

ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DE MICRO-ORGANISMOS PATOGENICOS EM RESÍDUOS SÓLIDOS DE SERVIÇOS DE SAÚDE*

Carmem Costa MARTINS**
Dora Inés KOZUSNY-ANDREANI***
Elena Carla Batista MENDES****

RESUMO

Os resíduos sólidos de serviços de saúde (RSS) é um fator preocupante para governantes, não pela quantidade gerada, mas pelo potencial de contaminação. O presente estudo teve como objetivo isolar e identificar micro-organismos patogênicos presentes nos Resíduos de Serviço de Saúde. Foram colhidas amostras de resíduos sólidos de saúde de três locais diferentes no município de Santa Fé do Sul-SP. Cada amostra foi diluída em solução salina (NaCl 0,5%) e, após este procedimento, 0,1mL de cada diluição foi inoculado a 37°C. Foi realizada a contagem de colônias e avaliação das características das colônias com coloração de Gram para bactérias, azul de algodão para fungos e métodos bioquímicos. Constatou-se presença de vários micro-organismos patogênicos. Os resultados permitem sugerir que os micro-organismos presentes nos resíduos de serviços de saúde, se não possuem um manejo adequado e não forem submetidos à descontaminação prévia antes do destino final, representam riscos à saúde humana e ao meio ambiente.

Descritores: Gerenciamento de resíduos. Patogenicidade. Serviço de Saúde.

1 INTRODUÇÃO

Os resíduos sólidos urbanos gerados pelas instituições de saúde veem recebendo merecida atenção nos últimos anos no Brasil, não pela quantidade gerada, mas pelo potencial de risco que representam à saúde pública e ao meio ambiente. São considerados perigosos pelo aspecto de contaminação biológica e química, sendo o risco biológico o mais preocupante por apresentar uma variedade de micro-organismos patogênicos (BRASIL, 2006).

Estudos realizados com Resíduos de Serviços de Saúde (RSS) identificaram microrganismos como *Salmonella sp.*, *Shigella sp.*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Staphylococcus spp.*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus*, *Klebsiella*, *Candida*

* Extraído da dissertação “Gerenciamento de resíduos serviços de saúde do município de Santa Fé do Sul – SP.” Universidade Camilo Castelo Branco – Unicastelo, 2013.

** Enfermeira, Mestre em Ciências Ambientais, Docente do Centro Universitário de Santa Fé do Sul/SP – Unifunec, carmemcardio@gmail.com

*** Professora Doutora dos Programas de Pós Graduação Ciências Ambientais e Bioengenharia da Unicastelo. e-mail: doraines@terra.com.br

**** Enfermeira, Mestranda em Ciências Ambientais, Docente do Centro Universitário de Santa Fé do Sul/SP – Unifunec, ecbmarin@hotmail.com

albicans, *Vibrio cholerae*, *Vírus da Herpes e da Hepatite A, B e C* (BIDONE, 2001; RUTALA; ODETTE; SAMSA, 1989).

O manejo adequado dos resíduos junto à fonte geradora é importante para que não ocorram possíveis contaminações. Com a publicação da Lei nº 12.305 de agosto de 2010 (BRASIL, 2010), as instituições geradoras de RSS foram obrigadas a elaborar o Plano de Gerenciamento dos Resíduos de Serviços de Saúde (PGRSS) com todas as etapas do manejo, ou seja, da segregação à disposição final.

Em grande parte dos municípios brasileiros, os RSS são depositados em aterros sem diminuição da carga microbiana. A Associação Brasileira de Empresas de Limpeza Pública e Resíduos Especiais (ABRELPE) realiza um panorama anual dos resíduos sólidos urbanos. Com relação ao tratamento dos RSS, em 2012, 37,4% foram destinados à incineração, 21,7%, aos aterros sanitários, 16,6%, à autoclave, 13,3%, aos lixões, 5,8%, à vala séptica e 5,2% ao micro-ondas (ABRELPE, 2014).

Para realizar a disposição final dos RSS, o CONAMA, em Resolução Nº 358:2005, estabelece que todos os resíduos sólidos que causam possível infecção devem ser submetidos a processos de tratamento em equipamento que promova redução de carga microbiana compatível com nível III de inativação microbiana e devem ser encaminhados para aterro sanitário licenciado ou local devidamente licenciado para disposição final dos RSS (BRASIL, 2005). Considera-se inativação microbiana de nível III a “inativação de bactérias vegetativas, fungos, vírus, lipofílicos e hidrofílicos, parasitas e micobactérias, com redução igual ou superior a 6 log; e inativação de esporos do *Bacillus atrophaeus* e do *Geobacillus stearothermophilus*, com redução igual ou superior a 4 log” (CETESB, 2011; BIDONE, 2001).

Os métodos utilizados para tratamento dos RSS são autoclave, micro-ondas, tratamento químico, radiação ionizante, incineração (pirólise, plasma), sendo a autoclave e o micro-ondas os métodos mais utilizados no Brasil (ABRELPE, 2014). Estes tratamentos podem ser realizados pelo próprio estabelecimento, por empresas terceirizadas ou por cooperativas ou consórcios de estabelecimentos geradores de RSS (BRASIL, 2005), não eximindo o estabelecimento gerador da responsabilidade sobre o tratamento e destinação final. O presente estudo teve como objetivo isolar e identificar microrganismos patogênicos presentes nos Resíduos de Serviço de Saúde de três locais diferentes no município de Santa Fé do Sul-SP.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

Este estudo foi exploratório, descritivo e de cunho quantitativo realizado no período de janeiro a junho de 2013. Foram colhidas amostras de resíduos sólidos de saúde de três locais diferentes no município de Santa Fé do Sul-SP. O critério de inclusão foram os locais com maior geração de RSS como Santa Casa de Misericórdia de Santa Fé do Sul (SANTA CASA), Ambulatório Médico de Especialidades (AME) e Clínica de Odontologia das Faculdades Integradas de Santa Fé do Sul (FUNEC). Os RSS foram colhidos em frascos estéreis e mantidos em caixas isotérmicas e transportados ao laboratório de Microbiologia da Unicastelo/Campus Fernandópolis. De cada amostra, foram retirados 10,0g para serem submetidos à diluição seriada em 90,0mL de solução salina (NaCl 0,5%). Após este procedimento, 0,1mL de cada diluição foi inoculado nos meios Agar Triptecaseina Soja (TSA, OXOID[®]), Eosina Azul de Metileno (EMB, OXOID[®]), Agar Salmonell/Shigella (SS, OXOID[®]), Agar Cetrimide (OXOID[®]), Agar seletivo para *Clostridium* (OXOID[®]), Agar sabouraud (OXOID[®]) e incubada a 37°C por 24-48 horas. Após este período, foram realizadas a contagem e avaliação das características das colônias. As bactérias foram caracterizadas pela coloração de Gram e os fungos, pelo Azul de algodão e identificados por métodos bioquímicos (CAPUCCINO; SHERMAN, 1996).

Os dados obtidos foram analisados por meio de estatística descritiva com cálculo de média, desvio padrão, mediana e valores de mínimo e máximo com abordagem de teste associativo qui-quadrado e teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis com teste de comparação múltipla de Dunn post-hoc, ao nível de significância de 0,05. Os softwares estatísticos utilizados para a análise foram Minitab 15[®] e Instat[®].

Dois abordagens foram realizadas neste estudo: na primeira, foi observada a quantidade de micro-organismos isolados em cada um dos locais estudados, objetivando verificar possível associação entre o local avaliado e o número de ocorrências de determinados micro-organismos. A segunda refere-se à abordagem quantitativa de mesófilos totais, objetivando verificar possíveis diferenças significativas quanto ao número desses microrganismos quando os locais são comparados.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na primeira abordagem, foi verificado um total de 1502 ocorrências de diversos micro-organismos associados à contaminação de RSS nos três locais geradores de RSS, os

quais foram identificados: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*, *Clostridium tetani*, *Staphylococcus sp*, *Aspergillus niger*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Microsporium gypseum* e *Clostridium sp*.

Estudos realizados por Rutala, Odette e Samsa (1989) e Bidone (2001) identificaram diversos micro-organismos presentes na massa de RSS, como *Salmonella*, *Shigella spp.*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Staphylococcus spp.*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus*, *Klebsiella*, *Candida albicans*, *Vibrio cholerae*, *Vírus da Herpes e da Hepatite A, B e C*. Resultados semelhantes foram obtidos no presente trabalho, assim no RSS da Santa Casa, AME e FUNEC foram isolados *Staphylococcus spp*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Candida albicans*.

Com o objetivo de tornar a análise associativa possível, alguns microrganismos com representatividade amostral baixa foram agrupados e denominados como “outros”, sendo estes: *Clostridium tetani*, *Staphylococcus sp*, *Aspergillus niger*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Microsporium gypseum* e *Clostridium sp*. A Tabela 1 apresenta os percentuais de ocorrência de micro-organismos em cada um dos locais avaliados.

Tabela 1 – Percentual de ocorrência dos micro-organismos isolados de resíduos sólidos de saúde

MICROORGANISMO	LOCAIS			TOTAL
	FUNEC	AME	SANTA CASA	
<i>E. coli</i>	16 (24,2%)	21 (51,2%)	194 (13,9%)	231 (15,4%)
<i>P. aeruginosa</i>	30 (45,5%)	2 (4,9%)	252 (18,1%)	284 (18,9%)
<i>Candida albicans</i>	14 (21,2%)	9 (22,0%)	913 (65,4%)	936 (62,3%)
Outros	6 (9,1%)	9 (22,0%)	36 (2,6%)	51 (3,4%)
Total	66 (4,4%)	41 (2,7%)	1395 (92,9%)	1502 (100%)
Valor p*	<0,001			

*Valor p referente ao teste qui-quadrado a 5% de significância.

Fonte: Dos próprios autores

Os resultados da Tabela 1 apresentam a presença de associação significativa entre a ocorrência dos microrganismos com o local avaliado, visto que o valor de p encontrado para o teste associativo resultou inferior ao nível de significância adotado para o teste (p 0,001). Foi possível observar pelos resultados expressos em percentuais que em cada local houve maior frequência de um tipo de micro-organismo. Verificou-se que o RSS gerado pela FUNEC apresentou maior contaminação por *Pseudomonas aeruginosa* (30 – 45,5%), enquanto que no AME foi mais frequente o aparecimento de *Escherichia coli* (21 – 51,2%) e, na Santa Casa, *Candida albicans* foi o mais frequente (913 – 65,4%).

Estudo realizado para avaliar o tempo de resistência ambiental identificou *Mycobacterium tuberculosis* com persistência de 80 dias na massa de RSS (MOREL; BERTUSSI, 1997). Com relação à *Escherichia Coli*, estudos apresentam resistência à dessecação e presença da *E. Coli* em fluídos corpóreos, como sangue e derivados (HIRAI, 1991). Esta espécie bacteriana foi isolada no presente estudo no RSS nos três locais onde foram coletadas as amostras. Em outro estudo, foi demonstrada a sobrevivência de dose infectante do vírus da Hepatite B e C, durante uma semana, em uma gota de sangue retirada de uma agulha hipodérmica (SALKIN; KENNEDY, 2001).

Algumas doenças relacionadas aos micro-organismos patogênicos presentes no RSS foram classificadas em estudos segundo a etiopatogenia das infecções e resistência ambiental. Bactérias como a *Escherichia Coli* podem desencadear infecções do trato urinário, meningite neonatal e diarreia dos viajantes e possui resistência à dessecação; *Pseudomonas aeruginosa* pode causar infecções respiratórias, urogenital e de ferimentos; *Clostridium sp.* causa botulismo, tétano e gangrena gasosa (SILVA et al., 2002). Além disso, este gênero bacteriano se caracteriza pela formação de esporos podendo persistir no ambiente por longos períodos; *Enterococcus* causa infecções urinárias, no meio ambiente fica em formato de “endósporos”; *Staphylococcus aureus* pode causar pneumonia, septicemia, abscessos em vários órgãos e infecções de feridas cirúrgicas, forma aerossóis secundários; *Mycobacterium tuberculosis* pode causar tuberculose e na resistência ambiental forma aerossóis secundários (LEVINSON; JAWETZ, 2005; TORTORA; FUNKE; CASE, 2012).

Os fungos da espécie *Trichophyton e Microsporum* podem causar dermatomicoses, *Candida albicans* leva ao aparecimento de candidíase disseminada e candidíase mucocutânea crônica e, no caso de *Aspergillus* a principal doença é a aspergilose invasiva, aspergilose broncopulmonar alérgica e aspergiloma (LEVINSON; JAWETZ, 2005; TORTORA; FUNKE; CASE, 2012). Essas espécies fúngicas foram isoladas nos RSS da Santa Casa, AME e FUNEC, podendo ser considerados como potenciais veiculadores de doenças infecciosas quantos não tratados corretamente.

A compreensão de doenças infecciosas causadas pelos RSS não pode se definir somente pela comprovação microbiológica sem levar em conta alguns fatores como a via de transmissão, a porta de entrada e o estado susceptível do hospedeiro (RUTALA; ODETTE; SAMSA, 1989).

A segunda abordagem teve como objetivo o comportamento da contagem total de micro-organismos mesófilos em cada um dos locais avaliados. A Tabela 2 apresenta o número de micro-organismos mesófilos totais em relação aos locais avaliados.

Tabela 2 – Contagem total de micro-organismos mesófilos isolados de resíduos sólidos de serviços de saúde

LOCAL	NÚMERO DE MESÓFILOS TOTAIS					VALOR P*
	n	$\bar{x} \pm s$	Md	Mín	Máx	
FUNEC	6	$5,28.10^1 \pm 6,54.10^1$	$2,20.10^1$ ^a	0,00	$1,40.10^2$	0,005
AME/PSF	6	$1,40.10^1 \pm 1,31.10^1$	$1,00.10^1$ ^a	$1,00.10^0$	$3,40.10^1$	
SANTA CASA	6	$6,66.10^8 \pm 5,16.10^8$	$1,00.10^9$ ^b	$4,10.10^1$	$1,00.10^9$	

*Valor p referente ao teste de Kruskal-Wallis a 5% de significância.

Fonte: Dos próprios autores

Os resultados da Tabela 2 apresentam a existência de diferenças significativas na contagem de mesófilos totais quando os locais de coleta foram comparados, visto que o valor de p encontrado foi inferior a 0,05 ($p=0,005$). Esse resultado mostra que o número de mesófilos totais na Santa Casa foi muito superior em relação aos da FUNEC e do AME. De acordo com os resultados do teste de comparação múltipla de Dunn, a contagem de mesófilos totais da FUNEC e do AME não diferem entre si, porém ambos diferem de forma significativa da contagem de mesófilos totais na Santa Casa ($p= 0,005$). Nesse contexto, verificou-se maior contaminação de RSS da Santa Casa de Misericórdia.

Com relação aos riscos de saúde associados a RSS, autores confirmam os riscos desses resíduos pela sobrevivência de micro-organismos dotados de elevada resistência às condições ambientais (BIDONE, 2001; NASCIMENTO et al., 2009).

Vários autores relatam que nos RSS não existem riscos para a saúde pública comparados aos riscos ocasionados pelos resíduos domésticos (NAZAR; PORDEUS, 2005; SALKIN; KENNEDY, 2001). Porém, há de se considerar não somente o número de microrganismos encontrados, mas a cepa a que pertencem. As cepas de origem hospitalar são mais resistentes que as de origem doméstica (SOARES et al., 2000).

Com relação aos resíduos perfurocortantes e às culturas microbiológicas, os pesquisadores são unânimes em considerar risco de contaminação pelo manuseio, tanto no momento da geração, do acondicionamento e do descarte, quanto durante as coletas interna e externa, no tratamento e disposição final, devido a suas características físicas e seu potencial de contaminação por meio de micro-organismos retidos (SALKIN; KENNEDY, 2001; NAZAR; PORDEUS, 2005).

Em pesquisa realizada com 29 profissionais responsáveis pelo gerenciamento dos resíduos produzidos em 20 instituições hospitalares e 9 Unidades de Saúde da Família, sobre o manejo do RSS do grupo A (resíduo infectante), observou-se que apenas um entrevistado do

serviço hospitalar soube precisar o tratamento e o destino adequado dos RSS (GESSNER et al., 2013).

4 CONCLUSÃO

Foram identificados micro-organismos como *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*, *Clostridium tetani*, *Staphylococcus sp*, *Aspergillus niger*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Microsporium gypseum* e *Clostridium sp*. O número maior de mesófilos totais foi verificado na Santa Casa de Misericórdia. Os resultados permitem sugerir que os micro-organismos presentes nos resíduos de serviços de saúde avaliados são espécies patogênicas e representam riscos à saúde humana e ao meio ambiente. Torna-se essencial o Programa de Gerenciamento de Resíduos Sólidos de Serviços de Saúde nos estabelecimentos com tomadas de decisões em todas as etapas do manejo para que estes microrganismos não se tornem fontes de infecção relacionada ao estabelecimento de saúde.

ISOLATION AND IDENTIFICATION OF PATHOGENIC MICRO-ORGANISMS IN SOLID WASTE FROM HEALTH SERVICES

ABSTRACT

Solid waste from health services is a worrying factor for governments, not for the quantity generated, but the potential for contamination. The present study aimed at isolating and identifying pathogenic microorganisms present in Health Service Waste. Solid health wastes were collected from three different sites in the city of Santa Fé do Sul, state of São Paulo. Each sample was diluted in saline (0.5% NaCl) and, after this procedure; 0.1mL of each dilution was inoculated at 37°C. Colony count and evaluation of the characteristics of colonies with Gram staining for bacteria, Cotton blue for fungi and biochemical methods were performed. Several pathogenic microorganisms were presented. The results suggest that microorganisms presented in health service waste, if not properly managed and not subjected to prior decontamination before final destination, pose risks to human health and the environment.

Descriptors: Waste management. Pathogenicity. Health Service.

REFERÊNCIAS

ABRELPE. Associação Brasileira de Empresas de Limpeza Pública e Resíduos Especiais. **Panorama dos Resíduos Sólidos no Brasil**, v.10, 2014, p.116.

BIDONE, F. R. A. **Resíduos sólidos provenientes de coletas especiais: eliminação e valorização**. Rio de Janeiro: Abes, 2001.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Gerenciamento dos Resíduos de Serviços de Saúde**. Brasília: ANVISA, 2006.

BRASIL. Lei n. 12.305, de 2 de agosto de 2010. Institui a Política Nacional de Resíduos Sólidos; altera a Lei nº 9.605, de 12 de fevereiro de 1998; e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Disponível: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2007-2010/2010/Lei/L12305.htm>. Acesso em: 17 set. 2015.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional de Meio Ambiente. Resolução nº 358, de 29 de abril de 2005. Dispõe sobre o Tratamento e a disposição final dos resíduos dos serviços de saúde e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, [Internet] 20 abr 2005. Disponível: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res05/res35805.pdf>>. Acesso em: 12 set 2015.

CAPUCCINO, J. G.; SHERMAN, N. **Microbiology**: a laboratory manual. 4. ed. The Benjamin/CCummings Publishing Company, Inc., 1996.

CETESB. Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. **Sistemas de tratamento térmico sem combustão de resíduos de serviços de saúde contaminados biologicamente**: procedimento. 2. ed. São Paulo: CETESB, 2011. p.19.

GESSNER, R. et al. O manejo dos resíduos dos serviços de saúde: um problema a ser enfrentado. **Cogitare Enferm**, v.18, n. 1, p. 117-123, 2013.

HIRAI, Y. Survival of bacteria under dry conditions: from a viewpoint of nosocomial infection. **Journal of Hospital Infection**, n. 19, p. 191-200, 1991.

LEVINSON, W.; JAWETZ, E. **Microbiologia médica e imunologia**. 7. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.

MOREL, M. M.; BERTUSSI, L. A. Resíduos de serviços de saúde. In: **Infecções hospitalares**: prevenção e controle. São Paulo: Sarvier, 1997. p. 519-34.

NASCIMENTO, T. C. et al. Ocorrência de bactérias clinicamente relevantes nos resíduos de serviços de saúde em um aterro sanitário brasileiro e perfil de susceptibilidade a antimicrobianos. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.42, n.4, p. 415-416, 2009.

NAZAR, N. W.; PORDEUS, I. A.; WERNECK, M. A. F. Gerenciamento de resíduos sólidos de odontologia em postos de saúde da rede municipal de Belo Horizonte. **Revista Panamericana Salud Publica**, v. 17, n.4, p. 237-242, 2005.

RUTALA, W. A.; ODETTE, R. L.; SAMSA, G. P. Management of infectious waste by us hospitals. **The Journal of the American Medical Association**, n. 262, p.1635-1640, 1989.

SALKIN, I. F.; KENNEDY, M. E. **Review of health impacts from microbiological hazards in health-care wastes**. Geneva: World Health Organization, 2001.

SILVA, A. C. N. et al. Critérios adotados para seleção e indicadores de contaminação ambiental relacionados aos resíduos sólidos de serviços de saúde: uma proposta de avaliação. **Caderno de Saúde Pública**, v. 18, n.5, p.1401-1409, 2002.

SOARES, S. R. et al. Avaliação da evolução microbiológica em resíduos hospitalares infecciosos. In: CONGRESSO INTERAMERICANO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, 27., 2000 Dez., Rio grande do Sul, **Anais...** Rio Grande do Sul: ABES; 2000, p. 1-10.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 10. ed. Porto Alegre: Artmed, 2012.