UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ **FERNANDA LIKES** AVALIAÇÃO DE DESEMPENHO DOS MÉTODOS QUANTITATIVOS COLILERT-18 E ENTEROLERT PARA BALNEABILIDADE DAS PRAIAS NO ESTADO DO **PARANÁ CURITIBA** 2023

FERNANDA LIKES

AVALIAÇÃO DE DESEMPENHO DOS MÉTODOS QUANTITATIVOS COLILERT-18 E ENTEROLERT PARA BALNEABILIDADE DAS PRAIAS NO ESTADO DO PARANÁ

Monografia apresentada ao curso de Graduação em Ciências Biológicas, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientadora: Prof.ª Dra. Patricia Dalzoto

Co-orientadora: Ma. Beatriz Ern Da Silveira

CURITIBA

TERMO DE APROVAÇÃO

FERNANDA LIKES

AVALIAÇÃO DE DESEMPENHO DOS MÉTODOS QUANTITATIVOS COLILERT-18 E ENTEROLERT PARA BALNEABILIDADE DAS PRAIAS NO ESTADO DO PARANÁ

Monografia apresentada ao curso de Graduação em Biologia, Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas.

Dedico este trabalho a todas as mulheres que sonham em fazer ciência. A
todos os alunos periféricos, de escola pública, primeiros em suas famílias a fazerem
faculdade. Dedico aos que ingressaram na academia já mais velhos. Dedico a todos
que precisam trabalhar durante a graduação para garantir sua permanência na
universidade. Dedico aos que todos os dias batalham, quebram tabus e enfrentam o
sistema para ocupar sua cadeira na sala de aula. NÓS CONSEGUIMOS!

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à minha família que sempre me apoiou, me ouviu e me incentivou em toda esta trajetória.

Agradeço à minha noiva Yasmin, por estar ao meu lado, me dando suporte e colo nas horas difíceis, ocupando papel de psicóloga, revisora, conselheira e o que mais fosse necessário, para que eu me mantivesse firme no meu sonho de me formar em uma universidade pública.

Agradeço aos amigos que fiz em sala de aula e estágios, vocês deixaram os dias mais coloridos, os fardos menos pesados e os trabalhos muito mais divertidos. Obrigada à Helen em especial, por topar minhas ideias e jamais deixar de me apoiar e torcer por mim.

Agradeço imensamente à toda equipe de laboratórios do IAT, que me acolheu, ensinou, amparou, contribuiu para o meu desenvolvimento profissional e foi essencial para a elaboração deste trabalho. Em especial à Beatriz, que foi uma supervisora incrível e sempre disposta a dividir o conhecimento. Obrigada por todas as conversas, conselhos e risadas.

Por fim, agradeço aos meus professores, à orientadora Prof^a. Dr^a Patricia, e à Universidade Federal do Paraná, por tornarem possível a realização deste sonho.



RESUMO

O presente trabalho aborda a comparação do resultado do monitoramento da qualidade das praias no estado do Paraná, realizado na alta temporada de verão de 2021/2022, por meio de dois métodos: Colilert e Enterolert, que quantificam bactérias indicadoras de contaminação fecal. O Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA), preconiza as normas para determinação da qualidade da água, validando, para esse fim, o uso da bactéria Escherichia coli e do grupo de bactérias enterococos. O atual programa de balneabilidade do Instituto Água e Terra (IAT), órgão responsável pelos boletins informativos do estado, utiliza hoje a bactéria E. coli como organismo de escolha. Entretanto, estudos têm demonstrado que o grupo de bactérias enterococos apresenta maior resistência à exposição aos raios UV, assim como às variações de salinidade e pH, parâmetros estes de grande importância para sobrevivência de organismos na região litorânea. A presente pesquisa tem como objetivo avaliar, por meio de análises estatísticas dos dados obtidos na quantificação dos organismos, as correlações entre os métodos utilizados e identificar a técnica que se apresenta mais restritiva ao uso recreativo da água. Os resultados denotaram a equivalência de eficiência entre as técnicas, entretanto, o grupo dos enterococos demonstrou-se mais restritivo como indicador, apresentando maior número de pontos impróprios e evidenciando a presença de subnotificação nos resultados divulgados pelo IAT. Apesar do número de pontos de discrepância entre os resultados ser baixo, estes oferecem ao órgão estadual uma oportunidade de melhoria no monitoramento da qualidade das praias do Paraná, oferecendo assim, maior segurança aos banhistas.

Palavras-chave: Substrato enzimático; *Enterococcus*; *Escherichia coli*; qualidade da água; subnotificação.

ABSTRACT

The present work addresses the comparison of the results of monitoring the quality of beaches in the state of Paraná, carried out in the high summer season of 2021/2022, through two methods: Colilert and Enterolert, which quantify indicator bacteria of fecal contamination. The Conselho Nacional do Meio Ambiente prescribes standards for determining water quality, validating, for this purpose, the use of the Escherichia coli bacteria and the enterococci group of bacteria. The current bathing program of the Instituto Água e Terra, the company responsible for the state's information bulletins, currently uses the E. coli bacteria as the organism of choice. However, studies have shown that the enterococci bacteria group is more resistant to exposure to UV rays, as well as to variations in salinity and pH, parameters of great importance for the survival of organisms in the coastal region. This research aims to evaluate, through statistical analysis of the data obtained in the quantification of organisms, the correlations between the methods used and to identify the technique that is most restrictive to recreational use of water. The results showed the equivalence of efficiency between the techniques, however, the Enterococci group showed itself to be more restrictive as an indicator, presenting a higher number of improper points and evidencing the presence of under-reporting in the results disclosed by IAT. Despite the low number of points of discrepancy between the results, they offer to the institute an opportunity to improve the monitoring of the quality of the beaches in Paraná, thus offering greater safety to bathers.

Keywords: Enzymatic substrate; *Enterococcus*; *Escherichia coli*; Water quality; Underreporting.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – CLASSIFICAÇÃO DAS PRAIAS	20
FIGURA 2 – PRAIAS E RIOS DO LITORAL PARANAENSE	21
FIGURA 3 – RESULTADO POSITIVO PARA COLIFORMES TOTAIS	24
FIGURA 4 – RESULTADO POSITIVO PARA <i>E. COLI</i>	25
FIGURA 5 – AMOSTRA PROCESSADA COM A TÉCNICA ENTEROLERT	26
FIGURA 6 – PRAIA CENTRAL DE GUARATUBA	27
FIGURA 7 – MEIOS DE CULTURA ENZIMÁTICOS	28
FIGURA 8 – PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS	29

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1 – CORRELAÇÃO ENTRE OS RESULTADOS DE ENTEROLERT X
COLILERT PARA ANÁLISE DE EQUIVALÊNCIA DAS TÉCNICAS 3
GRÁFICO 2 – AVALIAÇÃO DA SOBREPOSIÇÃO DOS RESULTADOS OBTIDOS
PELAS TÉCNICAS COLILERT E ENTEROLERT3
GRÁFICO 3 – SOBREPOSIÇÃO DE CLASSIFICAÇÃO3

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1 – ADAPTAÇÃO DOS BOLETINS DE BALNEABILIDADE EMITIDOS	
PELO IAT NA CAMPANHA BALNEABILIDADE DE 2021/2022	35

LISTA DE SIGLAS

ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas

APHA - American Public Health Association

CETESB - Companhia Ambiental do Estado de São Paulo

CGCRE - Coordenação Geral de Acreditação Do Inmetro

CONAMA - Conselho Nacional do Meio Ambiente

IAT - Instituto Água e Terra

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

INMETRO - Instituto Nacional de Metrologia Normalização e Qualidade Industrial

ISO - International Organization for Standardization

NBR - Norma Brasileira

NMP - Número Mais Provável

SANEPAR - Companhia de Saneamento do Paraná

UV - Ultravioleta

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	
	13 3
1.1 JUSTIFICATIVA	
	144
1.2 OBJETIVOS.	
	155
1.2.1 Objetivo geral	
	155
1.2.2 Objetivos específicos	
	155
2 REVISÃO DE LITERATURA	
	16 6
2.1 SANEAMENTO E QUALIDADE DA ÁGUA	
	166
2.2 INDICADORES MICROBIOLÓGICOS DE CONTAMINAÇÃO DA ÁGUA	. 17
2.3 PROGRAMA DE BALNEABILIDADE DAS PRAIAS DO PARANÁ	19
2.4 TÉCNICAS PARA QUANTIFICAÇÃO DE MICRORGANISMOS	
	233
B MATERIAL E MÉTODOS	27
3.1 ÁREA DE ESTUDO	
3.2 PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS	
3.3 ANÁLISES	0
ESTATÍSTICAS291	
· · · · - · · · · · · · · · · · ·	
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	
	.30 0
4.1 AVALIAÇÃO DE DESEMPENHO E CORRELAÇÃO ENTRE AS TÉCNICAS	
	300

REFERENCIAS	40
5 CONCLUSÃO	38
	344
4.3 COMPARAÇÃO DE BOLETINS DE BALNEABILIDADE	
	.333
4.2 SOBREPOSIÇÃO DE CLASSIFICAÇÃO	

1 INTRODUÇÃO

O uso recreacional da água pode ser dividido em duas categorias, de acordo com a Agência Nacional de Águas (2023): recreação de contato primário, quando existe o contato direto e prolongado como em banhos, mergulhos e esportes aquáticos e recreação de contato secundário, onde o contato é menor, como em passeios de barco.

O contato primário expõe banhistas a efluentes carregados de organismos potencialmente patogênicos lançados indevidamente no litoral e, com a chegada do verão somado ao maior volume de pessoas migrando para as praias, o número de casos de doenças gastrointestinais, erupções cutâneas e infecções nos olhos, garganta e ouvidos também se elevam (BEM PARANÁ, 2013; CETESB, 2005; TAVARES, 2005). Essas doenças podem ser causadas por diversos microrganismos, como rotavírus e outros vírus entéricos, *Salmonella*, parasitas como *Giardia duodenalis* e bactérias provenientes de redes de esgoto (BARÇANTE, 2014; SAVIOLI et. al. 2006).

A necessidade de monitoramento dos microrganismos patogênicos presentes na água é fundamental para embasar medidas de controle e prevenção de doenças pelos órgãos competentes (CETESB, 2005; BRASIL, 2000).

O Conselho Nacional de Meio Ambiente (CONAMA), preconiza normas para a determinação da qualidade da água de uso recreativo, através da resolução nº 274 de 2000, definindo as categorias e critérios de avaliação para classificação dos resultados dos estudos de balneabilidade.

No Paraná, o órgão responsável pela avaliação da qualidade das águas do litoral é o Instituto Água e Terra (IAT), sendo a técnica utilizada para água salina a de quantificação de *Escherichia coli* pelo método Colilert-18 (IAT, 2022). Esta bactéria pertence ao grupo coliformes, é potencialmente patogênica, está presente no trato digestório de animais de sangue quente e, quando detectada na água das praias, significa que houve contaminação recente no local por material fecal, uma vez que o meio salino não é o ambiente propício para o crescimento destes organismos (CASTRO, 2003).

Apesar da quantificação de *E. coli* ser amplamente utilizada, sua sensibilidade às condições ambientais pode resultar em uma quantidade menor de bactérias na

análise e a possível liberação para uso de um ponto que está contaminado por efluentes, colocando em risco a saúde humana (CASTRO, 2003; DAVIES, 1991).

Uma alternativa para diminuir a possibilidade de subnotificação dos dados de monitoramento é utilizar outro organismo que também está presente em material fecal de humanos e animais, porém que possua maior resistência às variações dos fatores abióticos (BRASIL, 2000; CETESB, 2005).

As bactérias do grupo enterococos têm sido apontadas em estudos recentes como uma excelente alternativa ao uso da *E. coli* como indicadora de contaminação ambiental, por também se tratar de uma bactéria encontrada em fezes de humanos e animais, e apresentar maior resistência à exposição a luz UV e à variação de salinidade, temperatura, pH e antibióticos (CETESB, 2005; RODRIGUEZ, 2015; PARADELLA, 2017)

O presente projeto busca testar uma alternativa para as análises de balneabilidade, para que o trabalho realizado pelo órgão governamental possa, seguindo a resolução nº 274/2000 do CONAMA, escolher a técnica mais restritiva, apresentando assim resultados mais seguros para os banhistas.

1.1 JUSTIFICATIVA

A subnotificação é um fator que deve ser considerado durante a escolha de um método seguro para análises microbiológicas de água, já que esses dados são utilizados muitas vezes como diretrizes para tomadas de decisões pelos órgãos competentes, sendo, no estado do Paraná, o Instituto Água e Terra (IAT, 2022; ABNT, 2017).

De acordo com as diretrizes da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) apresentadas no documento NBR ISO 17025 de 2017, que regulamenta a competência de laboratórios de ensaios, em conjunto com as instruções da Associação de saúde Pública Americana (APHA), por meio do documento *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, a escolha de um método eficaz e seguro, que se adeque as particularidades dos pontos amostrados e também às normas determinadas por órgãos regulamentadores locais e mundiais, são imprescindíveis e de alto impacto nos resultados obtidos, levando à medidas de intervenção mais precisas e eficazes quando pautadas em resultados com maior nível

de confiabilidade, aumentando a qualidade do trabalho e, consecutivamente, garantindo a saúde dos banhistas.

Atualmente o Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA), através da resolução nº 274/2000, permite e valida de forma segura e confiável o uso das bactérias *Escherichia coli* e do grupo enterococos como indicadores de contaminação fecal, permitindo aos laboratórios determinarem o organismo de escolha. Entretanto, ainda em concordância com a resolução e órgão supracitados, quando houver uso de duas técnicas a qualidade da água deve ser avaliada utilizando o critério mais restritivo.

Diante disso, considerando a existência de diversas metodologias de quantificação de indicadores de contaminação fecal, a avaliação de dois organismos distintos (*Escherichia coli e* enterococos) mostra-se relevante para observação de dados e possíveis sugestões de melhoria para os indicadores atualmente utilizados pelos órgãos competentes.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo geral

Avaliar o desempenho de dois organismos (*Escherichia coli e* enterococos) como indicadores de contaminação fecal e classificação de balneabilidade, buscando indicar o organismo com melhor resposta para estudos futuros dos órgãos competentes quanto à alteração de metodologia, apresentando assim resultados mais seguros para os banhistas.

1.2.2 Objetivos específicos

- Identificar e quantificar por meio do método de substrato enzimático a presença de E. coli e enterococos;
- Comparar por meio de testes estatísticos os resultados obtidos nas análises;
- Observar eventuais discrepâncias entre as duas técnicas e sugerir, para posterior avaliação do órgão competente, a metodologia para análise de

balneabilidade das praias do Paraná que, pelo evidenciado nos dados avaliados neste trabalho, ofereça maior segurança nos resultados.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 SANEAMENTO E QUALIDADE DA ÁGUA NO PARANÁ

O uso indiscriminado da água em conjunto com a falta de educação sanitária e saneamento básico, ainda muito presentes no Brasil, formam um cenário propício para o aumento de contaminação de fontes hídricas e de doenças veiculadas pela água, se tornando um dos principais problemas de Saúde Pública nos últimos 25 anos e sendo incluídas no Programa de Iniciativa às Doenças Negligenciadas da Organização Mundial de Saúde (SAVIOLI et. al., 2006;).

Segundo a Companhia de Saneamento do Paraná (2022), toda a população do estado possui rede de água tratada, com mais de 3,3 milhões de ligações e conta com rede de abastecimento com 59.070 km de extensão, porém, apenas 77,31% dos paranaenses possuem rede de esgoto em suas residências, apresentando 39.660 km de rede coletora, 32,86% a menos de locais atendidos pela coleta de esgoto.

Nas cidades que compõem o litoral do estado o cenário é ainda mais alarmante. De acordo com o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatísticas (IBGE), o município de Pontal do Paraná possui um território de 200 mil km², porém, os pouco mais de 28 mil habitantes, contam com apenas 69,7% da cidade com esgotamento sanitário adequado (IBGE, 2023).

Na alta temporada de verão, que compreende o período entre o Natal e o carnaval, o fluxo de pessoas em direção às praias se intensifica, alcançando quatro vezes o número de habitantes fixos das sete cidades que compõem o litoral, passando de 300 mil para mais de um milhão de pessoas ocupando as praias paranaenses (BEM PARANÁ, 2017).

Esse aumento significativo da concentração de pessoas somado às ligações clandestinas de esgoto nas galerias de águas pluviais e córregos, à baixa cobertura e saturação do sistema de captação e tratamento de esgoto e à falta de educação sanitária, se toram os principais fatores que resultam na diminuição da qualidade das águas do litoral (AURELIANO, 2000)

A estreita relação entre saneamento básico e a qualidade da água se torna evidente a partir de estudos de contaminação, como a balneabilidade realizada pelo IAT, e o aumento do registro e do número de pessoas infectadas, evidenciada pelo crescente na procura da população por atendimento médico no período da alta temporada, que apresenta, em sua maioria, sintomas de gastroenterites, conhecidas popularmente como viroses de verão (BEM PARANÁ, 2013; HAGLER; HAGLER, 1998).

2.2 INDICADORES MICROBIOLÓGICOS DE CONTAMINAÇÃO DA ÁGUA

Ao utilizar a água para recreação em atividades como banho de mar, mergulho e esportes aquáticos, a população está em contato direto com a água, chamado contato primário. Este tipo de uso da água pode acarretar riscos de contaminação quando em ambiente alvo de despejo incorreto de esgoto (IAT, 2022).

As contaminações podem ser provenientes de diversos microrganismos patogênicos, tendo como principais representantes as enterobactérias, protozoários e os vírus entéricos, presentes em material fecal de humanos (TAVARES *et. al.*, 2005; BARÇANTE *et. al.*, 2014). Como principais doenças causadas por estes microrganismos, provenientes da rede de esgoto, podemos citar: gastroenterite, apresentando sintomas como diarreia, vômitos, enjoos, dores de cabeça e estômago e febre; infecções urinárias; dermatoses, alergias cutâneas e infecções no nariz, ouvido, olhos e garganta (TAVARES *et. al.* 2005).

Apesar das enfermidades relacionadas ao banho de mar serem de tratamento relativamente simples e de resposta rápida, em locais muito contaminados os banhistas ficam expostos a doenças mais graves, como cólera, hepatite A e febre tifoide levando, em casos mais severos, à morte (SILVA FILHO et. al., 2013; CETESB, 2005).

Neste sentido, a necessidade de um monitoramento destes recursos e correta identificação dos organismos se faz presente e de forma imprescindível, visando servir como embasamento para políticas de ações preventivas e educacionais destinada à população que faz uso desses recursos (BRASIL, 2000; HAGLER; HAGLER, 1998).

Como a identificação de todos os microrganismos presentes é inviável, uma alternativa frequentemente utilizada é o uso de uma bactéria, presente em abundância em material fecal, que apresente características específicas para servir como

indicador de patógenos (CABELLI, 1983). Não existe um modelo perfeito de organismo que apresente todas as características, mas quanto mais propriedades possuir, maior é a evidência de que é um melhor indicador (BARÇANTE, 2014; CETESB, 2005).

De acordo com CETESB (2005) e Cabelli (1993), algumas das propriedades dos melhores indicadores de contaminação são:

- a) presença detectável em águas contaminadas em maior concentração que os organismos patogênicos;
- b) tempo de sobrevivência em ambientes aquáticos maior que os patógenos, mas sem capacidade de proliferar neste ambiente;
- c) resistência à desinfecção maior ou igual aos organismos capazes de transmitir doenças;
- d) quantificação de maneira fácil e precisa;
- e) ausência em águas não poluídas e associados exclusivamente a despejo de material fecal de animais e humanos;
- f) apresentar densidade diretamente correlacionada com o grau de contaminação por despejo de fezes e quantitativamente relacionada às doenças.

Segundo a Associação de Saúde Pública Americana (2017) e a Companhia Ambiental do Estado de São Paulo (2005), no Brasil e no mundo os grupos de bactérias mais utilizados e indicados para monitoramento e quantificação de contaminação fecal em ambientes de água doce, salobra e salina, são os coliformes, e os estreptococos fecais.

De acordo com o Instituto Água e Terra (2022), no Paraná, atualmente utilizase a *Escherichia coli* como indicador de contaminação em águas continentais e salinas em estudos de potabilidade, monitoramento de condição de corpos hídricos e balneabilidade de praias.

Pertencente ao grupo coliformes, essa bactéria apresenta grande parte das características necessárias para um bom indicador microbiológico de contaminantes e é amplamente estudada e utilizada em laboratórios desde seu descobrimento em 1940, se tornando um organismo de primeira escolha para diversos estudos (SOUZA, 2016).

O grupo dos estreptococos fecais abrange as bactérias dos gêneros Streptococcus e Enterococcus, que possuem diferentes características sanitárias e de sobrevivência e, de maneira emergente e significativa, em estudos recentes, os enterococos se apresentam como um melhor indicador de contaminação em relação aos demais grupos utilizados (CETESB, 2005; RODRIGUES, 2015).

No Brasil, o Conselho Nacional de Meio Ambiente (CONAMA), através da Resolução nº 274 do ano de 2000, regulamenta e valida, de forma segura e confiável, tanto o uso de *E. coli* quanto de enterococos para monitoramento de qualidade de água salina, e prevê que, quando mais de um organismo for utilizado como indicador biológico, seja considerado o critério mais restritivo.

Diversos fatores influenciam a sobrevivência dos microrganismos no ambiente aquático, principalmente em águas salgadas, como salinidade, pH, disponibilidade de nutrientes e temperatura (DAVIES, 1991). Conhecer os fatores limitantes para sobrevivência de organismos indicadores é de extrema importância e resulta diretamente na confiabilidade dos resultados. Uma baixa taxa de sobrevivência desses organismos pode levar a erro nos resultados e a subnotificação de casos de contaminação, colocando a saúde da população em risco (APHA, 2007; BRASIL, 2000; DAVIES, 1991).

De acordo com Hagler e Hagler (1998), *E. coli* apresenta baixa tolerância a alterações do meio salino, que agem direta ou indiretamente no organismo, levando à diminuição da concentração de bactérias. Estudos acerca da influência de raios solares indicam que a presença de *E. coli* aumenta em dias nublados ou chuvosos e pode decair em dias de sol intenso (CASTRO, 2003).

Um conjunto específico de proteínas e características do seu metabolismo, tornam as bactérias do grupo enterococos resistentes às variações ambientais, tornando-se os organismos de escolha para órgãos ambientais de referência como a CETESB em São Paulo, órgão que também aponta uma melhor correlação entre a densidade de bactérias do gênero *Enterococcus* e as gastroenterites (CETESB, 2005; PARADELLA *et. al.* 2017).

2.3 PROGRAMA DE BALNEABILIDADE DAS PRAIAS DO PARANÁ

Segundo informações do Governo do Estado do Paraná (2009) e do Instituto Água e Terra (2022), o programa de monitoramento de qualidade da água de uso recreativo acontece desde 1989, utilizando a quantificação da bactéria *Escherichia coli* presente na água salina como indicador de contaminação fecal no ambiente.

De acordo com as orientações da resolução nº 274/2000 do CONAMA e informações do IAT (2022), as coletas acontecem semanalmente, tendo início nas 5 semanas que antecedem a semana do Natal, e encerrando na semana do carnaval, abrangendo todo o período de alta temporada e com duração variável em cada campanha anual.

Ainda em concordância com o documento do CONAMA supracitado, os resultados devem levar em consideração as 5 semanas anteriores à vigente, para se enquadrar nas classificações de balneabilidade, sendo próprias ou impróprias. Após a determinação da classificação, os pontos são sinalizados com bandeiras oficiais (Figura 1). Quando o ponto for avaliado como próprio, a qualidade deste pode ainda ser classificada como Excelente, Muito boa ou Satisfatória, porém o órgão estadual não adere a essa modalidade de classificação, mantendo a indicação apenas como própria (IAT, 2022; BRASIL, 2000).

CONDIÇÃO DA ÁGUA

ÁGUA PRÓPRIA PARA BANHO

SAÚDE | PRAIA LIMPA | SEGURANÇA

SAÚDE | PRAIA LIMPA | SEGURANÇA

SAÚDE | PRAIA LIMPA | SEGURANÇA

PARA BANHO

SAÚDE | PRAIA LIMPA | SEGURANÇA

FIGURA 1 – CLASSIFICAÇÃO DOS PRAIAS

FONTE: IAT (2022).

LEGENDA: Os pontos são indicados como próprios ou impróprios para banho com bandeiras de sinalização oficiais.

Para um ponto ser identificado como próprio, o CONAMA, em sua resolução de 2000, nº 274, estabelece que este deve apresentar:

[...] quando em 80% ou mais de um conjunto de amostras obtidas em cada uma das cinco semanas anteriores, colhidas no mesmo local, houver, no máximo 1.000 coliformes fecais (termotolerantes) ou 800 *Escherichia coli* ou 100 enterococos por 100 mililitros [...] (BRASIL, 2000 p.1).

Os pontos são considerados impróprios quando não atenderem aos critérios que os tornam próprios ou, apresentarem na amostragem mais recente valor superior a 2500 coliformes termotolerantes, 2000 *Escherichia coli* ou 400 enterococos a cada 100mL de amostra (BRASIL, 2000).

A resolução CONAMA nº 274/2000 define também que os métodos de amostragem e análises devem ser os especificados por normativa publicada pelo INMETRO ou, quando não houver documento nacional, pelo *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, em sua edição mais recente, publicado pela APHA.

2.3.1 Pontos monitorados

Ao todo seis municípios litorâneos são monitorados no paraná pelo programa de balneabilidade do IAT (Figura 2), sendo em Antonina e Morretes analisados cinco pontos, quatro deles de água doce: no Rio Nhundiaquara (2), Rio do Nunes (1) e Rio Marumbi (1), e um ponto na Ponta da Pita, que apresenta água salobra (IAT, 2022).

FIGURA 2 – PRAIAS E RIOS DO LITORAL PARANAENSE



FONTE: INSTITUTO ÁGUA E TERRA (2022).

LEGENDA: Os pontos monitorados pelo Instituto Água e Terra se distribuem pelos municípios, ao longo das praias e rios da região, abrangendo os 100km de extensão do litoral paranaense.

De acordo com as informações do Instituto Água e Terra (2022), os pontos amostrais de água salgada são distribuídos da seguinte forma:

- a) No município de Pontal do Paraná, sete balneários são monitorados, somando 12 pontos amostrais;
- b) Em Paranaguá, cidade caracterizada por atividade portuária, os seus 6 pontos amostrais estão localizados na Ilha do Mel.
- c) Matinhos apresenta 11 praias monitoradas, somando 16 pontos amostrais.
- d) O município de Guaratuba conta com 20 pontos amostrais distribuídos ao longo de seis balneários.

Dos 59 pontos totais amostrados, 10 são considerados permanentemente impróprios por estarem localizados em saídas de galerias pluviais e canais, apresentando ao longo da história das campanhas de balneabilidade do estado, resultados acima do limite estabelecido (IAT, 2023).

2.4 TÉCNICAS PARA QUANTIFICAÇÃO DE MICRORGANISMOS

Para quantificar os microrganismos em análises de água, o *Standard Methods* for the *Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2017), apresenta três métodos para análises em matrizes de água doce, salobra e salina: tubos múltiplos (padrão e cromogênico), membrana filtrante e substrato enzimático, este último abordado com maior ênfase neste trabalho.

O método de substrato enzimático é caracterizado pela facilidade de execução e identificação facilitada de resultados positivos ou negativos pela mudança de cor do meio e/ou fluorescência, geradas a partir de produtos do metabolismo dos organismos (COELHO et. al. 1998; APHA, 2017).

De acordo com informações do fabricante dos meios de cultura utilizados neste estudo (IDEXX, 2023a), as bactérias do grupo coliformes utilizam a enzima β -galactosidase para metabolizar o meio enzimático (Colilert-18), mudando a cor da amostra de transparente para amarelo após incubação por 18 horas em incubadora com temperatura controlada 35 ± 0.5 °C, caracterizando assim resultado positivo para coliformes totais (Figura 3).



FIGURA 3 - RESULTADO POSITIVO PARA COLIFORMES TOTAIS.

FONTE: O autor (2022).

LEGENDA: Cartela Quanti-Tray, apresentando cavidades positivas e negativas. A amostra passa de transparente para amarela quando há presença de bactérias do grupo coliformes.

A bactéria *Escherichia coli*, também pertencente ao grupo dos coliformes, pode ser evidenciada na mesma amostra em uma segunda leitura. Para um resultado positivo deste indicador, como observado na Figura 4, além de apresentar cor amarela, a amostra deve apresentar fluorescência sob luz ultravioleta de comprimento de onda longo (365 a 366 nm) após o período de incubação, reação esta possibilitada

através da enzima β-glucuronidase que metaboliza o meio enzimático e está ausente na maioria dos não coliformes (IDEXX, 2023a; COELHO *et. al.* 1998).



FIGURA 4 – RESULTADO POSITIVO PARA E. COLI.

FONTE: O autor (2022).

LEGENDA: A leitura caracteriza resultado positivo para *E. coli* quando a amostra, além de apresentar cor amarela, se submetida a luz UV, apresenta fluorescência. Na cartela acima, duas das cavidades maiores estão positivas.

O meio de cultura Enterolert identifica várias espécies do gênero *Enterococcus*, como exemplo as espécies *faecalis*, *faecium*, *avium*, *gallinarum*, *casseliflavus* e *durans* (IDEXX, 2023b). Estas bactérias indicadoras de contaminação fecal, metabolizam o substrato através da glucosidase, que passa a apresentar fluorescência sob luz ultravioleta após incubação por 24 horas em incubadora com temperatura controlada a 41 ± 0,5°C, caracterizando resultado positivo para o grupo enterococos, podendo ser quantificado em apenas uma leitura (Figura 5) (IDEXX, 2023b).



FIGURA 5 – AMOSTRA PROCESSADA COM A TÉCNICA ENTEROLERT

FONTE: O autor (2022).

LEGENDA: À esquerda, cartela Quanti-Tray 2000 contendo amostra em luz branca após incubação. A cor amarelada é característica do meio de cultura, não caracterizando nenhum resultado. À direita, a mesma amostra submetida a incidência de luz UV, apresentando poços negativos (não fluorescentes) e positivos (fluorescentes).

Para a quantificação de organismos, em ambas as técnicas, é utilizada a Cartela Quanti-tray 2000, também da marca IDEXX, que possui 97 cavidades, 49 grandes e 48 pequenas. A correlação entre a quantidade de cavidades pequenas e

grandes positivas determina, através de tabela própria ou software disponibilizados pela marca, o número mais provável (NMP) de organismos em 100ml (IDEXX, 2023a). Segundo o fabricante, sem diluições, o limite inferior de detecção para ambas as técnicas é de 1 organismo/100 ml, e o superior de 2419,6/100ml.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 ÁREA DE ESTUDO

Os dados foram coletados semanalmente, no período entre novembro de 2021 e fevereiro de 2022, durante 14 semanas, compreendidas na alta temporada de verão, em 44 pontos pré-determinados e distribuídos pelos 100 km de extensão do litoral paranaense. Todos os pontos amostrais podem ser visualizados acessando a página da Balneabilidade no site no IAT, pelo endereço https://www.iat.pr.gov.br/Pagina/Balneabilidade.

Os pontos foram determinados pelo Instituto Água e Terra no programa de balneabilidade, levando em consideração os locais com maior incidência de banhistas e próximos a locais sabidamente alvos de despejo de efluentes conforme preconiza a resolução nº 274/2000 do CONAMA (Figura 6).

Foram excluídos os pontos de água doce e os indicados como permanentemente impróprios que fazem parte do programa de balneabilidade o IAT, por não se enquadrarem nos critérios do estudo.



FIGURA 6 - PRAIA CENTRAL DE GUARATUBA

FONTE: O autor (2022).

LEGENDA: O município de Guaratuba apresenta o maior número de pontos monitorados, e atrai grande número de turistas para seus balneários durante a alta temporada.

3.2 PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS

Em concordância com o preconizado no Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 23ªed, as amostras foram coletadas em frascos de poliestireno estéreis com capacidade para 100mL contendo reagente tiossulfato de sódio, transportadas em caixas refrigeradas (<10°C) até o laboratório de microbiologia do IAT em Curitiba e processadas imediatamente.

Para a presente pesquisa, foram utilizados os meios enzimáticos Colilert-18, que quantificam simultaneamente coliformes totais e *Escherichia coli*, e Enterolert, para identificação de enterococos, ambos da marca IDEXX (Figura 7). Os meios se apresentam de forma liofilizada em flaconetes, com quantidade suficiente para reagir com 100mL de amostra.



FIGURA 7 – MEIOS DE CULTURA ENZIMÁTICOS.

FONTE: IDEXX (2023).

Para o processamento de amostras provenientes de matrizes de água salina, conforme indicado pelo fabricante dos substratos, deve-se realizar diluições 1:10. Para tanto, adicionou-se 10 mL de amostra homogeneizada em um recipiente contendo 90 mL de água deionizada estéril (Figura 8).

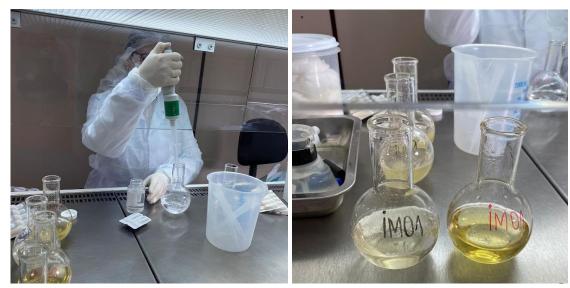


FIGURA 8 - PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS

FONTE: O autor (2022).

LEGENDA: A esquerda, passagem da alíquota da amostra do frasco plástico para o balão contendo água deionizada estéril. A direita, balões contendo a amostra diluída e o meio de cultura homogeneizado.

Em seguida, foi adicionado um flaconete contendo o substrato para cada recipiente. Após a completa dissolução do substrato, o conteúdo foi vertido para o interior de cartelas contendo poços múltiplos, e incubadas sob temperatura controlada 35 ± 0,5°C para *Escherichia coli* e 41 ± 0,5°C para enterococos) seguindo as instruções de incubação do fabricante.

A leitura ocorreu após 18 horas de incubação para as amostras com meio de cultura Colilert-18, primeiramente à luz branca para determinação de coliformes totais e em seguida sob luz UV para contagem das cavidades fluorescentes e determinação de *E. coli*. Para determinação de enterococos, as amostras com meio de cultura Enterolert foram lidas após 24 horas de incubação e a contagem dos poços positivos foi realizada diretamente sob luz UV. Foram indicados nas cartelas todos os poços que apresentaram resultados positivos.

Para a realização do cálculo de NMP, foram utilizadas as tabelas fornecidas pelo fabricante e o resultado foi corrigido de acordo com o fator de diluição utilizado.

3.3 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Foram analisados os resultados de NMP/100mL coletados entre 23/11/2021 e 21/02/2022 para ambos os métodos utilizados, totalizando 616 dados cada.

Estes foram analisados com base nas técnicas estatísticas sugeridas na ISO 13843 (2017): Sobreposição de resultados, Reprodutibilidade, Variância e Variância Relativa.

Para tanto, foram consideradas as correlações entre os resultados pontuais encontrados para cada organismo indicador e, eventualmente, os intervalos de confiança de cada técnica, sendo estes informados pelo fabricante dos meios de cultura.

Para os testes de reprodutibilidade, variância e variância relativa foi utilizado a análise em In (logaritmo Neperiano) dos valores deste estudo, conforme indicado na ISO 13843 (2017) para uma melhor uniformização dos dados.

As análises estatísticas foram realizadas através de planilhas de cálculo, utilizando o software Microsoft Excel, com as componentes de avaliação extraídas da ISO 13843 de 2017 (Requisitos para estabelecer características de desempenho de métodos microbiológicos quantitativos) e no documento do INMETRO de 2017, DOQ-CGCRE 089 (Orientação sobre Avaliação de Desempenho de Métodos Analíticos - Microbiologia). Tais documentos foram utilizados de forma adaptada por se tratarem de orientações para análises de mesmo organismo alvo por diferentes técnicas e, neste trabalho, foram utilizadas técnicas similares (NMP/Substrato Enzimático) para organismos alvo distintos.

Também foram realizadas análises a partir das condições preconizadas na resolução nº 274 de 2000 do CONAMA, para critério de classificação em próprio e impróprio.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 AVALIAÇÃO DE DESEMPENHO E CORRELAÇÃO ENTRE AS TÉCNICAS

A avaliação da reprodutibilidade é indicada no documento ISO 13843 de 2017 para avaliar a variabilidade de resultados em ensaios de comparação interlaboratorial (ensaios de proficiência exigidos pelo INMETRO para avaliar desempenho de métodos a partir da comparação de resultados entre laboratórios credenciados e garantir a confiabilidade e consistência de resultados) e, no presente trabalho, foi

utilizada de forma adaptada para avaliar a correlação e variabilidade entre os dados obtidos de cada técnica entre si.

Para realização do cálculo de reprodutibilidade foram necessárias exclusões estatísticas de dados após avaliação da variância. Todos os resultados com variância acima de 1,0 foram excluídos conforme sugerido na norma ISO 13843 (2017), com isto, o conjunto inicial de 616 dados foi reduzido, nesta segunda etapa, a 465 dados avaliados (75% do valor total). Realizadas as análises, observou-se desempenhos similares no decorrer das semanas, indicando a existência de correlação entre os métodos. A média dos resultados de reprodutibilidade foi de 77%, sendo o menor valor encontrado na semana 8 com desempenho de 57% e a maior durante a semana 5, com 94% (Gráfico 1).



GRÁFICO 1 – CORRELAÇÃO ENTRE OS RESULTADOS DE ENTEROLERT X COLILERT PARA ANÁLISE DE EQUIVALÊNCIA DAS TÉCNICAS

FONTE: O autor (2023).

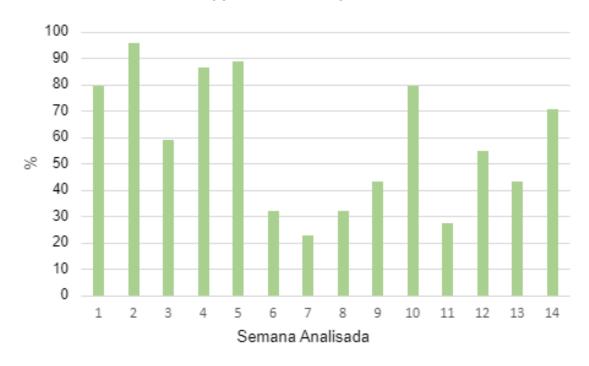
LEGENDA: Utilizando os resultados brutos e os intervalos de confiança de resultados das técnicas Enterolert e Colilert, através de avaliação de variância, foi analisado se os dados apresentaram correlação, ou seja, qual a porcentagem de equivalência de desempenho estatístico entre as técnicas.

Em avaliação numérica estatística, 75% dos dados puderam ser comparados e avaliados e, apesar de se tratar de analitos distintos, apresentam boa correlação e equiparação nos dados obtidos.

Na avaliação de sobreposição de resultados das técnicas avaliadas (Gráfico 2) observa-se um decréscimo de similaridade na época de maior contaminação das águas sendo que, os valores de *Escherichia coli* e enterococos apresentam-se bem distintos principalmente na semana 7, com sobreposição de apenas 23% dos dados, embora possam ser encontrados resultados de até 95% (semana 2). A sobreposição média de resultados foi de 58,11%.

GRÁFICO 2 – AVALIAÇÃO DA SOBREPOSIÇÃO DOS RESULTADOS OBTIDOS PELAS TÉCNICAS

COLILERT E ENTEROLERT



FONTE: O autor (2023).

LEGENDA: A partir do NMP/100mL encontrado para cada ponto analisado, levando em consideração os limites de confiança das técnicas Enterolert e Colilert, foi analisado se os mesmos se sobrepunham, indicando se houve equivalência dos organismos quanto ao seu aumento ou diminuição encontrado nas amostras durante cada semana da campanha de balneabilidade.

As semanas de maior divergência entre os resultados brutos sobrepuseram as semanas de maior fluxo de turistas no litoral, período entre o Natal e ano novo, aumentando a quantidade de material contaminante nos pontos amostrados e, consecutivamente, de organismos presentes. Entretanto, o aumento entre os organismos alvos do estudo não foi equivalente, gerando a menor taxa de sobreposição. Contudo, quando observado o gráfico de sobreposição de classificação (Gráfico 3) paras as mesmas semanas (6, 7 e 8), os valores se sobrepõem em, no

mínimo, 81%, indicando que, mesmo que os organismos entre si não apresentem equivalência quantitativa neste cenário, por se tratar de analitos diferentes, ainda assim, qualitativamente, os dados são correspondentes.

4.2 SOBREPOSIÇÃO DE CLASSIFICAÇÃO

Para analisar a correlação nas classificações de qualidade da água, foram observados, ponto a ponto, as semelhanças ou divergências em relação à indicação de próprio ou impróprio. Para critério de classificação, foram utilizados os valores e orientações contidos na Resolução N º 274 do CONAMA (2017)

Os resultados desta avaliação (Gráfico 3) mostram uma correlação bastante elevada durante toda a campanha, com valores superiores a 70%. Este resultado indica que, em uma média de 92% dos pontos analisados, independente da técnica utilizada para detecção de contaminação fecal, a classificação para uso seria a mesma.

R Semana Analisada

GRÁFICO 3 –ANÁLISE DE SOBREPOSIÇÃO DE CLASSIFICAÇÃO (PRÓPRIO E IMPRÓPRIO) ENTRE AS TÉCNICAS COLILERT E ENTEROLERT

FONTE: O autor (2023).

LEGENDA: Utilizando os valores mínimos para classificar um ponto como próprio (presença de até 100 NMP/100mL para Enterolert e 800 NMP/100mL para Colilert), foi analisado ponto a ponto a existência de sobreposição no resultados das classificações, gerando a porcentagem por semana a partir dos pontos que, independente da técnica, apresentaram a mesma classificação.

Entretanto, dos 616 pontos avaliados, 48 (7,8%) deles mostraram-se discrepantes quando analisados apenas os valores brutos de resultado. Dos 48 pontos divergentes, 38 foram classificados como impróprios quando utilizado o método Enterolert e próprios com o método Colilert, somente 10 apresentando situação contrária.

Ao incluir os limites de tolerância das técnicas, valores mínimos e máximos em que se incluem o resultado bruto, apenas 26 pontos apresentaram discrepância, sendo que destes, 18 apresentaram classificação imprópria quando analisados pelo método de detecção de enterococos e estariam próprios quando analisados pela detecção de *E. coli*.

Estes resultados indicam uma boa correlação das técnicas estudadas e sinalizam para uma possível situação de subnotificação ao utilizar *E. coli* como organismo de escolha, uma vez que nos pontos em que foram identificadas divergências de classificação, houve maior número de resultados impróprios quando utilizados enterococos como indicadores de contaminação ambiental.

4.3 COMPARAÇÃO DE BOLETINS DE BALNEABILIDADE

Os dados também foram avaliados segundo o que preconiza a resolução nº 274 de 2017 do CONAMA considerando, além dos valores pontuais obtidos em cada amostragem, os resultados de cinco semanas em sequência. Para ser classificado como local próprio para banho, os resultados de quatro das cinco semanas analisadas precisam apresentar valor abaixo de 800 NMP/100mL para *E. coli* e 100 NMP/100mL para enterococos. A exceção pode ocorrer quando a semana em análise apresenta valor igual ou superior a 2000 NMP/100mL e 400 NMP/100mL para *E. coli* e enterococos respectivamente, tornando o ponto impróprio independente do histórico.

As 14 semanas de campanha resultaram em dez boletins de balneabilidade emitidos pelo IAT utilizando o indicador *E. coli* e, para fim de comparação, foi gerado um boletim hipotético, respeitando os mesmos critérios da norma supracitada, a partir dos resultados obtidos com a técnica de detecção de enterococos. Os boletins foram apresentados de forma adaptada para melhor visualização (Quadro 1).

QUADRO 1 – ADAPTAÇÃO DOS BOLETINS DE BALNEABILIDADE EMITIDOS PELO IAT NA CAMPANHA BALNEABILIDADE DE 2021/2022

MONITORAMENTO DAS CONDIÇÕES DE BALNEABILIDADE DAS PRAIAS DO LITORAL PARANAENSE															٩L									
			Enterococos									Escherichia coli												
	BOLET	TIM .					Bol	etin	S				Boletins											
MUN	PRAIA / RIO	LOCAL	1º	2 º	30	4º	5º	6º	7º	80	90	10º	1º	20	30	40	5º	6º	7º	80	90	10º		
el)	Praia do Farol	Em Frente a Trilha do Trapiche	Р	Р	Р	P	Р	Р	Р	P	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	P	Р	Р	Р	P		
⊠ op	Farol (Praia de Fora)	Direita das Pedras (190m)	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р		
(Ilha	Farol (Praia Grande)	Direita do Morro (200m)	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р		
PARANAGUÁ (Ilha do Mel)	Encantadas (Baía)	Pontinha - Em Frente ao Mód. Policial	Р	Р	Р	ı	Р	Р	Р	ı	Р	Р	Ρ	Р	Р	ı	Ρ	Р	Р	ı	Р	P		
PARA	(Baia)	Dir. do Trapiche (250m)	Р	Р	Р	1	Р	I	1	1	1	1	1	Р	Р	1	1	Р	Р	I	Р	Р		
	Encantadas (Mar de Fora)	Praça de Alimentação	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	1	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	I	Р	Р		
	Balneário Atami Sul	Rua Venezuela	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р		
	Pontal do Sul	Rua Principal	Р	Р	Р	1	Р	Р	Р	Р	Р	Р	P	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р		
	Balneário Shangri-lá	Avenida Paranaguá	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	1	1	ı	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	ı	Р	Р		
		Rua Nepturnas	Р	Р	Р	Ρ	Ρ	Р	I	1	-	1	P	Р	Р	Р	Р	Ρ	Р	Р	P	Ρ		
DO PARANÁ	Shangh-ia	Entre as Ruas Campeche e João Caxias	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	ı	I	ı	P	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р		
DO PA	Balneário Olho D'água	Avenida Principal (ponte)	Р	Р	I	Р	1	ı	ı	Р	Р	Р	P	Р	ı	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р		
ONTAL	Balneário	Rua São Luiz	Р	Р	Р	Ρ	Ρ	Р	Р	Р	Р	Р	P	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	P	Р		
PON	Ipanema	Rua Pará	P	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	P	Р	Р	Р	Р	Р	1	Ρ	Р	Р		
	Baln. Sta. Terezinha	Rua Osvaldo Cruz	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р		
		Rua Baronesa do Cerro Azul	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р		
	Praia de Leste	Esquerda da Avenida Copacabana (150m)	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р		
	Balneário Gaivotas	Direita Rua Padre Osvaldo Gomes (120m)	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р		
MOS	Balneário Costa Azul	Rua Amisterdan	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р		
MATINHOS	Balneário Ipacaray	Rua Ponta Grossa	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р		
	Balneário Solymar	Direita do Camping Club (180m)	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	P	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	P	Р	Р	Р	Р		

	Balneário Flórida	Rua Orquídea	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	F	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р
	Balneário	Rua Tamboara (2.500m do Rio Matinhos)	Р	Р	Р	ı	P	P	Р	Р	Р	Р	F	Р	Р	Р	Р	Р	ı	ı	Р	Р
	Riviera	Rua Toledo (1.700m do Rio Matinhos)	P	P	Р	ı	P	P	-	_	Р	P	P	Р	Р	Р	Р	Р	-	ı	P	P
	Balneário Flamingo	Av Curitiba/Rotatória (300m do Rio Matinhos)	Р	Ρ	Р	1	Ρ	Ρ	1	1	ı	-	F	P	Р	ı	Ρ	Р	1	ı	-	-
	Matinhos Praia Central	Esquerda do Morro (130m)	Р	Р	Р	1	Р	Р	Р	1	Р	Ъ	F	Р	Р	1	ī	1	Р	1	Р	Р
	Matinhos (Direita do Morro)	SESC	Р	Р	Р	ı	Р	Р	Р	Р	Р	Р	F	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р
	Caiobá (Praia	Rua Londrina (Posto Policial/Salva Vidas)	P	Р	ı	ı	ı	ı	ı	Р	Р	P	F	Р	ı	ı	ı	1	ı	Р	Р	Р
	Brava)	Rua Jacarezinho	Р	Р	Р	ı	1	1	1	1	Р	Р	F	Р	Р	1	ī	ı	1	1	Р	Р
		Rua Alvorada	Р	Р	Р	ı	Р	Р	Р	Р	Р	Р	F	Р	Р	1	Р	Р	Р	Р	Р	Р
	Caiobá (Praia Mansa)	Rua Céu Azul	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	F	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р
	Prainha	Esquerda do Córrego (80m)	1	1	1	ı	1	1	1	Р	Р	Р	F	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р
	Caieiras	Rua Frederico Nascimento - 200m a Esquerda	1	1	ı	ı	1	1	1	1	1	1	F	1	1	ı	1	1	1	1	1	1
		500m à esquerda do Rio Matinhos	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	F	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р
		Rua Alois Cicatka	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	F	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р
		Rua Generoso Marques	Р	1	1	ı	1	1	Р	1	Р	Р	F	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р
GUARATUBA	Guaratuba	Rua Dilba Bevervanso (Colônia dos Magistrados)	P	Р	Р	Р	P	P	-	-	1	-	F	Р	Р	Р	Р	Р	_	ı	P	P
GUAR		Esquerda da Rua Ponta Grossa (10m)	1	1	ı	ı	1	1	1	1	ı	1	P	ı	ı	ı	ı	ı	1	ı	1	1
		Esquerda do Morro do Cristo (100m)	Р	P	Р	Р	P	P	-	P	P	P	P	P	Р	Р	Р	Р	P	P	P	Р
	Balneário	Rua Jacarezinho	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	F	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р
	Brejatuba	Rua Pedro Álvares Cabral	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	F	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р
	Balneário	Esquerda da Rua Reo Benet (50m)	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	F	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р
	Nereidas/Eliane	Rua Costa Rica	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	F	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р
	Barra do Saí	Rua Guairacá	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Ρ	Р	P	F	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Ρ

FONTE: O autor (2023).

LEGENDA: Representação adaptada dos 10 boletins emitidos semanalmente pelo IAT a partir da detecção de *E. coli* (direita) e boletins gerados a partir dos dados obtidos pela detecção de enterococos (esquerda), ambos utilizando os dados coletados entre 23/11/2021 e 21/02/2022. Em vermelho com a letra "I" estão representados os pontos impróprios e em azul com a letra "P" os próprios para banho.

As 10 semanas de boletins somaram 440 pontos de análise para ambos os organismos. As células com a letra "P" e coloração azul, indicam quando o local apresentou resultados dentro dos limites preconizados pelo CONAMA (2017), resultando em classificação própria para banho. As células vermelhas com a letra "I", indicam os pontos acima dos limites da estabelecidos, denominados impróprios.

O boletim oficial do IAT divulgou, durante a campanha de balneabilidade 2021/2022 a partir dos dados de NMP de *E. coli* contidos nesta pesquisa, 54 sinalizações impróprias (IAT, 2022), o que representa 12,7% do total dos pontos avaliados. Todavia, quando analisado o boletim gerado a partir da busca por enterococos, o número de sinalizações impróprias sobre para 85, indicando uma subnotificação de 7%, ou seja, por 31 vezes, pontos que apresentaram indicação de contaminação por material fecal, foram liberados para uso.

A presença de subnotificação, apesar de apresentar um valor baixo nas avaliações desta pesquisa, demonstra relevância por acarretar diretamente na exposição da população a um ambiente contaminado, sendo esta amplificada pelo aumento do fluxo de banhistas em direção ao litoral no verão, acarretando em riscos para a saúde à um maior número de pessoas.

Cabelli e colaboradores (1983), ao monitorar a relação entre indicadores de contaminação e doenças apresentadas por banhistas, em pesquisa nos Estados Unidos, observou melhor correlação entre a presença de enterococos na água salgada com as gastroenterites, apontando este como melhor indicador de qualidade das praias.

Os resultados observados nesta pesquisa corroboram também com o que foi observado por Lacava (2005), em estudo comparativo entre *E. coli* e enterococos, realizado em Itajaí - SC, que apontou este segundo como um melhor indicador de contaminação fecal em ambiente salino, se mostrando mais restritivo quanto às classificações balneabilidade do que a *Escherichia coli*.

Castro (2003) e Davies (1991) evidenciam em seus estudos o decréscimo na quantificação de bactérias entéricas quando expostas à radiação UV. Barcina (1990) observou ainda uma maior taxa de diminuição de *E. coli* quando comparada a

Enterococcus faecalis, em pesquisa acerca da influência da luz nestes organismos. Estes estudos podem sugerir uma resposta para a maior variação no número de *E. coli* encontrada no presente trabalho frente ao número de enterococos, por se tratar de uma região com intensa exposição aos raios UV.

Além das respostas estatísticas, durante a realização do processamento, foi observada maior facilidade de interpretação na leitura das amostras submetidas ao método Enterolert em comparação às realizadas com método Colilert. Por não apresentarem coloração amarela, as cavidades positivas para enterococos emitiram fluorescência de brilho visualmente mais forte e claro, além de apresentarem maior rapidez de leitura por não ser necessário leitura prévia em luz branca, aumentando a agilidade na obtenção dos resultados pela diminuição do tempo de bancada.

Desta forma, em função dos resultados obtidos e observações realizadas, este estudo traz à luz uma oportunidade de melhoria ao órgão responsável pela balneabilidade das praias do Paraná, sugerindo a alteração do organismo de escolha para o grupo enterococos para avaliação dos pontos de água salina do programa, ou ainda, o uso dos dois métodos, escolhendo o resultado mais restritivo para cada ponto, em função de garantir maior segurança dos banhistas.

5 CONCLUSÃO

- As técnicas utilizadas no presente estudo apresentaram desempenho satisfatório e as respostas para indicação de contaminação fecal foram, em sua maioria, equivalentes.
- 92% dos pontos analisados apresentaram a mesma classificação, independente da técnica utilizada.
- Nas discrepâncias encontradas em relação à classificação das técnicas, o grupo enterococos apresentou maior número de pontos impróprios, tanto para análises ponto a ponto, quanto para as classificações a partir da Resolução nº. 274 de 2000 do CONAMA.
- A utilização do grupo enterococos como indicador de qualidade de água salina se mostrou ligeiramente mais restritivo em relação a utilização da bactéria Escherichia coli.

 Foi evidenciado valor de subnotificação de 7% para as sinalizações emitidas em boletim oficial de balneabilidade realizadas pelo IAT na campanha 2021/2022.

REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUAS (ANA). **Enquadramento dos corpos d'água**. Brasil. Disponível em:

http://pnqa.ana.gov.br/Publicacao/CursoEnquadramentoPortal2010.pdf. Acesso em jan. 2023)

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA). **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 23^a ed. Washington, D.C.: , 2017.M 9223B; M 9230B

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT) **NBR ISO 17025**: **Requisitos gerais para competência de laboratórios de ensaio e calibração**. Rio de Janeiro, 2017.

AURELIANO, J. T. **Balneabilidade das praias de Pernambuco – 2000**. 5f., 10f. Dissertação (Mestrado em Ciências na Área de Gestão e Políticas Ambientais). Universidade Federal de Pernambuco – Recife, 2000.

BARÇANTE, J. M. de P. et al. **Ocorrência de doenças veiculadas por água contaminada: um problema sanitário e ambienta**l. Ambiente & Educação, v. 19, n. 2, p. 6-17, 2014.

BARCINA, I.; GONZÁLEZ, J. M.; IRIBERRI, J.; & EGEA, L. Survival strategy of *Escherichia coli* and *Enterococcus faecalis* in illuminated fresh and marine systems. The Journal of applied bacteriology, n.68(2), 189–198. Espanha, 1990

BEM PARANÁ. **Por que a virose acontece tanto na praia e durante o verão?**. 31/01/2013. Disponível em: https://www.bemparana.com.br/bem-estar/por-que-a-virose-acontece-tanto-na-praia-e-durante-o-verao-242904/. Acesso em: 03 jan. 2023.

BEM PARANÁ. **População do litoral do Paraná quadruplica na temporada de verão.** 03/12/2017. Disponível em:

https://www.bemparana.com.br/noticia/populacao-do-litoral-do-parana-quadruplica-na-temporada-de-verao. Acesso em: 03 jan. 2023.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente, Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA). **Resolução CONAMA nº 274, de 29 de novembro de 2000.** Classifica as águas doces, salobras e salinas e determina os limites e categorias de balneabilidade. Disponível em:

http://conama.mma.gov.br/?option=com_sisconama&task=arquivo.download&id=272 . Acesso em 29 ago. 2022.

CABELLI, V. J. et al. A marine recreational water quality criterion consistent with indicator concepts and risk analysis. Journal (Water Pollution Control Federation),1983. p. 1306-1314.

CASTRO, H. de; M. P. **Efeito da radiação solar e da salinidade sobre o crescimento de** *Escherichia coli.* 2003.51 f. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Ciências do Mar, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2003

COELHO, D. L.; PIMENTEL, I. D.; BEUX, M. R.. **Uso do método do substrato cromogênico para quantificação do número mais provável de bactérias do grupo coliforme em águas minerais envasadas**. Acervo digital UFPR, Curitiba, 1998. v. 16, n. 1, p. 45-54. Disponível em: https://acervodigital.ufpr.br/handle/1884/32659. Acesso em 04 jan. 2023.

COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO (CETESB). Relatório de qualidade das águas litorâneas do estado de São Paulo : balneabilidade das praias / São Paulo, (Série Relatórios / Secretaria de Estado do Meio Ambiente, ISSN 0103-4103), 2005. (183 p.)

COMPANHIA DE SANEAMENTO DO PARANÁ (SANEPAR), **Sanepar em números.** Curitiba, disponível em: https://site.sanepar.com.br/a-sanepar/sanepar-em-numeros. Acesso em 27 ago. 2022.

DAVIES, C. M., & EVISON, L. M. Sunlight and the survival of enteric bacteria in natural waters. The Journal of applied bacteriology, 70(3), 1991. p. 265–274.

GOVERNO DO ESTADO DO PARANÁ. **Entenda como funciona o monitoramento da balneabilidade.** 2009. Disponível em: <a href="https://gov-pr.jusbrasil.com.br/noticias/413432/entenda-como-funciona-o-monitoramento-da-balneabilidade#:~:text=As%20coletas%20de%20amostras%20de,concentra%C3%A7%C3%A3o%20de%20esgoto%20na%20%C3%A1gua. Acesso em: 05 jan. 2023.

HAGLER, A.N.; HAGLER. L.C.S.M. **Microbiologia sanitária**. Tratado de Microbiologia, Manole Ltda, São Paulo, 1998. p. 85-102.

IDEXX (a). **Produtos: Colilert-18.** 2023a. Disponível em: https://www.idexx.com.br/pt-br/water/water-products-services/colilert-18/. Acesso em 04 jan. 2023.

IDEXX (b). **Produtos: Enterolert.** 2023b. Disponível em: https://www.idexx.com.br/pt-br/water/water-products-services/enterolert/. Acesso em 04 jan. 2023.

INSTITUTO ÁGUA E TERRA (IAT). **Balneabilidade**. Curitiba, disponível em: https://www.iat.pr.gov.br/Pagina/Balneabilidade. Acesso em 27 ago. 2022.

INSTITUTO ÁGUA E TERRA (IAT). **Noticia: Qualidade da água se mantém própria para banho em 50 pontos monitorados pelo IAT**. Curitiba, 2023. Disponível em: https://www.iat.pr.gov.br/Noticia/Qualidade-da-agua-se-mantem-propria-para-banho-em-50-pontos-monitorados-pelo-IAT. Acesso em: 09 jan. 2023.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICAS (IBGE). **Panorama por cidades, Pontal do Paraná**. Disponível em: https://cidades.ibge.gov.br/brasil/pr/pontal-do-parana/panorama. Acesso em 03 jan. 2023.

INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA NORMALIZAÇÃO E QUALIDADE INDUSTRIAL (INMETRO). **DOQ-CGCRE-089: Orientação sobre avaliação de desempenho de métodos analíticos - microbiologia.** Rio de Janeiro, 2017.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION (ISO). ISO 13843:2017 Water quality: Requirements for establishing performance

characteristics of quantitative microbiological methods. 2017. Disponível em: https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:13843:ed-1:v1:en. Acesso em: 09 jan 2023.

LACAVA, L. A. Classificação de balneabilidade de praia através de dois indicadores de contaminação fecal (*Escherichia coli* e enterococos) e utilização de perfis resistência antimicrobiana e rflp-pcr para identificar fontes de contaminação fecal. Itajaí, 2005. Disponível em: https://repositorio.ufsc.br/bitstream/handle/123456789/102139/221541.pdf?sequence=1&isAllowed=y. Acesso em 04 jan 2023.

PARADELLA, T. C; KOGA-ITOA, C. Y; JORGE, A. O. C. *Enterococcus faecalis*: **considerações clínicas e microbiológicas.** Revista de odontologia da UNESP, São Paulo, 2017.

RODRIGUEZ, M. T. T. *Streptococcus* e *Enterococcus* isolados de águas marinhas e de galerias pluviais na costa de Fortaleza: perfil de resistência a antibióticos. 2015. 143 f. Tese (Doutorado em Ciências Marinhas Tropicais) - Instituto de Ciências do Mar, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2015.

SAVIOLI, L; SMITH, H; THOMPSON, A. Giardia and Cryptosporidium join the 'Neglected Diseases Initiative'. Trends Parasitol v. 22, 2006, p.203-208.

SILVA FILHO, A. C.; MORAIS, R. D.; DA SILVA, J. B.. Doenças de veiculação hídrica: dados epidemiológicos, condições de abastecimento e armazenamento da água em Massaranduba/PB. Geoambiente on-line, n. 20, 2013, p. 01-14.

SOUZA, C. de O. et al. *Escherichia coli* enteropatogênica: uma categoria diarreiogênica versátil. Rev Pan-Amaz Saude, Ananindeua: v. 7, n. 2, p. 79-91, jun. 2016. Disponível em:

http://scielo.iec.gov.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2176-62232016000200079&Ing=pt&nrm=iso. Acesso em 27 ago. 2022.

TAVARES, T. de M.; et. al.. Vírus entéricos veiculados por água: aspectos microbiológicos e de controle de qualidade da água. Revista De Patologia Tropical/Journal of Tropical Pathology, v. 34, n. 2, 2005.