

II-084 - ANÁLISE BACTERIOLÓGICA DE ÁGUAS RESIDUAIS NO DISTRITO FEDERAL COM A UTILIZAÇÃO DO MÉTODO DO SUBSTRATO ENZIMÁTICO

Alberto Jorge da Rocha Silva⁽¹⁾

Bacharel em Ciências Biológicas pela Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). Mestre em Biologia Vegetal pelo Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal da UFPE. Analista de Sistemas de Saneamento na Companhia de Saneamento Ambiental do Distrito Federal (CAESB), no Laboratório de Microbiologia de Águas Residuais da Coordenadoria de Análises Biológicas e Limnológicas (PGOQB).

Bruno Dias Batista⁽¹⁾

Bacharel e Licenciado em Ciências Biológicas pela Universidade de Brasília (UnB). Mestre em Planejamento e Gestão Ambiental pela Universidade Católica de Brasília (UCB). Analista de Sistemas de Saneamento na Companhia de Saneamento Ambiental do Distrito Federal (CAESB), no Laboratório de Hidrobiologia da Coordenadoria de Análises Biológicas e Limnológicas (PGOQB).

Cristine Gobatto Brandão Cavalcanti⁽¹⁾

Bacharel em Ciências Biológicas pela Universidade de Brasília (UnB). Especialista em limnologia e manejo de represas pela Universidade de São Paulo - Centro de Recursos Hídricos e Ecologia Aplicada (USP-CRHEA). Responsável pela Coordenadoria de Análises Biológicas e Limnológicas (PGOQB) na Companhia de Saneamento Ambiental do Distrito Federal (CAESB).

Ivana Mirtes Feu Silva⁽¹⁾

Bacharel em Ciências Biológicas pela Universidade de Brasília (UnB). Mestre em Biologia Molecular pela Universidade de Brasília (UnB). Analista de Sistemas de Saneamento na Companhia de Saneamento Ambiental do Distrito Federal (CAESB), no Laboratório de Hidrobiologia da Coordenadoria de Análises Biológicas e Limnológicas (PGOQB).

Odailma Nazaré Tavares⁽¹⁾

Técnica em Saneamento pela Escola Técnica Federal de Goiás. Bacharel em Letras pelo Centro Universitário de Brasília (Uniceub). Bacharel em Direito pelo Centro Universitário do Distrito Federal (Unidf). Especialista em Educação Ambiental pela Universidade Católica de Brasília (UCB). Técnico de Sistemas de Saneamento na Companhia de Saneamento Ambiental do Distrito Federal (CAESB), no Laboratório de Microbiologia de Águas Residuais da Coordenadoria de Análises Biológicas e Imunológicas (PGOQB)."

Patrícia Barbosa Machado⁽¹⁾

Técnica em Saneamento pela Escola Técnica Federal de Goiás. Tecnóloga em Análise e Desenvolvimento de Sistema pela Fundação Universidade do Tocantins. Técnico de Sistemas de Saneamento na Companhia de Saneamento Ambiental do Distrito Federal (CAESB). Laboratório de Microbiologia de Águas Residuais da Coordenadoria de Análises Biológicas e Limnológicas (PGOQB).

Endereço⁽¹⁾: ETA Brasília – R1, Área Especial, s/n, CAESB, Setor de Áreas Isoladas Norte – SAIN, Brasília - DF - CEP: 70.620-000 - Brasil - Tel: (61) 3214-7970 - e-mail: albertorocha@caesb.df.gov.br

RESUMO

A maioria das estações de tratamento encontra-se trabalhando acima de sua capacidade e requerendo um aumento de vazão em função da demanda que aumenta dia após dia. Uma grande parte dessas estações utiliza tradicionalmente o sulfato de alumínio como coagulante primário e poucas vezes usam algum tipo de polímero como auxiliar de floculação. Na escolha desses produtos nem sempre a qualidade da água a ser tratada é levada em consideração. Procurando atender aos padrões de qualidade exigidos e a sobrecarga que muitas vezes é inevitável, observa-se que em cada caso haverá um coagulante e/ou um auxiliar de floculação mais adequado a essas situações. De posse de tal constatação, faz-se necessário que se investigue em laboratório por meio novas metodologias, os vários produtos que aplicados à água bruta possibilitam obter água tratada com qualidade, em quantidade satisfatória, visando sempre o menor custo.

Sendo assim, o presente trabalho vem relatar um estudo realizado em uma estação de tratamento de água projetada para a vazão nominal de 120 L/s, porém, funcionando com 158 L/s, apresentando por esse motivo, água decantada com altos valores de turbidez e cor, o que sobrecarrega os filtros.

Os estudos realizados nessa estação resultaram não só a melhoria da qualidade da água decantada e filtrada como também possibilitou o aumento de sua capacidade com razoável economia dos produtos químicos que

atuam na coagulação. A estação trata atualmente a vazão de até 280 L/s, mantendo a qualidade da água conforme os padrões exigidos pela portaria 36/GM, de 1990.

PALAVRAS-CHAVE: *Escherichia coli*, Coliformes Termotolerantes, Substrato Enzimático, Águas Residuais, Brasília.

INTRODUÇÃO

Microrganismos indicadores vêm sendo utilizados na avaliação da qualidade microbiológica da água há muito tempo. São grupos ou espécies de microrganismos que, quando presentes podem fornecer informações sobre a ocorrência de contaminação de origem fecal e também sobre a provável presença de patógenos. Por outro lado, esses microrganismos indicadores também são utilizados para avaliar a eficiência dos tratamentos de água residuais e esgoto na depuração da carga de matéria orgânica, poluentes e patógenos.

Os critérios que são considerados para que um grupo de microrganismos seja utilizado como indicadores são: i) deve ser de rápida e fácil detecção; não deve estar presente como contaminante natural na água ou no alimento, pois assim sua detecção não indicará, necessariamente, a presença da matéria fecal ou de patógenos; ii) deve estar sempre presente quando o patógeno associado estiver; iii) seu número deve correlacionar-se com o do patógeno; iv) deve apresentar necessidades de crescimento e velocidade de crescimento semelhante às do patógeno; v) deve ter velocidade de morte que seja ao menos semelhante à do patógeno e, se possível, sobrevivência levemente superior à do patógeno.

O indicador ideal de contaminação fecal, portanto, deve preencher outros requisitos além dos anteriormente citados: i) ter como habitat exclusivo o trato intestinal do homem e de outros animais; ii) ocorrer em número elevado nas fezes; iii) apresentar alta resistência ao ambiente extra-enteral; iv) ser detectado através de técnicas rápidas, simples e precisas.

As fezes de uma pessoa sadia contêm um grande número de bactérias comensais de várias espécies que variam na quantidade e tipo de acordo com os hábitos e costumes da população. Estas grandes variações de espécies levaram diversos estudos a estabelecerem como microrganismos indicadores de contaminação bactérias dos gêneros *Escherichia*, *Pseudomonas* e *Enterococcus*, entre outros. As bactérias penetram no corpo humano por ingestão de alimentos ou água contaminados, e por meio das próprias mãos infectadas.

A contaminação do sistema público de abastecimento de água por esgotos geralmente é detectada pela presença de coliformes na água. Este grupo é composto por bactérias da Família Enterobacteriaceae, capazes de fermentar a lactose com produção de ácido e gás, quando incubados a 35-37°C, por 48 horas. São bastonetes Gram-negativos, não formadores de esporos, aeróbios ou anaeróbios facultativos.

Pertencem a este grupo predominantemente, bactérias dos gêneros *Escherichia*, *Enterobacter*, *Citrobacter* e *Klebsiella*. Destas, apenas a *Escherichia coli* tem como habitat primário o trato intestinal do homem e animais. Os demais, além de serem encontrados nas fezes, também estão presentes em outros ambientes como vegetais e solo, onde persistem por tempo superior ao de bactérias patogênicas de origem intestinal como *Salmonella* e *Shigella*. Conseqüentemente, a presença de coliformes totais na água, nos alimentos e em águas residuais, não indica, necessariamente, contaminação fecal recente ou ocorrência de enteropatógenos.

As bactérias pertencentes a este grupo correspondem aos coliformes totais que apresentam a capacidade de continuar fermentando lactose com produção de gás, quando incubadas à temperatura de 44,5-45,5°C. Nessas condições, ao redor de 90% das culturas de *Escherichia coli* são positivas, enquanto entre os demais gêneros, apenas algumas cepas de *Enterobacter* e *Klebsiella* mantêm essa característica.

O grupo coliforme possui um subgrupo de bactérias denominadas coliformes termotolerantes, que, são capazes de fermentar a lactose a 44- 45°C ($\pm 0,2$) em 24 horas. Pertence, a este subgrupo, o gênero *Escherichia* e, em menor extensão, espécies de *Klebsiella*, *Enterobacter* e *Citrobacter*; tendo como principal representante a *E. coli* (bactéria de origem exclusivamente fecal). Os coliformes termotolerantes distintos de *E. coli*, podem originar-se de águas enriquecidas organicamente como, por exemplo, de efluentes industriais ou de materiais vegetais e solo em decomposição.

Assim, a pesquisa de coliformes fecais ou de *E. coli* fornece com maior segurança, informações sobre as condições higiênicas da água e melhor indicação da eventual presença de enteropatógenos, além de ser um melhor indicador da eficiência dos sistemas de tratamento de águas residuais.

A análise microbiológica de águas residuais pode ser conduzida para investigar a presença ou a ausência de microrganismos neste produto, para quantificar os microrganismos presentes e para identificar e caracterizar as diferentes espécies microbianas. Inúmeros métodos laboratoriais de análise podem ser utilizados em cada uma dessas determinações. Atualmente, esses métodos são comumente divididos em métodos “convencionais” e métodos “rápidos”.

Os métodos convencionais para caracterização de um determinado microrganismo são baseados na observação da capacidade deste microrganismo de realizar determinadas reações bioquímicas. Em geral, estas reações são realizadas em tubos de ensaio e podem representar uma quantidade de trabalho muito grande a um custo bastante elevado.

O método para a determinação de coliformes totais e fecais pela Técnica de Fermentação em Tubos Múltiplos (TFTM), apesar de seletivo para a determinação do grupo coliforme, não indicam uma separação específica das várias espécies de origem fecal do grupo. A TFTM, também conhecida como Método do Número mais Provável (MNP), é uma maneira bastante utilizada para estimar alguns tipos de microrganismos, como coliformes totais, coliformes fecais, *E. coli* e até mesmo *S. aureus*.

Nesta técnica, após homogeneização, alíquotas e/ou diluições do produto a ser analisado são transferidas para tubos de ensaios contendo o meio de cultura apropriado e um tubo coletor de gás (tubo de Durham). Todos os tubos são incubados, e, em seguida, os positivos são identificados. No caso de coliformes totais e fecais, positividade significa turvação do meio com produção de gás. Pelo número de tubos positivos em cada uma das diluições empregadas, determina-se o número mais provável (NMP), tendo como base tabelas estatísticas (Tabela de Hoskins).

Os métodos rápidos surgiram a partir da década de 70, como consequência da necessidade de se abreviar o tempo necessário para obtenção dos resultados analíticos e melhorar a produtividade laboratorial. Além desses objetivos, esses métodos visam também a simplificação do trabalho e a redução dos custos. Para alguns métodos, a essas vantagens aliam-se outras como maior sensibilidade e especificidade que os métodos convencionais.

A partir de 1992, a *American Public Health Association* publicou no *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* a Técnica de Substratos Definidos (TSD) para utilização na determinação da qualidade bacteriológica de águas para consumo humano, e a sua aprovação e padronização encontram-se na 20ª edição.

Diversas técnicas baseadas em substratos enzimáticos fluorogênicos e/ou cromogênicos, têm sido desenvolvidas e envolvem a capacidade de detectar a presença de enzimas específicas com o emprego de substratos apropriados. A incorporação de tais substratos permite a detecção, enumeração e identificação de forma direta em placa de isolamento ou em caldo, evitando o uso de subculturas e testes bioquímicos para estabelecer a identificação de certos microrganismos.

Como *E. coli* e coliformes são os mais importantes indicadores da poluição de águas, algumas técnicas são capazes de detectar rapidamente, estes microrganismos, através da adição de substratos enzimáticos para a detecção de β -D-galactosidase, que indica a presença de coliformes totais, e de β -D-glucoronidase, que indica a presença de *E. coli*.

O uso das Técnicas dos Substratos Cromogênicos ou Substratos Enzimáticos permite determinar simultaneamente coliformes totais e coliformes termotolerantes presentes em amostras de água, utilizando apenas um meio de cultura. O tempo necessário para obtenção dos resultados confirmados varia entre 18 e 28 horas, dependendo do produto comercial utilizado, representando grande vantagem pela rapidez do resultado e a possibilidade de correção de problemas existentes, principalmente em sistemas de abastecimento público, bem como aumentar a eficiência no tratamento de águas residuais.

O objetivo do presente trabalho foi avaliar e validar a utilização das técnicas dos substratos cromogênicos ou substratos enzimáticos na determinação qualitativa e quantitativa de *E. coli* em águas residuais no sistema de tratamento de esgoto da Companhia de Saneamento Ambiental do Distrito Federal – CAESB.

Para validar a técnica de substrato enzimático, foi realizada a comparação com os resultados obtidos por meio da Técnica de Fermentação em Tubos Múltiplos (APHA, 2012), no âmbito do Laboratório de Microbiologia Águas Residuais, da Coordenadoria de Análises Biológicas e Limnológicas, da Gerência de Monitoramento da Qualidade da Água (PGOQB/PGOQ/PGO/CAESB).

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizados para análise bacteriológica materiais provenientes de estações de tratamento de esgoto (ETE), estações de tratamento de água (ETA), e amostras de lodo de esgoto coletadas em áreas destinadas à disposição final, conforme Tabela 1. No caso das ETE's, o material coletado abrangeu desde o afluente até o efluente das estações, e diversos outros pontos ao longo dos sistemas de tratamento. Já para as ETA's, foram amostrados os materiais resultantes da lavagem periódica dos filtros utilizados no tratamento. O lodo de esgoto é o resíduo gerado nos processos de tratamento do esgoto, sendo que as amostras foram coletadas em duas áreas destinadas a sua disposição final.

A determinação de coliformes termotolerantes (ou a 45 ° C) foi realizada por meio do método dos tubos múltiplos com meio A1 (APHA, 2012). Para a análise de *Escherichia coli* foi utilizado o método do substrato enzimático (APHA, 2012).

Os dados foram convertidos em logaritmo de base 10 para verificar se os mesmos apresentavam uma distribuição normal. Para a comparação dos resultados dos métodos de análise foi aplicado teste t pareado. Com o objetivo de estabelecer a relação entre as concentrações de coliformes termotolerantes e de *E. coli* no método de tubos múltiplos, foi utilizado o índice de 60 %, conforme definido pela CETESB, valor bastante próximo da porcentagem de 63%, derivada da conversão dos critérios de balneabilidade da USEPA (200/100mL coliformes termotolerantes para 126 *E. coli*/100mL) (CETESB, 2008).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram analisadas 34 amostras de 13 ETEs, duas ETAs e duas áreas de disposição de lodo de esgoto, sendo cinco amostras na fase sólida e as demais na fase líquida (afluentes e efluentes), conforme Tabela 1.

Tabela 1. Amostras utilizadas na análise bacteriológica para validação do Método do Substrato Enzimático

Data	Estação
31/ago	ETA ¹ RD
01/set	ETE ² Planaltina
	ETE Vale Amanhecer
	REFFSA ³
	ETE São Sebastião
02/set	ETA Pípiripau
08/set	ETE Sobradinho
	ETE Brazlândia
	ETE Vila Esperança
	Unidade Lodo Seco Samambaia ³
	ETE Norte
	ETE Paranoá
	ETE Riacho Fundo
09/set	ETE Sul
	ETA Brasília
14/set	ETE Alagado
	ETE Gama
	ETE Santa Maria

¹ ETA - Estação de tratamento de água

² ETE - Estação de tratamento de esgoto

³ Áreas de destinação final de lodo de esgoto

* Sólidos

O teste t pareado, aplicado sobre os resultados da análise de coliformes termotolerantes pelo método de tubos múltiplos, com a projeção de 60 % corresponde ao resultado esperado para *E. coli*, e de *E. coli*, pelo método do substrato enzimático, demonstrou que não existem diferenças significativas entre os resultados obtidos por ambos os métodos. A média resultante foi de 0,038, com desvio padrão < 0,5.

Tabela 2. Resultados das análises bacteriológicas pelos métodos dos tubos múltiplos e do substrato enzimático

Estação	Amostra	Tubos Múltiplos	60 % de CT	Substrato Enzimático	TESTE T Pareado diferenças (logaritmo)
ETA RD	Torta	5,96E+02	3,58E+02	1,56E+02	3,6E-01
ETE Planaltina	Afluente	2,30E+07	1,38E+07	1,99E+07	-1,6E-01
	Lagoas Facultativas 1 e 3	1,30E+06	7,80E+05	7,27E+05	3,1E-02
	Lagoas Facultativas 2 e 4	1,10E+06	6,60E+05	5,49E+05	8,0E-02
	Lagoa de Maturação 1	4,90E+04	2,94E+04	1,99E+04	1,7E-01
	Lagoa de Maturação 2	2,30E+03	1,38E+03	2,76E+03	-3,0E-01
ETE Vale Amanhecer	Afluente	4,90E+06	2,94E+06	9,21E+06	-5,0E-01
	Efluente de Lagoa de Maturação	7,90E+04	4,74E+04	4,35E+04	3,7E-02
REFFSA	Torta	1,80E+00	1,08E+00	1,00E+00	3,3E-02
ETE São Sebastião	Afluente	3,10E+07	1,86E+07	2,42E+06	8,9E-01
	Escoamento superficial	4,90E+05	2,94E+05	7,27E+05	-3,9E-01
	Lagoa de Maturação 1	1,30E+06	7,80E+05	2,42E+05	5,1E-01
	Lagoa de Maturação 2	1,30E+04	7,80E+03	1,73E+04	-3,5E-01
ETA Píripaipau	Torta	4,13E+02	2,48E+02	6,20E+01	6,0E-01
ETE Sobradinho	Afluente	3,30E+07	1,98E+07	9,21E+06	3,3E-01
	Efluente	2,20E+07	1,32E+07	5,17E+06	4,1E-01
ETE Brazlândia	Afluente	1,30E+07	7,80E+06	1,30E+07	-2,2E-01
	Efluente de Lagoa Facultativa 1 e 2	2,30E+05	1,38E+05	2,42E+05	-2,4E-01
ETE Vila Esperança	Afluente	2,30E+07	1,38E+07	1,05E+07	1,2E-01
	Efluente	7,90E+06	4,74E+06	1,73E+06	4,4E-01
Unidade Lodo Seco Samambaia	Torta	1,80E+00	1,08E+00	1,00E+00	3,3E-02
ETE Norte	Afluente	1,70E+07	1,02E+07	3,13E+06	5,1E-01
	Efluente	1,30E+05	7,80E+04	1,55E+05	-3,0E-01
ETE Paranoá	Afluente	4,60E+07	2,76E+07	1,20E+07	3,6E-01
	Efluente	1,70E+06	1,02E+06	1,30E+06	-1,1E-01
ETE Riacho Fundo	Afluente	1,30E+07	7,80E+06	6,87E+06	5,5E-02
	Efluente Tanque 03	2,30E+05	1,38E+05	5,79E+05	-6,2E-01
ETE Sul	Afluente	7,90E+06	4,74E+06	6,87E+06	-1,6E-01
	Efluente	9,40E+05	5,64E+05	1,41E+05	6,0E-01
ETA Brasília	Torta	5,29E+02	3,17E+02	1,70E+02	2,7E-01
ETE Alagado	Afluente	1,10E+07	6,60E+06	7,22E+06	-3,9E-02

	Efluente ao Polimento	4,90E+03	2,94E+03	1,05E+04	-5,5E-01
ETE Gama	Afluente	7,90E+06	4,74E+06	8,66E+06	-2,6E-01
ETE Santa Maria	Efluente Lagoa de Alta Taxa	7,00E+05	4,20E+05	9,08E+05	-3,3E-01
3,8E-02	Média				
3,7E-01	Desvio-padrão				
6,2E-01	t calculado				
2,0E+00	t tabelado				

Em estudo para comparar padrões microbiológicos de qualidade da água com base em coliformes termotolerantes (CT) e o emprego de *Escherichia coli* como organismo indicador, foram coletadas amostras de pequenos córregos urbanos e realizadas análises simultâneas utilizando meios de cultura convencionais (m-FC e m-TEC) para determinação de CT e substrato enzimático (Colilert, m-ColiBlue e ágar nutriente com MUG) para determinação de *E. coli*. Embora os níveis observados para todos os testes tivessem sido altamente correlacionados, um número significativamente menor de *E. coli* foi encontrado com m-TEC do que com o substrato enzimático. Além disso, para *E. coli* foram encontradas frações maiores (84-104%, dependendo do ensaio) em relação aos CT, do que as concentrações registradas pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (cerca de 63%). As seguintes observações quanto a (1) melhoria dos resultados obtidos de *E. coli* observados utilizando os meios com substrato enzimático, e (2) a maior proporção de *E. coli* entre os CT, indicaram que avaliações melhores do estado de qualidade da água seriam realizadas com a utilização dos meios com substrato enzimático (Halmiton *et al.*, 2005).

Em outro estudo comparativo, a CETESB selecionou corpos d'água que apresentaram diferentes faixas de contaminação e diferentes fontes de poluição (urbana e agrícola), para realizar a determinação de coliformes termotolerantes (CT) pela técnica de membrana filtrante, utilizando-se o ágar mFC, e a determinação de *E. coli* com o uso do meio EC-MUG (meio específico para enzima) conforme descrito no *Standard Methods*. Para comparar os métodos de análise de *E. coli* com os meios ágar mFC + EC-MUG e ágar mTEC modificado foi realizado o teste t pareado. Para avaliar a relação entre as concentrações de CT e de *E. coli*, obtidas tanto diretamente com o meio ágar mTEC modificado como após diferenciação dos CT com o meio EC-MUG, foi estabelecido um modelo de Regressão Linear Simples. Os resultados comprovaram a linearidade entre as concentrações de CT e *E. coli*, do que se concluiu que a porcentagem de *E. coli*/CT nas amostras analisadas ficaram na faixa compreendida entre 74,5% e 84,7%, bastante próxima portanto do valor adotado pela Resolução CONAMA 274/2000. Tais resultados, reforçaram a tendência para a utilização de métodos que empregam substratos cromogênicos ao invés dos métodos tradicionais para as análises bacteriológicas (CETESB, 2008).

Já em estudo bacteriológico realizado na Suécia, amostras de água potável e de uso recreativo foram analisadas em duplicidade pelos métodos de fermentação dos tubos múltiplos, filtração de membranas e substrato enzimático (Colilert). O método do substrato enzimático foi registrado como mais sensível do que os demais para a detecção de coliformes e de igual sensibilidade para a detecção de *E. coli*, para as amostras de água potável. Com base nesses resultados, SWEDAC, o organismo de acreditação dos laboratórios suecos, aprovou o uso do método de substrato enzimático (Colilert) para a análise de água para consumo humano. Já para as amostras de água de uso recreativo, a análise de coliformes totais gerou resultados anômalos devido a dificuldades de confirmação, enquanto que a determinação de *E. coli* foi similar para todos os métodos. (ECKNER, 1998)

Um outro estudo comparou a eficiência dos métodos rápidos Colilert (Idexx) (TSD-C) e Readycult Coliformes (Merck) (TSD-R) com a Técnica de Fermentação em Tubos Múltiplos (TFTM), para a determinação de bactérias coliformes totais, coliformes fecais, em amostras de águas de sistemas de abastecimento público, águas de superfície e águas subterrâneas. Para a quantificação de coliformes totais observou-se nos métodos Colilert e Readycult que a sensibilidade e a especificidade foram altas, (> 95%), e o coeficiente *kappa* foi muito próximo de 1, indicando concordância ótima entre estas técnicas e a TFTM. Para a determinação de

coliformes fecais observou-se que a especificidade foi máxima (100%) em ambos os métodos rápidos, a sensibilidade foi alta para o método ReadyCult (87%), mas menor para o método Colilert (> 76%); o coeficiente *kappa* foi alto para o método ReadyCult (0,85), e menor para o método Colilert (0,74) indicando concordâncias ótima e boa, respectivamente. Assim o estudo demonstrou que o uso destas técnicas permite a obtenção de resultados em 24 horas, representando grande vantagem pela rapidez e a possibilidade de correção de problemas existentes, principalmente em sistemas de abastecimento (GREGHI, 2005).

Finalmente, estudo realizado com amostras de água obtidas em Piracicaba, SP, teve como objetivo comparar as contagens encontradas de coliformes totais, coliformes termotolerantes e *E. coli* pelos métodos de fermentação em tubos múltiplos e substrato enzimático (colilert/colitag) nas análises bacteriológicas de amostras de água provenientes de pontos com contaminações distintos (sistema de abastecimento, água de superfície – rio, e água subterrânea – bica). Os métodos envolvendo substrato enzimático se mostraram equivalentes ao de tubos múltiplos nas análises de coliformes totais em amostras de água provenientes da rede de abastecimento e bicas, e nas análises de *E. coli* em amostras de água de abastecimento, bicas e proveniente do rio (Marquezi, 2010).

No caso de águas residuais, estudo examinou a adequação de três métodos analíticos para o isolamento e enumeração de *E. coli* em lodo de esgoto tratado convencionalmente, sendo dois métodos utilizando membrana filtrante, um com substrato cromogênico para determinar *E. coli*/Coliformes totais (CEC), outro com membrana-lactose ágar glucuronido (MLGA); no terceiro método foi aplicada a técnica de número mais provável (NMP), utilizando o método Colilert/Quanti Tray. Os métodos foram avaliados quanto à variação, consistência, e resultados falso-positivos e falso-negativos, bem como o método de correlação. Os métodos deram boa e consistente recuperação de *E. coli* para uma série de amostras de esgoto tratadas convencionalmente. Assim, definiu-se que é possível utilizar como padrão o número de *E. coli* removido por meio dos tratamentos de esgoto, utilizando-se o método do substrato enzimático (Colilert), sendo que os demais podem ser aplicados para confirmação dos resultados (Eccles *et al.*, 2004).

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos por meio do método do substrato enzimático foram conclusivos, o que permitiu definir a utilização deste método na realização das análises bacteriológicas no âmbito do Laboratório de Microbiologia Águas Residuais, da Coordenadoria de Análises Biológicas e Limnológicas, da Gerência de Monitoramento da Qualidade da Água (PGOQB/PGOQ/PGO/CAESB).

Os resultados obtidos pelo método do substrato enzimático (Colitag) foram estatisticamente correspondentes aos resultados obtidos por meio de métodos dos tubos múltiplos (meio A1), com relação ao número mais provável (NMP) registrados para coliformes termotolerantes.

Os resultados obtidos apontam a possibilidade de utilização de *Escherichia coli* como indicador biológico nas análises bacteriológicas em águas residuais (esgoto e biossólidos), já que o método do substrato enzimático é mais eficiente na recuperação de células desta bactéria, sendo que a mesma compõe a principal fração de coliformes termotolerantes (cerca de 90 %).

As conclusões acima são também corroboradas pela literatura científica que relaciona o estudo comparativo de vários métodos aplicados em análises bacteriológicas, tanto para água bruta e tratada, com para águas residuais (esgoto e biossólidos).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION – APHA. *Microbiological Examination*. In: APHA; AWWA; WEF. *Standard methods for the examination of water and wastewater*. 22 ed. Washington, 2012.
2. CETESB - Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. Monitoramento de *Escherichia coli* e coliformes termotolerantes em pontos da rede de avaliação da qualidade de águas interiores do Estado de São Paulo. Relatório Técnico. São Paulo: CETESB. 2008.

3. ECCLES, J.P.; SEARLE, R.; HOLT D.; DENNIS, P.J. *A comparison of methods used to enumerate Escherichia coli in conventionally treated sewage sludge. Journal of Applied Microbiology*, v. 96, p. 375–383. 2004.
4. ECKNER, K. F. *Comparison of Membrane Filtration and Multiple-Tube Fermentation by the Colilert and Enterolert Methods for Detection of Waterborne Coliform Bacteria, Escherichia coli, and Enterococci Used in Drinking and Bathing Water Quality Monitoring in Southern Sweden. Applied and Environmental Microbiology*, v.64, n.8, p. 3079–3083. 1998.
5. GREGHI, S. de Q. *Avaliação da Eficiência de Métodos Rápidos Usados para Detecção de Coliformes Totais e Coliformes Fecais em Amostras de Água, em Comparação com a Técnica de Fermentação em Tubos Múltiplos. Araraquara, 2005. Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Alimentos e Nutrição - Área de Ciências dos Alimentos, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”. 2005.*
6. HAMILTON, W. P.; KIM, M.; THACKSTON, E. L. *Comparison of commercially available Escherichia coli enumeration tests: Implications for attaining water quality standards. Water Research*, v.39, p. 4869–4878. 2005.
7. MARQUEZI, M. C. *Comparação de metodologias para estimativa do número mais provável (NMP) de coliformes em amostras de água. Piracicaba, 2010. Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestre em Ciência, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz - ESALQ, Universidade de São Paulo – USP. 2010.*