foi estabelecido um ponto de corte em relação ao valor de CIM de cada metal. Sendo assim, foram identificados os isolados com CIM acima de 710 mg.L⁻¹ para Cr³⁺ ou acima de 1040 para Cu²⁺. Não foi estabelecido um padrão de corte de valor mínimo para zinco e chumbo, pois 93% dos isolados mostraram valor de CIM superior a 2900 mg.L⁻¹ para zinco e 98% superior a 1250 mg.L⁻¹ para o chumbo. As Tabelas 8 e 9 apresentam os isolados das coletas 2 e 11, respectivamente, que mostraram perfil de resistência cujo valor de MIC teve o ponto de corte de 710 mg.L⁻¹ para Cr³⁺ ou acima de 1040 para Cu²⁺.

Tabela 8. Perfil de resistência a metais pesados de isolados de compostagem da Coleta 2.

Isolado	Espécie	Concentração Inibitória Mínima (mg.L ⁻¹)			
		Cr ³⁺	Cu ²⁺	Zn ²⁺	Pb ²⁺
52	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	880	890	>2900	>1250
55	<i>Serratia odorífera</i>	600	1090	>2900	>1250
59	<i>Pasteurella anatis</i>	1410	1040	>2900	>1250
60	<i>Enterobacter aerogenes</i>	1410	1070	>2900	>1250
62	<i>Pasteurella multocida</i>	1300	890	>2900	>1250
73	<i>Burkholderia gladioli</i>	490	1580	>2900	>1250
74	<i>Serratia phymulthica</i>	280	1580	>2900	>1250
76	<i>Serratia phymulthica</i>	210	1120	>2900	>1250
79	<i>Serratia marcessens</i>	250	1580	>2900	>1250
81	<i>Citrobacter freundii</i>	350	1580	>2900	>1250
84	<i>Pasteurella trehalose</i>	320	1020	>2900	>1250
85	<i>Serratia phymulthica</i>	1060	810	>2900	>1250
88	<i>Serratia phymulthica</i>	180	1040	>2900	>1250
90	<i>Bacillus firmus</i>	710	640	>2900	>1250
91	<i>Bacillus firmus</i>	1060	1070	2500	>1250
96	<i>Bacillus firmus</i>	710	760	>2900	>1250
98	<i>Arthrobacter crystallopoietis</i>	1060	430	>2900	>1250

102	<i>Aureobacterium esteraromaticum</i>	140	1070	2170	>1250
103	<i>Bacillus sphaericus</i>	710	360	>2900	>1250
104	<i>Bacillus subtilis</i>	1270	1070	>2900	>1250

Os isolados da coleta 2 (Tabela 8) pertencem a 9 gêneros distintos, sendo *Serratia* sp. o gênero predominante, com 30% dos isolados, seguido por *Bacillus* sp., com 25%, e *Pasteurella* sp., com 15% dos isolados. Os valores máximos de CIM para o cromo foram verificados com as espécies *Pasteurella anatis* e *Enterobacter aerogenes* (1410 mg.L⁻¹), *Pasteurella multocida* (1300 mg.L⁻¹) e *Bacillus subtilis* (1270 mg.L⁻¹), e o CIM máximo do cobre foi de 1580 mg.L⁻¹, observado com as espécies *Burkholderia gladioli*, *Serratia phymulthica*, *Serratia marcessens* e *Citrobacter freundii*. Espécies dos gêneros *Bacillus* sp., *Pseudomonas* sp. e *Serratia* sp. também foram isoladas do processo de compostagem de resíduos orgânicos domésticos por Taiwo & Oso (2004), sendo os gêneros de maior representatividade durante o processo.

Tabela 9. Perfil de resistência a metais pesados de isolados de compostagem da Coleta 11.

Isolado	Espécie	Concentração Inibitória Mínima (mg.L ⁻¹)			
		Cr ³⁺	Cu ²⁺	Zn ²⁺	Pb ²⁺
552	<i>Citrobacter amalonaticus</i>	1100	640	>2900	>1250
553	<i>Serratia plymulthica</i>	740	1070	>2900	>1250
554	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1060	790	>2900	>1250
556	<i>Serratia proteamaculans</i>	710	760	>2900	>1250
558	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	740	810	>2900	>1250
562	<i>Klebsiella planticola</i>	740	790	>2900	>1250
566	<i>Xanthomonas fragariae</i>	740	640	>2900	>1250
567	<i>Xanthomonas fragariae</i>	740	760	>2900	>1250
569	<i>Chromobacterium violaceum</i>	740	640	2120	>1250
593	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	880	1270	>2900	>1250
594	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	950	1140	>2900	>1250
595	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1300	1580	>2900	>1250

596	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1410	1320	>2900	>1250
598	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1100	1300	>2900	>1250
599	<i>Citrobacter freundii</i>	1240	1320	>2900	>1250
601	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1450	790	>2900	>1250
602	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1450	890	>2900	>1250
603	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	710	810	>2900	>1250
604	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1240	1650	870	370
605	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1410	810	>2900	>1250
606	<i>Serratia plymuthica</i>	390	1270	>2900	>1250
608	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	390	1170	>2900	>1250
609	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	990	1580	>2900	>1250
611	<i>Enterobacter aerogenes</i>	420	1580	>2900	>1250
612	<i>Enterobacter aerogenes</i>	710	860	>2900	>1250
613	<i>Enterobacter aerogenes</i>	600	1580	>2900	>1250
614	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	530	1020	>2900	>1250
616	<i>Enterobacter intermedius</i>	390	1020	>2900	>1250
619	<i>Enterobacter intermedius</i>	390	1300	>2900	>1250
620	<i>Yersinia intermedia</i>	280	1070	>2900	>1250
621	<i>Serratia odorifera</i>	390	1040	>2900	>1250
622	<i>Citrobacter koseri</i>	780	1020	>2900	>1250
623	<i>Citrobacter koseri</i>	490	1580	>2900	>1250
624	<i>Citrobacter amalonaticus</i>	390	1580	>2900	>1250
625	<i>Citrobacter amalonaticus</i>	420	1530	>2900	>1250
626	<i>Citrobacter koseri</i>	420	1320	>2900	>1250

A tabela 9 apresenta os isolados do composto maturado, que pertencem a 8 gêneros, sendo *Pseudomonas* sp. o gênero predominante, com 33,3% dos isolados, seguido por *Citrobacter* sp., com 19,4%, e *Enterobacter* sp., com 13,9%. As espécies resistentes a valores de CIM de 1100 a 1450 mg.L⁻¹ de cromo foram *Pseudomonas aeruginosa*, com 7 isolados resistentes, *Citrobacter amalonaticus* e *Citrobacter freundii*, com 1 isolado resistente de cada espécie. Os valores de resistência máxima ao cobre, no intervalo de 1320 a 1650 mg.L⁻¹ foram observados nos gêneros *Citrobacter* sp. (5 isolados), *Pseudomonas* sp. (4 isolados) e *Enterobacter* sp. (2 isolados).

Symanski (2005) observou que o gênero *Pseudomonas* sp. foi o mais tolerante aos metais testados, como cádmio, cromo, cobre, chumbo, mercúrio, níquel e zinco, apresentando maior valor de tolerância ao cobre. Neste mesmo trabalho, os gêneros *Citrobacter* sp. e *Pasteurella* sp. mostraram maior tolerância ao zinco em relação aos outros metais, e o gênero *Serratia* sp. apresentou maior tolerância ao cobre, resultado semelhante ao perfil de resistência do gênero no presente trabalho.

Perron et al. (2004) investigando o perfil de resistência de *P. aeruginosa* de isolados clínicos, observaram maior valor de CIM com o zinco, que estaria relacionado com a liberação deste metal de catéteres urinários, promovendo a seleção de isolados resistentes durante a infecção. Já Matyar et al. (2010) observaram em *P. aeruginosa* isoladas de biofilmes maior resistência com o cobre, com 54,3% dos isolados resistentes ao CIM de 800 a >3200 mg.L⁻¹ deste metal.

4.4.2. Isolados Resistentes a Antimicrobianos e Metais Pesados

Ao longo deste trabalho foram avaliados os perfis de resistência a antimicrobianos e metais pesados dos isolados de compostagem com lodo ativado de esgoto. Foi obtido o perfil de resistência aos antimicrobianos do total de isolados (344), dos quais 91 foram selecionados para os testes de resistência a metais pesados por serem oriundos das coletas 2 e 11 (início x final do processo de compostagem).

Os critérios utilizados para selecionar isolados resistentes tanto a antimicrobianos quanto a metais pesados foi resistência a mais de 7

antimicrobianos e valores de CIM superiores a 710 mg.L⁻¹ de Cr³⁺, 1040 mg.L⁻¹ de Cu²⁺, >2900 mg.L⁻¹ de Zn²⁺ e >1250 mg.L⁻¹ de Pb²⁺ (Tabela 10).

Tabela 10. Perfil de resistência a antimicrobianos e metais pesados dos isolados de compostagem das coletas 2 e 11.

Isolado	Espécie	Coleta	Antimicrobianos	MIC Cr ³⁺	MIC Cu ²⁺	MIC Zn ²⁺	MIC Pb ²⁺
79	<i>Serratia marcessens</i>	2	7	250	1580	>2900	>1250
593	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	11	9	880	1270	>2900	>1250
594	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	11	9	950	1140	>2900	>1250
595	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	11	9	1300	1580	>2900	>1250
598	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	11	8	1100	1300	>2900	>1250
599	<i>Citrobacter freundii</i>	11	9	1240	1320	>2900	>1250
601	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	11	8	1450	790	>2900	>1250
604	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	11	8	1240	1650	870	370
605	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	11	8	1410	810	>2900	>1250
609	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	11	8	990	1580	>2900	>1250

A espécie predominante foi *Pseudomonas aeruginosa*, com 8 isolados oriundos do composto maturado, resistentes a no mínimo 8 antimicrobianos. Oyetibo et al. (2010), em um levantamento de perfis de resistência de bactérias em sistemas contaminados na Turquia, obtiveram isolados de *P. aeruginosa* resistentes a 18 antibióticos e tolerância a 12mM de Cr⁶⁺.

Estes isolados de *P. aeruginosa* obtidos a partir do composto maturado podem ser clones, pois apresentam o mesmo perfil de resistência aos antimicrobianos testados, embora os isolados 601, 604 e 605 tenham apresentado diferentes perfis de resistência a metais pesados, respondendo diferentemente ao cobre e zinco.

Citrobacter freundii foi resistente a 9 antimicrobianos e apresentou altos valores de CIM, 1240 e 1320 mg.L⁻¹ de cromo e cobre, respectivamente, sendo isolado do composto maturado. Há registros de isolamento de espécies do gênero *Citrobacter* sp. de processos de compostagem de resíduos urbanos (Symanski, 2005), de compostagem de serragem e farelos de trigo para fins de produção de cogumelos comestíveis (Gbolagade, 2006), e a espécie *Citrobacter freundii* foi isolada de solos contaminados com petróleo, realizando a degradação de hidrocarbonetos (Mihial et al., 2006).

Serratia marcescens foi resistente a 7 antimicrobianos e apresentou CIM máximo de 1580 mg.L⁻¹ para o cobre. Foi isolada do início do processo de compostagem, e sua origem pode estar relacionada ao material do lodo de esgoto, conforme Tiago et al. (2004) relataram seu isolamento de lodo compostado.

As análises dos perfis de resistência a metais pesados mostraram uma tendência de isolamento de espécies resistentes no início e no final do processo de compostagem. Esses metais são oriundos de diversas fontes de materiais e atividades urbanas e industriais, a citar o cobre, que pode ser encontrado em fertilizantes agrícolas e conservantes; o cromo, que está presente em corantes e tintas, e amplamente empregado na indústria de curtição do couro, o chumbo está presente em tintas, baterias, metalurgias e tubulações; e o zinco é utilizado em corantes, conservantes de madeira e borrachas, além de estar presente em medicamentos e cosméticos (ASTDR).

O perfil de resistência não está somente relacionado a antimicrobianos e metais pesados, mas também a outras substâncias

presentes nos resíduos orgânicos e efluentes, como desinfetantes, conservantes, e outros produtos químicos biocidas de origem doméstica. As bombas de efluxo estão intimamente ligadas aos processos de extrusão de substâncias químicas para o exterior da célula bacteriana como mecanismo de defesa dos micro-organismos (Webber & Piddock, 2003).

Com a observação de altas concentrações de metais presentes no lodo de esgoto, apresentada neste trabalho, não pode ser descartada a possibilidade de liberação de resíduos industriais junto aos sistemas de escoamentos de efluentes domiciliares, resgatando que essas altas concentrações de metais comprometem a qualidade do lodo e as características do local para onde o produto do tratamento será destinado. A legislação estabelecida para o tratamento de efluentes industriais deve ser acatada, contribuindo para a qualidade do sistema de tratamento de resíduos urbanos.

4.5. Resolução 375/2006 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA)

A Resolução do CONAMA preconiza padrões de quantificação microbiológica e parasitológica para produtos derivados de tratamento do lodo ativado de esgoto, de forma a serem enquadrados como bio-sólidos de Classe A. As determinações asseguram a liberação de um produto de qualidade, a ser utilizado de forma agrônômica ou para a recuperação de áreas degradadas.

A tabela 11 apresenta os resultados das análises realizadas neste trabalho, comparados aos valores quantitativos dos parâmetros estabelecidos pela legislação.

Tabela 11. Padrões microbiológicos preconizados pelo CONAMA e valores obtidos do produto de compostagem.

Padrão	Limite (CONAMA)	Resultado
<i>Escherichia coli</i>	10^3 UFC.g ⁻¹	4×10^4 UFC.g ⁻¹
<i>Salmonella</i> sp.	ausente em 10g	Ausente
Ovos de helmintos	0,25. g ⁻¹	Ausente

Os resultados dos testes colimétricos realizados neste trabalho apontaram a presença de *Escherichia coli* no composto maturado, em contagem superior, que vai de encontro com o limite padronizado pelo CONAMA, de 10^3 UFC.g⁻¹ de composto maturado. Esse parâmetro foi previamente discutido com os resultados de colimetria deste trabalho.

Não foram identificados isolados bacterianos do gênero *Salmonella* sp. na Coleta 11, referente ao composto maturado. De modo que não tenha sido realizada a identificação dos isolados desde o início do processo, não se pode confirmar sua presença nos estágios iniciais da compostagem, muito menos que tenha sido eliminada ao longo do processo. Há também a possibilidade de que a etapa de pré-enriquecimento da amostra tenha apresentado falhas, comprometendo a eficiência da detecção.

Khalil et al. (2011) reportaram a redução na contagem de *Salmonella* sp. de $3,3 \times 10^5$ UFC.g⁻¹ no início do processo de compostagem com lodo para 2 UFC.g⁻¹ após a temperatura da leira atingir 60°C em 2 semanas, não sendo identificada ao final do processo. Hassen et al. (2002) confirmou presença de

Salmonella sp. no início do processo de compostagem, não sendo mais detectada após a temperatura da leira atingir 60°C. A ausência do gênero também foi confirmada em resultados de Colón et al. (2010). Paniel et al. (2009) eliminou a *Salmonella* sp. após ter sido inoculada em um sistema de compostagem com aeração forçada, e Macklin et al. (2008) reportou eliminação total do gênero em processo de compostagem domiciliar. Esses resultados sustentam a confirmação de que o processo de compostagem é eficiente na eliminação de *Salmonella* sp. do composto.

Não foram identificados ovos de helmintos ao final do processo de compostagem. É possível que não houvesse ovos viáveis no conteúdo do lodo ativado que foi misturado à leira de compostagem, ou ainda as altas temperaturas podem ter contribuído para a eliminação dos ovos durante a fase termofílica da compostagem.

O mesmo resultado foi observado em um sistema de compostagem com esterco de porco, com elevação da temperatura de 55 a 65°C, em que não foram encontrados ovos de *Ascaris suum* que tivessem completado o desenvolvimento, sendo constatados como inviáveis (Collick et al, 2007). Silva et al. (2008) consideraram o pH e as interações interespecíficas durante o processo de compostagem com lodo como fatores adicionais, além da temperatura, para a eliminação total de ovos de helmintos durante o experimento.

Corrêa et al. (2007) identificaram ovos de *Ascaris* sp. na massa do lodo ativado (3,3 ovos.g⁻¹), sendo encontrados valores máximos de 0,18

ovos.g⁻¹ ao final do processo de compostagem convencional, e ausência de ovos ao final do processo sucessor, de vermicompostagem.

Por outro lado, Koné et al. (2007) não obtiveram sucesso na eliminação total de ovos de helmintos de compostagem com lodo de origem fecal, detectando ao final do processo valores abaixo de 1 ovo.g⁻¹ de composto.

Embora os padrões “presença de *Salmonella* sp.” e “presença de ovos de helmintos” estejam enquadrados nas regulamentações do CONAMA para a liberação e disposição do composto oriundo de biossólidos para uso agrônômico, o número mais provável (NMP) de *E. coli*, durante os testes colimétricos, apontou contagem superior à preconizada pela legislação, sugerindo, assim, a necessidade de controle microbiológico adicional ao final do processo de compostagem.

5. CONCLUSÃO

As bactérias isoladas ao longo do processo de compostagem apresentaram um elevado perfil de resistência, com 88% dos isolados resistentes a pelo menos um antimicrobiano, e 72% multirresistentes.

Os gêneros que apresentaram maior perfil de resistência aos antimicrobianos foram *Pasteurella* sp., *Burkholderia* sp. e *Pseudomonas* sp.

Embora os isolados do composto maturado tenham apresentado percentuais maiores de resistência em relação aos isolados do início do processo de compostagem, a diferença não é considerada relevante, podendo ser uma resposta da permanência dos metais pesados no sistema de compostagem, do início ao final do processo. Os gêneros mais resistentes foram *Serratia* sp., *Pseudomonas* sp. e *Citrobacter* sp.

Escherichia coli apresentou contagem superior aos valores preconizados pelo CONAMA, comprometendo a qualidade do composto maturado frente aos padrões estabelecidos.

6. REFERÊNCIAS

ABAD, F.X.; PINTÓ, R.M.; VILLENA, C.; BOSCH, A. Astrovirus survival in drinking water. **Applied and Environment Microbiology**, v. 63, p. 3119-3122, 1997.

ADAS, Agricultural Development and Advisory Service, 2001. The Safe Sludge Matrix. Guidelines for the application of sewage sludge to arable and horticultural crops. (www.adas.co.uk).

ADHIKARI, B.K.; TRÉMIER, K.; MARTINEZ, J.; BARRINGTON, S. Home and community composting for on-site treatment of urban organic waste: perspective for Europe and Canada. **Waste Management & Research**, v. 28, p. 1039-1053, 2010.

ALAM, M.Z.; AHMAD, S. MALIK, A. Prevalence of heavy metal resistance in bacteria isolated from tannery effluents and affected soil. **Environmental Monitoring and Assessment**. 2010.

ALVES, A.M.O. Quantificação e identificação de ovos de helmintos em esgoto bruto e tratado. Programa de Pós-Graduação em Recursos Hídricos e Saneamento Ambiental. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Monografia de Especialização. 2005.

ANDREOLI, C. V.; PEGORINI, E. S.; FREGADOLLI, P.; CASTRO, L. A R. Diagnóstico do potencial dos solos da região de Maringá para disposição final do lodo gerado pelos sistemas de tratamento de esgoto do município. *Revista Técnica da Sanepar (Sanare)*, v. 13, n. 13, p. 40–50, 2000.

ARAÚJO, J.C.T. & NASCIMENTO, C.W.A. Fracionamento e disponibilidade de zinco por diferentes extratores em solos incubados com lodo de esgoto. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, v. 29, p. 977-985, 2005.

ARIKAN, O.A.; MULBRY, W.; RICE, C. Management of antibiotic residues from agricultural sources: Use of composting to reduce chlortetracycline residues in beef manure from treated animals. **Journal of Hazardous Materials** 164 p. 483–489, 2009.

ARTHURSON, V. Proper Sanitization of Sewage Sludge: a Critical Issue for a Sustainable Society. Minireview. **Applied and environmental microbiology**, v. 74, p. 5267–5275, 2008.

ASTDR. Agency for Toxicology Substances and Disease Registry. Department of Health and Human Service. www.astdr.cdc.gov.

AYPAK, C.; ALTUNSOY, A.; NURSEN DÜZGÜN, N. Empiric antibiotic therapy in acute uncomplicated urinary tract infections and fluoroquinolone resistance: a prospective observational study. **Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials**, v. 8, n. 27, 2009.

BARRENA, R.; PAGANS, E.; ARTOLA, A.; VÁZQUEZ, F.; SÁNCHEZ, A. Co-composting of hair waste from the tanning industry with de-inking and municipal wastewater sludges. **Biodegradation**, v. 18, p. 257–268, 2007.

BEIGL, P.; LEBERSORGER, S.; SALHOFER, S. Modelling municipal solid waste generation A review. **Waste Management & research**, v. 28, p. 200–214, 2008.

BINDER, D. L.; DOBERMANN, A.; SANDER, D. H.; CASSMAN, K. G. Biosolids as nitrogen source for irrigated maize and rainfed sorghum, **Soil Science Society American Journal**, v. 66, p. 531–543, 2002.

BRIANCESCO, R.; COCCIA, A.M.; CHIARETTI, G.; DELLA LIBERA, S.; SEMPRONI, M.; BONADONNA, L. Assessment of microbiological and parasitological quality of composted wastes: health implications and hygienic measures. **Waste Management & Research**, v. 26, p. 196–202, 2008.

BROOKS, J.P.; MAXWELL, S.L.; RENSING, C.; GERBA, C.P.; PEPPER, I.L. Occurrence of antibiotic-resistant bacteria and endotoxin associated with the land application of Biosolids. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 53, p. 616–622, 2007.

BRUINS, M.R.; KAPIL, S.; OEHME, F.W. Microbial resistance to metals in the environment. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 45, p. 198–207, 2000.

BUENO P.; TAPIAS, R.; LÓPEZ, F.; DÍAZ, M. J. Optimizing composting parameters for nitrogen conservation in composting. **Bioresource Technology**, v. 99, p. 5069–5077, 2008.

BURGE, W.D.; COLACICCO, D.; CRAMER, W.N. Criteria for achieving pathogen destruction during composting. **Journal of the Water Pollution Control Federation**, v. 53, p. 1683–1690, 1981.

BUTLER, S.L.; DOHERTY, C.J.; HUGHES, J.E.; NELSON, J.W.; GOVAN, J.R.W. *Burkholderia cepacia* and cystic fibrosis: do natural environments

present a potential hazard. **Journal Clinical Microbiology**, v. 33, p. 1001–1004, 1995.

CAIN, C.C.; HENRY, A.T.; WALDO, R.H.; CASIDA, L.J.; FALKINHAM, J.O. Identification and characteristics of a novel *Burkholderia* strain with broad-spectrum antimicrobial activity. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 66, p. 4139–4141, 2000.

CAPIZZ-BANAS, S.; DELOGE, M.; REMY, M.; SCHWARTZBROD, J. Liming as an advanced treatment for sludge sanitisation: helminth eggs elimination *Ascaris* eggs as model. **Water Research**, v. 38, p. 3251–3258, 2004.

CEUSTERMANS, A.; DE CLERCQ, D.; AERTSEN, A.; MICHIELS, C.; COOSEMANS, J.; RYCKEBOER, J. Inactivation of *Salmonella* Senftenberg strain W 775 during composting of biowastes and garden wastes. **Journal of Applied Microbiology**, v. 103, p. 53–64, 2007.

CHANG, J.I.; TSAI, J.J.; WU, K.H. Composting of vegetable waste. **Waste Management & Research**, v. 24, p. 354–362, 2006.

CHIRWA, E.N.; WANG, Y.T. Simultaneous chromium (VI) reduction and phenol degradation in an anaerobic consortium of bacteria. **Water Research**, Oxford, v.34, n.8, p.2376, 2000.

COFIE, O.; KONE, D.; ROTHENBERGER, S.; MOSER, D.; ZUBRUEGG, C. Co-composting of faecal sludge and organic solid waste for agriculture: Process dynamics. **Water Research**, v. 43, p. 4665 – 4675, 2009.

COLLICK, A.S.; INGLIS, S.; WRIGHT, P.; STEENHUIS, T.S.; BOWMAN, D.D. Inactivation of *Ascaris suum* in a biodrying compost system. **Journal of Environmental Quality**, v. 36, p. 1528-1533, 2007.

COLÓN, J.; RUGGIERI, L.; SÁNCHEZ, A.; GONZÁLEZ, A.; PUIG, I. Possibilities of composting disposable diapers with municipal solid wastes. **Waste Management & Research**, v. 29, n. 3, p. 249–259, 2010.

CONKLIN, J.D. The pharmacokinetics of nitrofurantoin and its related bioavailability. **Antibiotic and Chemotherapy**, 25: 233–52. 1978.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE - CONAMA. Resolução nº 375, de 29 de agosto de 2006. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res06/res37506.pdf>. Acesso em: 5 de janeiro de 2011.

CORRÊA, R.S.; FONSECA, Y.M.F.; CORRÊA, A.S. Produção de biossólido agrícola por meio da compostagem e vermicompostagem de lodo de esgoto. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.11, n.4, p.420–426, 2007.

COSTA, C.N.; MEURER, E.J.; BISSANI, C.A.; SELBACH, P.A. Contaminantes e poluentes do solo e do ambiente. *In*: Fundamentos de química do solo. Egon José Meurer (editor). Porto Alegre: Genesis, 2004.

DE BERTOLDI, M.; VALLINI, G.; PERA, A. The Biology of Composting: A review. **Waste Management and Research**, 1, 167-176. 1983.

DE JONG, M.F. Progressive and nonprogressive atrophic rhinitis. *In*: Straw, B.E.; D'Allaire, S.; Mengeling, W.L.; Taylor, D.J. (Eds.), Diseases of Swine. eighth ed. Iowa State University Press, Ames, Iowa, p. 355–384, 1999.

DÉPORTES, I.; BENOIT-GUYOD, J.-L.; ZMIROU, D. Hazard to man and the environment posed by the use of urban waste compost: a review. **Science Total Environment** 172, 197–222. 1995.

DOELMAN, P.; MICHELS, M.; VAN TIL, M. Effects of heavy metals in soil on microbial diversity and activity as shown by the sensitivity resistance index, an ecologically relevant parameter. **Biology and Fertility of Soils**, v. 17, p. 177–184, 1994.

EDRINGTON, T.S.; FOX, W.E.; CALLAWAY, T.R.; ANDERSON, R.C.; HOFFMAN, D.W.; NISBET, D.J. Pathogen prevalence and influence of composted dairy manure application on antimicrobial resistance profiles of commensal soil bacteria. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 6, p. 217–224, 2009.

FEACHEM, R.G., BRADLEY, D.J., GARELICK, H., MARA, D.D. Sanitation and Disease: Health Aspects of Excreta and Wastewater Management. Wiley, New York. 1983.

ELLIOT, H. A.; O'CONNOR, G. A.; BRINTON, S. Phosphorus leaching from biosolids-amended sandy soils. **Journal. Environment Quality**, v. 31, p. 681–689, 2002.

FERNANDES, F.; SILVA, S.M.C.P. Manual prático para a compostagem de biossólidos. Rio de Janeiro; PROSAB; 1999. 84 p.

FERNANDES, F.; SOUZA, S. G. Estabilização do lodo de esgoto. *In*: Resíduos sólidos do saneamento: processamento, reciclagem e disposição final. Cleveron Vitorio Andreoli (coordenador). Rio de Janeiro : RiMa, ABES, 2001.

FERREIRA, A.C.; AANDREOLI C.V. Produção e características dos biossólidos. *In*: Andreoli, C.V. (Coord.). Uso e manejo do lodo de esgoto na agricultura. Rio de Janeiro : ABES, 1999. 97p.

FRANZ, E.; VAN DIEPENINGEN, A.D.; DE VOS, O.J.; VAN BRUGGEN, A.H.C. Effects of cattle feeding regimen and soil management type on the fate of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella enterica* serovar Typhimurium in manure, manure-amended soil, and lettuce. **Applied and Environmental Microbiology**, 71, p. 6165-6174, 2005.

FROST, L.; LEPLAE, R.; SUMMERS, A.; TOUSSAINT, A. Mobile genetic elements: The agents of open source evolution. **Nature Reviews in Microbiology**, v. 3, p. 722-732, 2005.

FUKUMOTO, Y.; MORIYAMA, Y.; IGURO, Y.; TODA, R.; TAIRA, A. *Pasteurella multocida* endocarditis: report of a case. **Surgery Today**, v. 32, p. 513-515, 2002.

FUKUMOTO, Y. & INUBUSHI, K. Effect of nitrite accumulation on nitrous oxide emission and total nitrogen loss during swine manure composting. **Soil Science and Plant Nutrition**, v. 55, p. 428-434, 2009.

GAASENBEEK, C.P.H., BORGSTEEDE, F.H.M. Studies on the survival of *Ascaris suum* eggs under laboratory and simulated field conditions. **Vet. Parasitology**, 75 (2-3), 227-234. 1998.

GANTZER, C.; GASPARD, P.; GALVEZ, L.; HUYARD, A.; DUMOUTHIER, N.; SCHWARTZBROD, J. Monitoring of bacterial and parasitological contamination during various treatment of sludge. **Water Research**, v. 35, p. 3763-3770, 2001.

GARREC, N.; PICARD-BONNAUD, F.; POURCHER, A.M. Occurrence of *Listeria* sp. and *L. monocytogenes* in sewage sludge used for land application: Effect of dewatering, liming and storage in tank on survival of *Listeria* species. **FEMS Immunology & Medical Microbiology**, v. 35, p. 275-283, 2003.

GARRIDO, S.; DEL CAMPO, G.M.; ESTELLER, M.V.; VACA, R.; LUGO, J. Heavy metals in soil treated with sewage sludge composting, their effect on yield and uptake of broad bean seeds (*Vicia faba* L.) **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 66, p. 303-319, 2005.

GBOLAGADE, J.S. Bacteria associated with compost used for cultivation of Nigerian edible mushrooms *Pleurotus tuber-regium* (Fr.) Singer, and *Lentinus squarrosulus* (Berk.). **African Journal of Biotechnology**, v.5, n.4, p. 338-342, 2006.

GIBSON, R. L.; BURNS, J.L.; RAMSEY, B.W. Pathophysiology and management of pulmonary infections in cystic fibrosis. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 168, p. 918-951, 2003.

GIOVANELLA, P.; BENTO, F.; CABRAL, L.; GIANELLO, C.; CAMARGO, F.A.O. Isolamento e seleção de micro-organismos resistentes e capazes de volatilizar mercúrio. **Química Nova**, v. 34, n.2, p.232-236, 2011.

GÖBEL, A.; McARDELL, C. S.; JOSS, A.; SIEGRIST, H.; GIGER, W. Fate of sulfonamides, macrolides, and trimethoprim in different wastewater treatment technologies. **Science of Total Environment**, v. 372, p. 361-371, 2007.

GOMES, E.; GUEZ, M.A.U.; MARTIN, N.; SILVA, R. Enzimas termoestáveis: fontes, produção e aplicação industrial. **Química Nova**, v. 30, n. 1, p. 136-145, 2007.

GOMES, L.P.; COELHO, O.W.; ERBA, D. A.; VERONEZ, M. Critérios de seleção de áreas para disposição final de resíduos sólidos. *In*: Resíduos sólidos do saneamento: processamento, reciclagem e disposição final. Cleverson Andreoli (coordenador). Rio de Janeiro : RiMa, ABES, 2001.

GRIFFIN, D.W.; DONALDSON, K.A.; PAUL, J.H.; ROSE, J.B. Pathogenic human viruses in coastal waters. **Clinical Microbiology Review**, v. 16, p.129-143, 2003.

GUAN, J.; WASTY, A.; GRENIER, C.; CHAN, M. Influence of temperature on survival and conjugative transfer of multiple antibiotic-resistant plasmids in chicken manure and compost microcosms. **Poultry Science**, v. 86, p. 610-613, 2007.

GUILLET, C.; JOIN-LAMBERT, O.; CARBONELLE, E.; FERRONI, A.; VACHEE, A. *Pasteurella multocida* sepsis and meningitis in 2-month-old twin infants after household exposure to a slaughtered sheep. **Clinical Infectious Disease**, v. 45, p. 80-81, 2007.

HANAJIMA, D.; KURODA, K.; MORISHITA, K.; FUJITA, J.; MAEDA, K.; MORIOKA, R. Key odor components responsible for the impact on olfactory sense during swine feces composting. **Bioresources Technology**, v. 101, p. 2306-2310, 2010.

HASSEN, A.; BELGUITH, K.; JEDIDI, N.; CHERIF, M.; BOUDABOUS, A. 2002. Microbial characterization during composting of municipal solid waste. Proceedings of International Symposium on Environmental Pollution Control and Waste Management & Research. 7-10. Tunis (EPCOWM'2002), p. 357-368.

HAUG, R.T. 1993. The practical handbook of compost engineering. Lewis Publishers, Boca Raton, Fl.

HAY, J.C. Pathogen destruction and biosolids compost. **Biocycle**, v. 37, p. 67-77, 1996.

HERINGA, S.; KIM, J.; SHEPHERD, M.W. Jr., SINGH, R.; JIANG, X. The Presence of Antibiotic Resistance and Integrons in *Escherichia coli* Isolated from Compost. **Foodborne pathogens and disease**, v.7, n. 11, 2010.

HERNÁNDEZ, T.; MASCIANDARO, G.; MORENO, J.I.; GARCIA, C. Changes in organic matter composition during composting of two digested sewage sludges. **Waste Management & Research**, v. 26, p. 1370-1376, 2006.

HILBORN, E.D. *et al.* A multistate outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infections associated with consumption of mesclun lettuce. **Archives of Internal Medicine**, v. 159, p. 1758-1764, 1999.

HIRSCH, R.; TERNES, T.; HABERER, K.; KRATZ, K. Occurrence of antibiotics in the aquatic environment. **Science Total Environment**, v. 225, p. 109-118, 1999.

HOFFMEISTER, D. Avaliação da comunidade bacteriana durante o processo de compostagem de lixo urbano. Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2002. Dissertação de Mestrado em Microbiologia Agrícola e do Ambiente, Instituto de Ciências Básicas e da Saúde, UFRGS, 2002.

HÖLZEL, C.S.; SCHWAIGER, K.; HARMS, K.; KÜCHENHOFF, H.; KUNZ, A.; MEYER, K.; MÜLLER, C.; BAUER, J. Sewage sludge and liquid pig manure as possible sources of antibiotic resistant bacteria. **Environmental Research**, v. 110, p. 318-326, 2010.

HSU, J.; LO, S. Chemical and spectroscopic analysis of organic matter transformation during composting of pig manure. **Environmental Pollution**, v. 104, p. 189-196, 1999.

HUSSEIN, H.; FARAG, S.; KANDIL, K.; MOAWAD, H. Tolerance and uptake of heavy metals by pseudomonads. **Process Biochemistry**, v. 40, p. 955- 961, 2005.

HUSSONG, D., BURGER W. D. and ENKIRI N. K. Occurrence, growth, and suppression of *Salmonellae* in composted sewage sludge. **Applied and Environment Microbiology** 50(4), 887-93. 1985.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Pesquisa Nacional de Saneamento Básico de 2008. Acesso em 27/05/2011. <http://www.ibge.gov.br>

ISLAM, M., MORGAN, J., DOYLE, M.P., PHATAK, S.C., MILNER, P.; JIANG, X. fate of *Salmonella enterica* serotype Typhimurium on carrots and radishes grown in fields treated with contaminated manure composts or irrigation water. **Applied and Environment Microbiology** 70, 2497–2502. 2004.

JAHNEL, M.C.; MELLONI, R.; CARDOSO, E.J.B.N. Maturidade de composto de lixo urbano. **Scientia agrícola**, v. 56, n.2 Piracicaba 1999.

JORDÃO, E. P.; PESSOA, C. A. Tratamento de esgotos domésticos. 3ª ed. Rio de Janeiro: ABES, 1995.

KAKIMOTO, T.; OSAWA, T.; FUNAMIZU, N. Antibiotic effect of amoxicillin on the feces composting process and reactivation of bacteria by intermittent feeding of feces. **Bioresource Technology**, v. 98, p. 3555-3560, 2007.

KALAMDHAD, A.S.; KAZMI, A.A. Rotary drum composting of different organic waste mixtures. **Waste Management & Research**, v. 27, p. 129-137, 2009.

KASHEF, N.; DJAVID, G. E.; SHAHBAZI, S. Antimicrobial susceptibility patterns of community-acquired uropathogens in Tehran, **Iran Journal of Infection in Developing Countries**, v. 4, n. 4, p. 202-206, 2010.

KASZAB, E.; SZOBOSZLAY, S.; DOBOLYI, C.; HÁHN, J.; PÉK, N.; KRISZT, B. Antibiotic resistance profiles and virulence markers of *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from composts. **Bioresource Technology**, v. 102, p. 543-548, 2011.

KAYE, K.S.; ENGEMANN, J.J.; FRAIMOW, H.S.; ABRUTYN, E. Pathogens resistant to antimicrobial agents: epidemiology, molecular mechanisms, and clinical management. **Infectious Disease Clinics of North America**, v.18, p. 467-511, 2004.

KHALIL, A.I.; HASSOUNA, M.S.; EI-ASHQAR, H.M.A.; M. FAWZI, M. Changes in physical, chemical and microbial parameters during the composting of municipal sewage sludge. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, 2011.

KIANIRAD, M.; MUAZARDALAN, M.; SAVAGHEBI, G.; FARAHBAKHSI, M.; MIRDAMADI, S. Effects of temperature treatment on corn cob composting and reducing of composting time: a comparative study. **Waste Management & Research**, v. 28, p. 882-887, 2010.

KIM, S.; JENSEN, J.N.; AGA, D.S.; WEBER, A.S. Tetracycline as a selector for resistant bacteria in activated sludge. **Chemosphere**, v. 66, n. 9, p. 1643-1651, 2007.

KIM, J.; SHEPHERD Jr., M.W.; JIANG, X. Evaluating the Effect of Environmental Factors on Pathogen Regrowth in Compost Extract. **Microbial Ecology**, v. 58, p. 498-508, 2009.

KOBYA, M.; DEMIRBAS, E.; SENTURK, E.; INCE, M. Adsorption of heavy metal ions from aqueous solutions by activated carbon prepared from apricot stone. **Bioresources & Technology**, V. 96(13): 1518-1521, 2005.

KONÉ, D.; COFIE, O.; ZURBRÜGG, Z.; GALLIZI, K.; MOSER, D.; DRESCHER, S.; STRAUSS, M. Helminth eggs inactivation efficiency by faecal sludge

dewatering and co-composting in tropical climates. **Water Research**, v. 41, p. 4397-4402, 2007.

KORENTAJER, L. A review of the agricultural use of sewage sludge: Benefits and potential hazards, **Water, Air and Soil Pollution**, v.17, n.3. 189-196. 1991.

KREBS, R.; GUPTA, S.K.; FURRER, G. & SCHULIN, R. Solubility and plant uptake of metals with and without liming of sludge-amended soils. **Journal of Environmental and Quality**, v. 27, p.18-23, 1998.

KRIEG, N.R. & HOLT, J.C. (Eds.) Bergey's manual of systematic bacteriology. 9.ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1994.

KUMAR, S.; BHATTACHARYA, J.K.; VAIDYA, A.N.; CHAKRABARTI, T.; DEVOTTA, S.; AKOLKAR, A.B. Assessment of the status of municipal solid waste management in metro cities, state cities, class I cities, and class II towns in India: An insight. **Waste Management & Research**, v. 29, 883-895, 2009.

KUROLA, J.M.; ARNOLD, M.; KONTRO, M.H.; TALVES, M.; ROMANTSCHUK, M. Wood ash for application in municipal biowaste composting. **Bioresource Technology**, v.102, p. 5214-5220, 2011.

KUZYAKOV, Y., FRIEDEL, J.K., STAHR, K. Review of mechanisms and quantification of priming effects. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 32, p. 1485-1498, 2000.

LARSEN, M.N., ROEPSTORFF, A. Seasonal variation in development and survival of *Ascaris suum* and *Trichuris suis* eggs on pastures. **Parasitology** 119, 209–220. 1999.

LAWRENCE, J. G. Clustering of antibiotic resistance genes: Beyond the selfish operon. **ASM News**, v. 66, p. 281–286, 2000.

LEEDJÄRV, A.; IVASK, A.; VIRTA, M. Interplay of Different Transporters in the Mediation of Divalent Heavy Metal Resistance in *Pseudomonas putida* KT2440 **Journal of Bacteriology**, v. 190, n. 8, p. 2680-2689, 2008.

LEÓN, R.S.; ARROYO, L.A.C.; RODRIGUEZ, A.A.; ALAMEDA, M. Chemical and biological characterization of slaughterhouse wastes compost. **Waste Management**, v. 27, p. 1800-1807, 2007.

LEVY, S. B. Active efflux, a common mechanism for biocide and antibiotic resistance. **Journal of Applied Microbiology**, v. 92, p. 65-71, 2002.

LUCZKIEWICZ, A.; JANKOWSKA, K.; FUDALA-KSIAZEK, S.; OLANKZUK NEYMAN, K. Antimicrobial resistance of fecal indicators in municipal wastewater treatment plant. **Water research**, 44. 5089-5097. 2010.

MacFADDIN, J.F. **Biochemical tests for identification of medical bacteria.** Baltimore : Lippincot Williams & Wilkins, 2000. 912p.

MACKLIN, K.S.; HESS, J.B.; BILGILI, S. F. In-House Windrow Composting and Its Effects on Foodborne Pathogens. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 17, p. 121-127, 2008.

MAHENTHIRALINGAM, E.; BALDWIN, A.; VANDAMME, P. *Burkholderia cepacia* complex infection in patients with cystic fibrosis. **Journal of Medical Microbiology**, v. 51, p. 533-538, 2002.

MARTÍNEZ-MARTÍNEZ, L. & CALVO, J. El problema creciente de la resistencia antibiótica en bacilos gramnegativos: situación actual. **Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica**, v. 28(Supl 2), p. 25-31, 2010.

MASHOUF, R.Y.; BABALHAVAEJI, H.; YOUSEF, J. Urinary Tract Infections: Bacteriology and Antibiotic Resistance Patterns. **Indian pediatrics**, v. 46. 2009.

MASTER, E.R.; LAI, V.W.M.; KUIPERS, B.; CULLEN, W.R.; MOHN, W.W. Sequential anaerobic-aerobic treatment of soil contaminated with weathered aroclor 1260. **Environmental Science & Technology**, 36, 100–103. 2002.

MATYAR, F.; AKKAN, T.; UÇAK, Y.; ERASLAN, B. *Aeromonas* and *Pseudomonas*: antibiotic and heavy metal resistance species from Iskenderun Bay, Turkey (northeast Mediterranean Sea). **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 167, p. 309-320, 2010.

MAWDSLEY, J.L.; BARDGETT, R.D.; MERRY, R.J.; PAIN, B.F.; THEODORU, M.K. Pathogens in livestock waste, their potential for movement through soil and environmental pollution. **Applied Soil Ecology**, v. 2, p. 1-15, 1995.

MIHIAL, D.J.; VIRARAGHAVAN, T.; JIN, Y.C. Bioremediation of Petroleum-Contaminated Soil Using Composting. **Practice periodical of hazardous, toxic and radioactive waste management**, p. 108-115, 2006.

MILIUTE, J. & STANISLIS, J.K. Application of life-cycle assessment in optimization of municipal waste management systems: the case of Lithuania. **Waste Management & Research**, v. 28, p. 298-308, 2010.

MUPONDI, L.T.; MNKENI, P. NS.; MUCHAONYERWA, P. Effects of a precomposting step on the vermicomposting of dairy manure–waste paper mixtures. **Waste Management & Research**, v. 29, n. 2, p. 219-228, 2011.

NABA, M.R.; ARAJ, G.F.; KANAFANI, Z.A.; KANJ, S.S. First case of *Pasteurella multocida* endocarditis of the tricuspid valve: a favorable outcome following medical treatment. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 13, p. 267-269, 2009.

NAGULAPALLY, S.R., AHMAD, A., HENRY, A., MARCHIN, G.L., ZUREK, L., BHANDARI, A. Occurrence of ciprofloxacin-, trimethoprim-sulfamethoxazole-, and vancomycin-resistant bacteria in a municipal wastewater treatment plant. **Water Environmental Research**, v. 81, n. 1, p. 82-90. 2009.

NIES, D. H. Efflux-mediated heavy metal resistance in prokaryotes. **FEMES Microbiology Reviews**, v. 27, p. 313-339, 2003.

NIES, D. H. 2004. Metals and their compounds in the environment. Part II. In K. Anke, M. Ihnat, & M. Stoeppler (Eds.), *The elements: Essential and toxic effects on microorganisms*. Weinheim: VCH.

NIKOLAIDIS, N. P.; CHHEDA, P.; LACKOVIC, J. A.; GUILLARD, K.; SIMPSON, B.; PEDERSEN, T. Nitrogen mobility in biosolid-amended glaciated soil. **Water Environment Research**, v. 71, n. 3, p. 368-376, 1999.

OBERHASTER, G. South African practice in land disposal of sludge, including legislation and health aspects, **Water Science and Technology**, v. 15, p. 151-155, 1991.

OGUNWANDE, G.A.; OSUNADE, J.A.; ADEKALU, K.O.; OGUNJIMI, L.A.O. Nitrogen loss in chicken litter compost as affected by carbon to nitrogen ratio and turning frequency. **Bioresources Technology**, v. 99, n.16, 7495–7503, 2008.

OLIVEIRA, M.F. Isolamento e caracterização de actinomicetos isolados de processo de compostagem. Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2005. Dissertação de Mestrado em Microbiologia Agrícola e do Ambiente, Instituto de Ciências Básicas e da Saúde, UFRGS, 2003.

OSADA, T.; KURODA, K.; YONAGA, M. Determination of nitrous oxide, methane, and ammonia emissions from a swine waste composting process. **Journal of Material Cycles and Waste Management**, v. 2, p. 51-56, 2000.

OYETIBO, G.O.; ILORI, M.O.; ADEBUSOYE, S.A.; OBAYORI, O.S.; AMUND, O.O. Bacteria with dual resistance to elevated concentrations of heavy metals and antibiotics in Nigerian contaminated systems. **Environment Monitoring & Assessment**, v. 168, p. 305-314, 2010.

PALLANSCH, M.A.; ROOS, R.P. 2001. Enteroviruses: polioviruses, coxsackieviruses, echoviruses, and newer enteroviruses. *In* Fields Virology, Vol. 1, 4th edn, ed. Knipe, D.M.

PALMISANO, A.C.; BARLAZ, M.A. **Microbiology of solid waste**. Boca Raton: CRC Press; 1996.

PANIEL, N.; ROUSSEAU, S.; GOURLAND, P.; POITRENAUD, M.; GUZZO, J. Assessment of survival of *Listeria monocytogenes*, *Salmonella Infantis* and *Enterococcus faecalis* artificially inoculated into experimental waste or compost. **Journal of Applied Microbiology**, v. 108, p. 1797-1809, 2010.

PEDERSON, D. C. 1983. Effectiveness of sludge treatment processes in reducing levels of bacteria, viruses and parasites, p. 9–31. *In* P. M. Wallis and D. L. Lehman (ed.), *Biological health risks of sludge disposal to land in cold climates*. University of Calgary Press, Calgary, Alberta, Canada.

PEREIRA NETO, J.T. On the treatment of municipal refuse and sewage sludge using aerated static pile composting: a low cost technology approach. Tese de doutorado – University of Leeds, Leeds, 1987.

PEREIRA NETO, J.T. Tratamento e destinação de resíduos provenientes de empreendimentos agrícolas. Viçosa: ABEAS, 1996. 77p.

PERRON, K.; CAILLE, O.; ROSSIER, R.; VAN DELDEN, R.; DUMAS, J.L.; KÖHLER, T. CzcR-CzcS, a Two-component System Involved in Heavy Metal and Carbapenem Resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. **The Journal of biological chemistry**, v. 279, n. 10, p. 8761-8768, 2004.

PIETRONAVE, S.; FRACCHIA, L.; RINALDI, M.; MARTINOTTI, M.G. Influence of biotic and abiotic factors on human pathogens in a finished compost. **Water Research**, v. 38, p. 1963-1970, 2004.

PIJOAN, C. Pneumonic pasteurellosis. *In*: Straw, B.E., D'Allaire, S., Mengeling, W.L., Taylor, D.J. (Eds.), *Diseases of Swine*. Iowa State University Press, Ames, Iowa, p. 511–520. 1999.

PURI, A. & DUDLEY, E.G. Influence of indigenous eukaryotic microbial communities on the reduction of *Escherichia coli* O157:H7 in compost slurry. **Federation of European Microbiological Societies**, v. 313, p. 148-154, 2010.

RATHNAYAKE, V.N.; MEGHARAJ, M.; BOLAN, N.; NAIDU, R. Tolerance of Heavy Metals by Gram Positive Soil Bacteria. **Engineering and Technology**, v. 53, p. 1185-1189, 2009.

REBOLLIDO, R.; MARTÍNEZ, J.; AGUILERA, Y.; MELCHOR, K.; KOERNER, I.; STEGMANN, R. Microbial populations during composting process of organic fraction of municipal solid waste. **Applied ecology and environmental research**, v. 6, n. 3, p. 61-67, 2008.

REN, L.; LI, G.; SHEN, Y.; SCHUCHARDT, F.; PENG, L. Chemical precipitation for controlling nitrogen loss during composting. **Waste Management & Research**, v. 28, p. 385-394, 2010.

RIHANI, M.; MALAMIS, D.; BIHAOUI, B.; ETAHIRI, S.; LOIZIDOU, M.; ASSOBEI, O. In vessel treatment of urban primary sludge by aerobic composting. **Bioresource Technology**, v. 101, p. 5988-5995, 2010.

ROANE, T.M.; PEPPER, I.L. Microbial responses to environmentally toxic cadmium. **Microbial Ecology**, v. 38, p. 358-364, 2000.

RODRIGUES, K. Avaliação da atividade biocida de actinomicetos isolados de processo de compostagem. Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2005. Dissertação de Mestrado em Microbiologia Agrícola e do Ambiente, Instituto de Ciências Básicas e da Saúde, UFRGS, 2006.

SAHLSTRÖM, L. A review of survival of pathogenic bacteria in organic waste used in biogas plants. **Bioresource Technology**, v. 87, p.161-166, 2003.

SAHLSTRÖM, L.; ASPAN, A.; BAGGE, E.; DANIELSSON-THAM, M.-L.; ALBIHN, A. Bacterial pathogen incidences in sludge from Swedish sewage treatment plants. **Water Research**, v. 38, p. 1989-1994, 2004.

SALAMONI, S.P. Produção e caracterização de celulases secretadas por *Streptomyces* sp. isolado de processo de compostagem. Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2005. Dissertação de Mestrado em Microbiologia Agrícola e do Ambiente, Instituto de Ciências Básicas e da Saúde, UFRGS, 2005.

SALAMONI, S.P. Produção e caracterização de antimicrobianos produzidos por *Streptomyces* sp. Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2005. Tese de Doutorado em Microbiologia Agrícola e do Ambiente, Instituto de Ciências Básicas e da Saúde, UFRGS, 2010.

SALTER, C.; CUYLER, A. Pathogen reduction in food residuals composting. **Biocycle**, v. 44, p. 42-50, 2003.

SAN MILLAN, A.; ESCUDERO, J.A.; GUTIERREZ, B.; HIDALGO, L.; GARCIA, N.; LLAGOSTERA, M.; DOMINGUEZ, L.; GONZALEZ-ZORN, B. Multiresistance in *Pasteurella multocida* Is Mediated by Coexistence of Small Plasmids. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v.53, n.8, p. 3399-3404, 2009.

SANCHEZ-MONEDERO, M.A.; ROIG, A.; PAREDES, C.; BERNAL, M.P. Nitrogen transformation during waste composting by the Rutgers system and its effects on pH, EC and maturity of the composting mixtures. **Bioresource Technology**, v. 78, p. 301-308, 2001.

SANGUINETTI, G.S., TORTUL, C., GARCIA, M.C., FERRER, V., MONTANGERO, A., STRAUSS, M. Investigating helminth eggs and *Salmonella* sp. in stabilization ponds treating septage. **Water Science and Technology** 51 (12), 239-247. 2005.

SCOTT, B. & AHLSTROM, P. E. Irradiation of municipal sludge for agricultural use. **Radiation Physics and Chemistry**, 28, 1-3. 1985.

SEMENOV, A.V.; OVERBEEK, L.; TERMORSHUIZEN, A.J.; BRUGGEN, A.H.C. Influence of aerobic and anaerobic conditions on survival of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella enterica* serovar Typhimurium in Luria Bertani broth, farm-yard manure and slurry. **Journal of Environmental Management**, v. 92, p. 780-787, 2011.

SESSA, A.; DI GIUSEPPE, G.; MARINELLI, P.; ANGELILLO, I. F. Public concerns and behaviours towards solid waste management in Italy. Short Report. **European Journal of Public Health**, v. 20, n. 6, p. 631-633, 2009.

SHARMA, V.K.; CANDITELLI, M.; FORTUNA, F.; CORNACCHIA, G. Processing of urban and agroindustrial residues by aerobic composting: Review. **Energy Conversion Manage**, v. 38, p. 453-478, 1997.

SHEPHERD Jr, M.W.; LIANG, P.; JIANG, X.; DOYLE, M.P.; ERICKSON, M.C. Microbiological analysis of composts produced on South Carolina poultry farms **Journal of Applied Microbiology**, v. 108, p. 2067-2076, 2010.

SILBERGELD, E.K.; GRAHAM, J.; PRICE, L.B. Industrial Food Animal Production, Antimicrobial Resistance, and Human Health. **Annual Reviews of Public Health**, v. 29, p. 151-69, 2008.

SILVA, A.G.; LEITE, V.D.; SILVA, M.M.P.; PRASAD, S.; FEITOSA, W.B.S. Compostagem aeróbia Conjugada de lodo de tanque séptico e resíduos sólidos vegetais. **Engenharia sanitária e ambiental**, v.13, n.4, p. 371-379, 2008.

SILVA, M.E.; LEMOS, L.T.; CUNHA-QUEDA, A.C.; NUNES, O.C. Co-composting of poultry manure with low quantities of carbon-rich materials. **Waste Management & Research**, v. 27, p. 119-128, 2009.

SIVAPALASINGAM, S.; FRIEDMAN, C.R.; COHEN, L.; TAUXE, R. V. Fresh produce: a growing cause of outbreaks of foodborne illness in the United States, 1973 through 1997. **Journal of food protection**, v. 67, p. 23-42. 2004.

SKANAVIS, C.F.; YANKO, W.A. Evaluation of composted sewage sludge based soil amendments for potential risks of Salmonellosis. **Journal of Environment Health**, v. 56, p. 19-25, 1994.

SOBECKY, P. A. Plasmid ecology of marine sediment microbial communities. **Hydrobiologia**, v. 401, p. 9-18.,1999.

SOBRATEE, N.; MOHEE, R.; DRIVER, M.-F.B. Variation of broth composition by addition of broiler litter composting substrate extracts: influence on faecal bacterial growth. **Journal of Applied Microbiology**, v. 107, p. 1287-1297, 2009.

SODA, S.; OTSUKI, H.; INOUE, D.; TSUTSUI, H.; SEI, K.; IKE, M. Transfer of antibiotic multiresistant plasmid RP4 from *Escherichia coli* to activated sludge bacteria. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 106, n. 3, p. 292-296, 2008.

SPAIN, A. & ALM, E. Implications of microbial heavy metal tolerance in the environment. **Reviews in Undergraduate Research**, v. 2, p. 1-6, 2003.

STRAUB, M.; PEPPER, I.L.; GERBA, C.P. Hazards from pathogenic microorganisms in land-disposed sewage sludge. Review. **Environmental Contamination and Toxicology**, v. 132, p. 55-91, 1993.

STRAUCH, D. Microbiological treatment of municipal sewage waste and refuse as a means of disinfection prior to recycling in agriculture. **Studies in Environmental Science**, v. 42, p. 121-136, 2001.

SUJAUDDIN, M.; HUDA, S.M.; HOQUE, A.T.; Household solid waste characteristics and management in Chittagong, Bangladesh. **Waste Management & Research**, v. 28, p. 1688-1695, 2008.

SUN, Y.H.; LUO, Y.M.; WU, L.H.; LI, Z.G.; SONG, J.; CHRISTIE, P. Survival of faecal coliforms and hygiene risks in soils treated with municipal sewage sludges. **Environmental Geochemistry and Health**, v. 28, p. 97-101, 2006.

SYMANSKI, C.S. Caracterização de bactérias mesófilas presentes em processo de compostagem. Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2005. Dissertação de Mestrado em Microbiologia Agrícola e do Ambiente, Instituto de Ciências Básicas e da Saúde, UFRGS, 2005.

TAIWO, L. B.; OSO, B. A. Influence of composting techniques on microbial succession, temperature and pH in a composting municipal solid waste. **African Journal of Biotechnology**, v. 3, n. 4, p. 239-243, 2004.

TALYAN V.; DAHIYA, R.P.; SREEKRISHNAN, T.R.; State of municipal solid waste management in Delhi, the capital of India. **Waste Management & Research**, v. 28, p. 1276-87, 2008.

TANG, X.; ZHAO, Z.; HU, J.; WU, B.; CAI, X.; HE, O.; CHEN, H. Isolation, Antimicrobial Resistance, and Virulence Genes of *Pasteurella multocida* Strains from Swine in China. **Journal of clinical microbiology**, v. 47, n. 4, p. 951–958, 2009.

TEITZEL, G.M.; PARSEK, M.R. Heavy Metal Resistance of Biofilm and Planktonic *Pseudomonas aeruginosa*. **Applied and environmental microbiology**, v. 69, n. 4, p. 2313-2320, 2003.

TENOVER, F.C. Mechanisms of antimicrobial resistance in bacteria. **American Journal of Medicine**, 119:S3– 10; discussion S62–70. 2006.

THELWELL, C.; ROBINSON, N.J.; TURNER-CAVET, J.S. An SmtB-like repressor from *Synechocystis* PCC 6803 regulates a zinc exporter. **Proceedings of the National Academy of Science**, v. 95, p. 10728-10733. 1998.

TIAGO, I.; TEIXEIRA, I.; SILVA, S.; CHUNG, P.; VERÍSSIMO, A.; MANAIA, C.M. Metabolic and genetic diversity of mesophilic and thermophilic bacteria isolated from composted municipal sludge on poly-ε-caprolactones. **Current Microbiology**, v. 49, p. 407-414, 2004.

TURAN, N.G.; CORUH, S.; AKDEMIR, A.; ERGUN, O. N. Municipal solid waste management strategies in Turkey. **Waste Management & Research**, v. 29, p. 465-469, 2009.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. 1999. Environmental regulations and technology: control of pathogens and vector attraction in sewage sludge. EPA/625/R-92-013. Office of Water, U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. A guide to the biosolids risk assessments for the EPA Part 503 rule, 1995. Washington: Office of Wastewater Management, EPA/832-B-93-005, 1995. 195p.

VAZ-MOREIRA, I.; SILVA, M.E.; MANAIA, C.M.; NUNES, O.C. Diversity of Bacterial Isolates from Commercial and Homemade Composts. **Microbial Ecology**, v. 55, p. 714-722, 2008.

VENNER, S.; FESCHOTTE, C.; BIEMONT, C. Dynamics of transposable elements: Towards a community ecology of the genome. **Trends in Genetics**, v. 25, p. 317-323, 2009.

VIAU, E.; PECCIA, J. Survey of Wastewater Indicators and Human Pathogen Genomes in Biosolids Produced by Class A and Class B Stabilization Treatments. **Applied and environmental microbiology**, v.75, p.164-174, 2009.

WEBER, M.A.; PIDDOCK, L.J.V. The importance of efflux pumps in bacterial antibiotic resistance. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 51, p. 9-11, 2003.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Health guidelines for the use of wastewater in agriculture and aquaculture. Geneva: WHO, 1989.

WUERTZ, S., & MERGEAY, M. 1997. The impact of heavy metals on soil microbial communities and their activities. *In* J. D. van Elsas, E. M. H.

Wellington, & J. T. Trevors (Eds.), **Modern soil microbiology**, p 1-20. NY: Marcel Decker.

WUNDERINK, R.G. & MENDOZA, D.L. Epidemiology of *Pseudomonas aeruginosa* in the intensive care unit. In: Rello, J., Kollef, M., Díaz, E., Rodríguez, A. (Eds.), **Infectious Diseases in Critical Care**. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, p. 218– 225, 2007.

YANG, Y.; ZHANG, X.; YANG, Z.; XI, B.; LIU, H. Turnover and loss of nitrogenous compounds during composting of food wastes. **Frontiers of Environmental Science & Engineering in China**, v. 2, n. 2, p. 251-256, 2008.

YANKO, W.A. Enumerating *Salmonella* in biosolids for compliance with pathogen regulations. **Water Environment Research** 67, 364–368. 1995.

ZHANG, Y.; MARRS, C.F.; SIMON, C.; XI, C. Wastewater treatment contributes to selective increase of antibiotic resistance among *Acinetobacter* spp. **Science of Total Environment**, v. 407, n. 12, p. 3702-3706, 2009.

ZHELIAZKOV, V.D.; WARMAN, P.R. Source-separated municipal solid waste compost application to Swiss chard and basil. **Journal of Environmental Quality**, v. 33, p. 542–52, 2004.

ZMORA-NAHUM, S.; HADAR, Y.; CHEN, Y. Physico-chemical properties of Commercial Composts varying in their source materials and country of origin. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 39, p. 1263-1276, 2007.

7. ANEXOS

8.1 Meios de cultura para isolamento e crescimento de bactérias

8.1.1 Agar Cetrimide	g.L⁻¹
Digestão Pancreática de Gelatina	20
Cloreto de Magnésio	1,4
Sulfato de Potássio	10
Cetrimide	0,3
Agar	15
Água	1000,0mL
8.1.2 Agar Eosina Azul de Metileno	g.L⁻¹
Digestão Péptica de Tecido Animal	10
Fosfato Dipotássico	2
Azul de Metileno	0,065
Sacarose	5
Eosina-Y	0,4
Lactose	5
Agar	13,5
8.1.3 Agar Müller Hinton	g.L⁻¹
Infusão de Carne	300
Caseína Ácida Hidrolisada	17,5
Amido	1,5
Agar	17
Água	1000,0mL
8.1.4 Agar Padrão Contagem de Heterotróficos	g.L⁻¹
Digestão Enzimática de Caseína	5
Extrato de Levedura	2,5
Dextrose	1
Agar	15
Água	1000,0mL
8.1.5 Agar <i>Salmonella Shigella</i>	g.L⁻¹
Digestão Péptica de Tecido Animal	5
Extrato de Carne	5
Lactose	10

Sais biliares	8,5
Citrato de Sódio	10
Tiosulfato de Sódio	8,5
Citrato férrico	1
Verde Brilhante	0,00033
Vermelho neutro	0,025
Agar	15
Água	1000,0mL

8.1.6 Agar Triptona de Soja (TSA) g.L⁻¹

Digestão Pancreática de Caseína	15
Digestão Papaica de Farinha de Soja	5
Cloreto de Sódio	5
Agar	15
Água	1000,0mL

8.1.7 Caldo Lactose g.L⁻¹

Extrato de Carne	3
Peptona Bacteriológica	5
Lactose	5
Água	1000,0mL

8.1.8 Caldo Triptona de Soja (TSB) g.L⁻¹

Digestão Pancreática de Caseína	17
Digestão Pancreática de Farinha de Soja	3
Cloreto de Sódio	5
Fosfato Dipotássio	2,5
Dextrose	2,5
Água	1000,0mL

8.1.9 Caldo Verde Brilhante Bile 2% g.L⁻¹

Peptona de Gelatina	10
Bile bovina	20
Lactose	10
Verde Brilhante	0,0133
Água	1000,0mL

LAUDO DE ANÁLISES

NOME: Karina Heck

MUN.: Porto Alegre

Data de entrada: 10/06/09

EST.: RS

Data de expedição: 25/06/09

Nº DE REG.: R-179/2009

MATERIAL: Compostagem

Determinações	Amostra 01	Metodologia aplicada / Limite de detecção
Carbono orgânico - % (m/m)	33	combustão úmida/Walkey Black / 0,01%
Nitrogênio (TKN) - % (m/m)	1,8	Kjeldahl / 0,01 %
Zinco total - mg/kg	141	digestão úmida nítrico-perclórica/ ICP-OES / 2 mg/kg
Cádmio total - mg/kg	0,4	digestão úmida nítrico-perclórica/ ICP-OES / 0,2 mg/kg
Cromo total - mg/kg	45	digestão úmida nítrico-perclórica/ ICP-OES / 0,4 mg/kg
Níquel total - mg/kg	19	digestão úmida nítrico-perclórica/ ICP-OES / 0,4 mg/kg
Chumbo total - mg/kg	17	digestão úmida nítrico-perclórica/ ICP-OES / 2 mg/kg
Mercúrio - mg/kg	0,22	digestão úmida EPA 7471 A/vapor frio / 0,01 mg/kg

Obs.₁: Resultados expressos na amostra seca a 65°C, com exceção do pH.

Obs.₂: Média de 2 determinações.

Eng. Agr. Clesio Gianello, Ph.D.
CREA 8a. Reg. 25.642
Responsável pelo Laboratório de Análises

LAUDO DE ANÁLISES

NOME: Karina Heck

MUN.: Porto Alegre

Data de entrada: 23/06/09

EST.: RS

Data de expedição: 10/07/09

Nº DE REG.: R-196/2009

MATERIAL: Lodo Ativado

Determinações	Amostra 01	Metodologia aplicada / Limite de detecção
Carbono orgânico - % (m/m)	28	combustão úmida/Walkey Black / 0,01%
Nitrogênio (TKN) - % (m/m)	2,0	Kjeldahl / 0,01 %
Zinco total - mg/kg	564	digestão úmida nítrico-perclórica/ ICP-OES / 2 mg/kg
Cádmio total - mg/kg	3	digestão úmida nítrico-perclórica/ ICP-OES / 0,2 mg/kg
Cromo total - mg/kg	71	digestão úmida nítrico-perclórica/ ICP-OES / 0,4 mg/kg
Níquel total - mg/kg	43	digestão úmida nítrico-perclórica/ ICP-OES / 0,4 mg/kg
Chumbo total - mg/kg	48	digestão úmida nítrico-perclórica/ ICP-OES / 2 mg/kg
Mercúrio - mg/kg	0,40	digestão úmida EPA 7471 A/vapor frio / 0,01 mg/kg

Obs.₁: Resultados expressos na amostra seca a 65°C.

Obs.₂: Média de 2 determinações.

Eng. Agr. Clesio Gianello, Ph.D.
CREA 8a. Reg. 25.642
Responsável pelo Laboratório de Análises

LAUDO DE ANÁLISES

NOME: Carina da Silva/Profa. Sueli

MUN.: Porto Alegre

Data de entrada: 23/03/10

EST.: RS

Data de expedição: 07/04/10

Nº DE REG.: R-096/2010

MATERIAL: Terra de Compostagem

Determinações	Amostra 01	Metodologia aplicada / Limite de detecção
Cobre total - mg/kg	184	digestão úmida nítrico-perclórica/ ICP-OES / 0,6 mg/kg
Zinco total - mg/kg	604	digestão úmida nítrico-perclórica/ ICP-OES / 2 mg/kg
Cádmio total - mg/kg	1	digestão úmida nítrico-perclórica/ ICP-OES / 0,2 mg/kg
Cromo total - mg/kg	79	digestão úmida nítrico-perclórica/ ICP-OES / 0,4 mg/kg
Níquel total - mg/kg	36	digestão úmida nítrico-perclórica/ ICP-OES / 0,4 mg/kg
Chumbo total - mg/kg	63	digestão úmida nítrico-perclórica/ ICP-OES / 2 mg/kg
Molibdênio total - mg/kg	3	digestão úmida nítrico-perclórica/ ICP-OES / 0,2 mg/kg
Selênio total - mg/kg	< 4	digestão úmida nítrico-perclórica/ ICP-OES / 4 mg/kg
Arsênio total - mg/kg	10	digestão úmida nítrico-perclórica/ ICP-OES / 2 mg/kg
Bário total - mg/kg	285	digestão úmida nítrico-perclórica/ ICP-OES / 1 mg/kg
Mercúrio - mg/kg	0,72	digestão úmida EPA 7471 A/vapor frio / 0,01 mg/kg

Obs.₁: Resultados expressos na amostra seca a 65°C.

Obs.₂: Média de 2 determinações.

Eng. Agr. Clesio Gianello, Ph.D.
CREA 8a. Reg. 25.642
Responsável pelo Laboratório de Análises