

## QUANTIFICAÇÃO DE *Clostridium perfringens* EM ÁGUAS RESIDUÁRIAS DE ORIGEM DOMÉSTICA, COM FINALIDADE DE REÚSO.

Marcone C. O. Lima Filho<sup>1\*</sup>, Camilla K. A. da Silva<sup>2</sup>, Marcio G. Barboza<sup>3</sup>, Ivete V. L. Ferreira<sup>4</sup>

1. Estudante do Centro de Tecnologia da Universidade Federal de Alagoas (CTEC-UFAL)

2. Engenheira Ambiental e Sanitarista pela UFAL

3. Professor do CTEC-UFAL

4. Professora do CTEC-UFAL/Orientadora

### Resumo

O trabalho buscou avaliar parâmetro microbiológico não convencional (*Clostridium perfringens*) de efluentes domésticos segregados (águas cinzas e águas negras) e não segregados.

A quantificação dos microrganismos foi realizada pela técnica dos tubos múltiplos em três sistemas experimentais: edifício residencial, residência unifamiliar e conjunto residencial.

Foram verificadas divergências entre águas do mesmo tipo, mas de sistemas experimentais diferentes, indicando possível relação entre decaimento microbiano com uso de produtos de limpeza doméstica a base de hipoclorito de sódio. A concentração de *C. perfringens* foi desde nula em 100 mL nas águas cinzas de lavanderia, até  $9 \times 10^5$  NMP/100 mL nas águas negras tratadas. A segregação mostra-se um instrumento eficaz para o reúso de águas residuárias, visto que, com a separação surgem diferentes potenciais de reúso e, conseqüentemente, necessidades de tratamentos diferenciados, o que pode resultar em redução de custos e de impactos ambientais.

**Palavras-chave:** Reúso de efluentes; Águas cinzas; Águas negras.

**Apoio financeiro:** FINEP (Financiadora de Estudos e Projetos) no âmbito da Chamada Pública MCT/MCIDADES/FINEP/AT – SAN E HAB – 06/2010. Bolsa IC da FAPEAL.

**Trabalho selecionado para a JNIC:** UFAL.

### Introdução

Embora seja de domínio público e existam tantos entes envolvidos na solução para a escassez de água, a problemática não apresenta um panorama favorável, o que ressalta a complexidade e necessidade de mais estudos e novas abordagens. O Brasil apresenta baixo risco por sua disponibilidade de água, porém, o estudo não considera as distribuições desiguais de água no território brasileiro, assim, maior parte do país também enfrentará o mesmo risco (MADDOCKS; YOUNG; REIG, 2015).

O desafio para os gestores é decidir abordagens para diminuir a demanda de água e também tornar os tratamentos mais eficazes. Segundo Gonçalves e Jordão (2006), o reúso de água para fins não potáveis é uma alternativa que reduz a carga que as estações de tratamento devem suportar possibilitando a otimização do tratamento. Otterpohl (2001) propôs um sistema descentralizado para que as águas sejam tratadas em escala residencial, baseando-se na ideia de segregar as águas em cinzas e negras por possuírem características físico-químicas e microbiológicas diferentes.

No entanto, a prática do reúso infere na saúde pública e no meio ambiente e por isto não pode ser feita indiscriminadamente. Entre os cuidados para a prática está a verificação da qualidade da água. Usualmente é feito o uso da *Escherichia coli* como indicador de contaminação fecal, porque este é um dos microrganismos mais comuns em águas e também de fácil quantificação (MAY, 2009).

Outros indicadores alternativos também devem ser considerados como o *Clostridium perfringens*, indicador de contaminação fecal remota. Esta é uma bactéria em forma de bastonete, gram positiva, anaeróbia, sulfito-redutora, e presente no intestino humano (FORSYTHE, 2002). Sua capacidade de esporulação a permite resistir sob condições hostis, e assim, apresentar resistência superior à de vírus, de outras bactérias e protozoários que são maiores causadores de doenças intestinais. Nestas condições mais extremas, a *E. coli* já não está presente e por isto não retorna uma resposta sobre a presença de patógenos mais resistentes. Portanto, este trabalho busca avaliar a qualidade de efluentes domésticos de duas residências unifamiliares e de um conjunto habitacional, considerando *Clostridium perfringens* como indicador microbiológico, com vistas ao reúso.

### Metodologia

Foram utilizados três sistemas experimentais para a realização da pesquisa, a saber:

Sistema experimental 1: Edifício residencial localizado na Jatiúca, bairro de classe média da cidade de Maceió, Alagoas, Brasil. O prédio possui 11 apartamentos, todos ocupados no período de amostragem. O efluente (águas cinzas segregadas) foi coletado da tubulação que reúne o esgoto da área de serviço dos apartamentos, com contribuição apenas das lavanderias (tanques e máquinas de lavar). O outro efluente foi coletado da tubulação que reúne as águas residuárias provenientes das demais fontes domiciliares (vasos

sanitários, lavatórios, chuveiros, pias de cozinha e ralos), sendo denominado de efluentes não segregados.

Sistema experimental 2: Residência unifamiliar, com cinco moradores, localizada em condomínio de alto padrão, bairro da Serraria, Maceió, Alagoas, Brasil. O projeto hidrossanitário contemplou a segregação dos efluentes em águas cinzas (chuveiros, lavatórios, banheira e máquina de lavar) e águas negras (vasos sanitários e pia de cozinha). Na residência foi construído um reator anaeróbio com chicanas para tratamento prévio das águas negras, sendo as coletas destas realizadas na saída do tratamento.

Sistema experimental 3: Conjunto Residencial Antônio Lins de Souza situado na rodovia BR 104, bairro Mata do Rolo, Município do Rio Largo, Alagoas, Brasil. O conjunto habitacional possui 3619 residências populares cujo esgoto é tratado em uma ETE (Estação de Tratamento de Esgotos) operada pela Companhia de Saneamento de Alagoas – CASAL. O tratamento é composto por um conjunto de fossas/filtro/desinfecção por cloro. As amostras foram coletadas na saída do tratamento (efluente não segregado).

O microrganismo avaliado, *Clostridium perfringens*, produz enterotoxina, responsável por infecção invasiva no homem, como gangrena gasosa, infecções dos tecidos moles e intoxicação alimentar (FORSYTHE, 2002). Sua quantificação foi realizada no Laboratório de Saneamento Ambiental – LSA seguindo a técnica dos tubos múltiplos descrita no Método de Ensaio CETESB/L 5.213 (CETESB, 1993).

## Resultados e Discussão

Foram coletadas 14 amostras para determinação de *Clostridium perfringens*, distribuídas entre os sistemas experimentais 1, 2 e 3, cujos resultados estão indicados na Tabela 1.

**Tabela 1** – Concentração de *C. perfringens* nas amostras dos sistemas experimentais 1, 2 e 3.

Sistema Experimental	Amostra	Tipo de Efluente	NMP/100ml
1 Edifícioresidencial	1	Nãosegregado	$1,3 \times 10^4$
	2	Segregado - cinza	Nãodetectado
	3	Nãosegregado	Nãodetectado
	4	Segregado - cinza	Nãodetectado
	5	Nãosegregado	$1,1 \times 10^3$
	6	Nãosegregado	$7 \times 10^3$
	7	Nãosegregado	$9 \times 10^4$
2 Residênciaunifamiliar	8	Segregado - cinza	$>1,6 \times 10^3$
	9	Segregado - negra	$9 \times 10^5$
	10	Segregado - cinza	$2,4 \times 10^3$
	11	Segregado - negra	$2,4 \times 10^5$
3 ConjuntoResidencial	12	Nãosegregado	$2,2 \times 10^5$
	13	Nãosegregado	$2,4 \times 10^5$
	14	Nãosegregado	$2 \times 10^5$

NMP: NúmeroMaisProvável

**Águas cinzas-** As amostras 2 e 4 do sistema 1 apresentaram índices indetectáveis pelo método utilizado, mesmo com o uso do meio DRCM (*Diferencial Reinforced Clostridium Medium*) de dupla concentração, como recomendado pela metodologia, em situações nas quais o efluente possua baixa densidade de sulfito-redutores (CETESB, 1993). Portanto, foi interrompida sua amostragem.

No sistema experimental 2, contudo, que engloba águas cinzas de diferentes fontes, o microrganismo alvo foi detectado em concentrações de até 2.400 NMP/100 mL (amostra 10). As concentrações de esporos de *C. perfringens* encontradas por Ottoson e Stenström (2003) em águas cinzas misturadas provenientes de residências em Estocolmo foram, em média,  $2 \times 10^3/100$  mL. Friedler e Gilboa (2008) observaram  $3,3 \times 10^3$  UFC/100 mL de células de *C. perfringens* em amostras de águas cinzas provenientes de máquina de lavar, chuveiro e pias do banheiro de 14 apartamentos. A diferença do resultado das amostras de águas cinzas dos sistemas experimentais 1 e 2 pode estar no fato de que as águas cinzas do edifício são provenientes de lavanderias e máquinas de lavar, onde ocorre uso intenso de produtos de limpeza a base de hipoclorito de sódio.

**Esgoto não segregado-** Conforme observado, das cinco amostras avaliadas do sistema experimental 1, relativas ao efluente não segregado (amostras 1, 3, 5, 6 e 7), composto de todo o esgoto doméstico, excluídas as águas cinzas dos tanques e máquinas de lavar, do edifício de apartamentos, apenas uma não apresentou *C. perfringens* em 100 mL. É importante frisar que durante a análise dessa amostra (3) foi observado forte odor de “água sanitária” (nome comercial para solução cujo produto ativo é o hipoclorito de sódio), após a etapa de Banho Maria (aquecimento à 75°C), na quantificação de *C. perfringens*. Apesar da significativa resistência do *C. perfringens* à desinfecção com cloro, dependendo da dosagem deste desinfetante e período de exposição, é possível ocorrer a inativação do microrganismo. Conforme avaliado por Souza e Daniel (2006) em seu estudo comparativo do uso de hipoclorito de sódio e ácido peracético na desinfecção de água com elevada concentração de carga orgânica, obteve-se 2 log de inativação de *C. perfringens* com uso de 3 mg/L de cloro durante 15 minutos de exposição. Com uso de ácido peracético a 5 mg/L, foi possível obter redução de 4 log em 10 minutos. Por esse motivo, padronizou-se o período da tarde para as amostragens seguintes, no sistema experimental 1, pois as atividades de limpeza doméstica costumam ser realizadas pela manhã, tendo-se o hábito de usar produtos à base de hipoclorito de sódio.

Os resultados do sistema experimental 1 indicam grandes variações das concentrações de *C. perfringens* nas amostras (média  $22,22 \times 10^3 \pm 38,244 \times 10^3$  NMP/100 mL) ocorridas, possivelmente, pelas

diferentes atividades ao longo dos dias e dos horários, visto que essas águas representam um conjunto de águas residuárias nas quais estão incluídas aquelas provenientes dos vasos sanitários. Além disso, há diferença das águas não segregadas do sistema experimental 1 para as do conjunto habitacional (sistema experimental 3) explicada pela maior abrangência de pessoas do conjunto em relação ao edifício, bem como os hábitos da população da área.

No efluente da ETE do conjunto habitacional (sistema experimental 3) a concentração média de *C. perfringens* foi de  $2,2 \times 10^5 \pm 2 \times 10^3$  NMP/100 mL. Estes resultados estão condizentes com Meltcalf e Eddy (2016) que apresenta uma faixa de  $10^3$ - $10^5$  NMP/100mL de *C. perfringens* para efluentes domésticos, no entanto, é importante destacar que durante o período de coletas a etapa de desinfecção não estava funcionando corretamente, voltando a ser normalizada algumas semanas após o período de coletas.

**Águas negras** - Quanto aos resultados das águas negras, coletadas apenas no sistema experimental 2, apresentaram concentrações de  $2,4 \times 10^5$  e  $9 \times 10^5$  NMP/100 mL, respectivamente, em cada uma das amostras coletadas (11 e 9). O que ocorre é que os esporos de *C. perfringens* podem resistir a condições mais severas que outros indicadores como *E. coli* e estreptococos fecais (Souza e Daniel, 2006). Tratamentos mais intensos como a incidência de raios ultravioleta podem ser utilizados e chegam a apresentar redução de 99% da densidade de *C. perfringens* em amostras de esgoto bruto (Pedroso *et al.*, 2015). Os resultados também confirmam que é um indicador de contaminação fecal remota. Quando se trata de indicador de contaminação fecal, a *E. coli* é a mais utilizada por apresentar vantagens como serem facilmente isoladas e identificadas. Porém, a falha no uso de termotolerantes, a exemplo da *E. coli*, como principal indicador, é que em sua ausência ainda existem vírus entéricos e parasitas intestinais como *Giardia* e *Cryptosporidium*. Sendo assim a redução de *C. perfringens* ou até eliminação completa indica uma forma segura de avaliar eficiência de um tratamento de água (CETESB, 1993). Barreto *et al.* (2010) observaram redução de até 6 log nas concentrações de *C. perfringens* por meio de um sistema de tratamento composto por reator anaeróbio compartimentado seguido de *wetlands*, e uma posterior etapa cloração.

**Potencial de reúso dos efluentes** - O Brasil ainda carece de legislação específica para o reúso de efluentes domésticos, sendo este um dos obstáculos para a disseminação dessa prática. Atualmente, as principais diretrizes brasileiras para reúso são o Manual de Conservação de Reúso de Água em Edificações do SINDUSCON/SP (2005) e a NBR 13.969/1997, no entanto, além de possuírem limites que não condizem com a realidade, também não apontam limites para a presença de *C. perfringens* o que deixa visível a carência de uso deste tipo de indicador microbiológico.

As normas para águas de abastecimento estabelecem a ausência de *C. perfringens* cada 100 mL, no entanto é importante destacar que há diferença entre água de abastecimento e água de reúso, e a principal diferença está na finalidade do uso. Gonçalves e Jordão (2006) defendem a reutilização de água para fins não potáveis, e nestes casos, há a possibilidade de limites mais flexíveis dos parâmetros físico-químicos e microbiológicos. Fazer um efluente de águas que poderiam ser destinadas para reúso atingirem padrões de água de abastecimento encarece e inviabiliza a aplicação na prática.

Rodriguez *et al.* (2009) indicam algumas diretrizes que devem ser estabelecidas para o reúso potável e que se estendem ao reúso não potável: (i) normas que se baseiem principalmente na gestão dos efluentes sanitários diminuindo riscos com substâncias químicas tóxicas (resíduos industriais e agrotóxicos); (ii) uso de indicadores microbiológicos mais eficientes como o *C. perfringens*; (iii) implantação de sistemas hidráulicos desconexos (águas de abastecimento separadas das águas de reúso) e (iv) programas que incentivem a aceitação pública, porém, com a responsabilidade do controle ainda sobre órgãos reguladores.

## Conclusões

Conforme foi exposto, o *C. perfringens* está presente em concentrações diferentes nas águas segregadas cinzas, não segregadas, e negras. As diferenças também ficaram visíveis ao se comparar efluentes do mesmo tipo, mas de sistemas experimentais diferentes. Enquanto as águas cinzas do sistema experimental 1 não apresentaram *C. perfringens* pelo método dos tubos múltiplos, mesmo após uso de meio de dupla concentração, as amostras de águas cinzas do sistema experimental 2 exibiram quantidades de 2.400 NMP/100mL.

As diferentes fontes de geração podem ter sido fatores que influenciaram, visto que, o segundo sistema experimental possuía também águas provenientes de chuveiros (fonte passível de contaminação fecal), por outro lado, o sistema experimental 1 possui contribuição apenas de lavanderias e máquinas de lavar as quais sofrem maior influência do uso de produtos de limpeza. Desta forma, a separação de tubulações da lavanderia do restante pode ser uma abordagem interessante para reúso de águas cinzas em instalações prediais. Confirmou-se, assim, que a segregação de correntes é uma forma eficaz para reutilização de águas residuárias.

As águas negras apresentaram as maiores concentrações de *C. perfringens*, o que reafirma este microrganismo como indicador de contaminação fecal, visto que são águas que transportam, exclusivamente, este tipo de material.

Quanto aos efluentes não segregados foi observada uma grande variação entre os dados do sistema experimental 1, sendo assim, recomenda-se a realização de coletas de amostras compostas por alíquotas ao longo do dia afim de analisar a qualidade diária do efluente e não de períodos específicos. De um modo geral, as águas não segregadas e águas negras apresentaram altas concentrações de *C. perfringens*, sendo necessários tratamentos de desinfecção haja vista que sua presença é um indicativo para existência de vírus entéricos ou protozoárias patogênicos.

De acordo com os resultados apresentados, as águas cinzas de um mesmo sistema experimental apresentaram qualidade microbiológica superior em relação às águas negras ou aos esgotos não segregados, e, portanto, com maior potencial de reúso. Foi possível observar que, do ponto de vista microbiológico, as águas cinzas de um mesmo sistema experimental apresentaram melhor qualidade em relação às negras ou aos esgotos não segregados, evidenciando o seu potencial de reúso com tratamentos mais simples.

Ressalta-se, entretanto, a importância de estudos sobre a avaliação de riscos microbiológicos para o uso mais seguro desses efluentes, levando em consideração, além das concentrações de microrganismos, o tempo e a frequência de exposição.

### Referências bibliográficas

- ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR 13969: **Tanques sépticos - Unidades de tratamento complementar e disposição final dos efluentes líquidos - Projeto, construção e operação**. Rio de Janeiro, 1997.
- BARRETO, A. S.; NOUR, E. A. A.; DOMINGUES, L. M. **Avaliação de um sistema de tratamento de esgoto submetido a cloração visando reúso pela quantificação de microrganismos**. Revista DAE, p.17-22. Setembro, 2010.
- CETESB - Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. **Determinação do número mais provável de clostrídios sulfito-redutores (*Clostridium perfringens*): Método de Ensaio L5.213**. p. 28. São Paulo, 1993.
- FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da segurança alimentar**. Stephen J. Forsythe; Tradução Maria Carolina Minardi Guimarães e Cristina Leonhardt. Porto Alegre: Artmed, 2002.
- FRIEDLER, E.; GILBOA, Y. **UV disinfection of RBC-treated light greywater effluent: Kinetics, survival and regrowth of selected microorganisms**. WaterResearch. V.42, p.1043 – 1050, 2008.
- GONÇALVES, R. F.; JORDÃO, E. P. Cap. 1 – Introdução. In: **Uso Racional da Água em Edificações**. Ricardo Franci Gonçalves (Coord.). Projeto PROSAB. Rio de Janeiro: ABES, 2006.
- MADDOCKS, A.; YOUNG, R. S.; REIG, P. **Ranking the World's Most Water-Stressed Countries in 2040**. World Resources Institute, August 26, 2015.
- MAY, S. **Caracterização, tratamento e reúso de águas cinzas e aproveitamento de águas pluviais em edificações**. 2009. 67 p. Tese (Doutorado em Engenharia) - Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.
- METCALF, L; EDDY, H.P. **Tratamento de efluentes e recuperação de recursos**/Leonard Metcalf e Harrison P. Eddy; tradução Ivanildo Hespanhol; José Carlos Mierzwa. – 5. ed. – Porto Alegre: AMGH, 2016.
- OTTERPOHL, R. **Black, brown, yellow, grey- the new colors of sanitation**. Water 21. p. 37-41, out. 2001.
- OTTOSON, J.; STENSTRÖM, T.A. **Faecal contamination of greywater and associated microbial risks**. WaterResearch, v.37, p. 645-655, 2003.
- PEDROSO, C. R.; KOVALSKI, T.; SOUZA, J. B.; VIDAL, C. M. S. **Desinfecção de Esgoto Sanitário Empregando Radiação Ultravioleta e Verificação dos Fenômenos de Fotorreativação e Recuperação no Escuro**. Congresso Nacional de Engenharia Sanitária de Ambiental, 28ª edição, Rio de Janeiro, RJ, 2015.
- RODRIGUEZ, C.; VAN BUYINDER, P; LUGG, R; BLAIR, P; DEVINE, B; COOK, A.; WEINSTEINS, P. **Indirect potable reuse: A sustainable water supply alternative**, International Journal of Environmental Research and Public Health, v6, p 1174-1209, 2009.
- SINDICATO DA INDÚSTRIA DA CONSTRUÇÃO DO ESTADO DE SÃO PAULO – SINDUSCON, FEDERAÇÃO DAS INDÚSTRIAS DO ESTADO DE SÃO PAULO – FIESP. **Manual de Conservação e reúso da água em edificações**. Prol Editora Gráfica: São Paulo, junho de 2005.
- SOUZA, J. B.; DANIEL, L. A. **Comparison between sodium hypochlorite and peracetic acid for *E. coli*, coliphages and *C. perfringens* inactivation of high organic matter concentration water**. Engenharia Sanitária e Ambiental, v 10 n.2 p 111-117, Rio de Janeiro, April. 2005.