

Protocolo do Plano de Garantia de Qualidade dos Dados para o Monitoramento Bacteriológico



ISSN 2179-8184

Setembro, 2011

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Agroindústria Tropical
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

Documentos 138

Protocolo de Garantia de Qualidade dos Dados do Monitoramento Bacteriológico

*Francisca Dalila Menezes de Sousa
Enio Giuliano Girão
Raimundo Bemvindo Gomes
Carlos Eduardo Siste*

Embrapa Agroindústria Tropical
Fortaleza, CE
2011

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Agroindústria Tropical

Rua Dra. Sara Mesquita 2270, Pici
CEP 60511-110 Fortaleza, CE
Fone: (85) 3391-7100
Fax: (85) 3391-7109
Home page: www.cnpat.embrapa.br
E-mail: vendas@cnpat.embrapa.br

Comitê de Publicações da Embrapa Agroindústria Tropical

Presidente: *Antonio Teixeira Cavalcanti Júnior*
Secretário-Executivo: *Marcos Antônio Nakayama*
Membros: *Diva Correia, Marlon Vagner Valentim Martins, Arthur Cláudio Rodrigues de Souza, Ana Cristina Portugal Pinto de Carvalho, Adriano Lincoln Albuquerque Mattos e Carlos Farley Herbster Moura*

Revisão de texto: *Lucas Almeida Carneiro*
Normalização bibliográfica: *Rita de Cassia Costa Cid*
Editoração eletrônica: *Arilo Nobre de Oliveira*
Foto da capa: *Francisca Dalila Menezes de Sousa*

1ª edição (2011): on-line

Todos os direitos reservados

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei no 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Nome da Unidade catalogadora

Protocolo de garantia de qualidade dos dados do monitoramento bacteriológico / Francisca Dalila Menezes de Sousa...[et al.]. – Fortaleza : Embrapa Agroindústria Tropical, 2011.

43 p. 21 cm. – (Documentos / Embrapa Agroindústria Tropical, ISSN 2179-8184, 138).

1. Água - Monitoramento bacteriológico; Qualidade de dados. I. Sousa, Francisca Dalila Menezes. II. Girão, Enio Giuliano. III. Gomes, Raimundo Bemvindo. IV. Siste, Carlos Eduardo. V. Série

CDD 628.168

© Embrapa 2011

Autores

Francisca Dalila Menezes de Sousa

Tecnóloga em Gestão Ambiental, Rua Vicente Leite,
1730, Aldeota, CEP 60170-151, Fortaleza, CE,
tel. (85) 3246-0309, menezes.dalila@gmail.com

Enio Giuliano Girão

Advogado, Engenheiro Agrônomo,
M. Sc. Irrigação e Drenagem, Pesquisador da Embrapa
Agroindústria Tropical, Rua Dra. Sara Mesquita 2270,
Pici, CEP 60511-110, Fortaleza, CE,
tel. (85) 3391-7144, enio@cnpat.embrapa.br

Raimundo Bemvindo Gomes

Engenheiro de Alimentos, M. Sc. Engenharia Civil,
Professor do Instituto Federal de Educação, Ciência
e Tecnologia do Ceará (IFCE), Av. 13 de Maio, 2081,
Benfica, CEP 60040-531, Fortaleza-CE,
tel. (85) 3307-3727, bemvindo@ifce.edu.br

Carlos Eduardo Siste

Engenheiro Agrônomo, especialista em Manejo
Ambiental de Sistemas Agrícolas, Rua Rogério
Luciano, 161, casa 4, Bairro Camargos,
CEP 30520-510, Belo Horizonte, MG,
tel. (31) 9977-7129 / 9950-4868, csiste@yahoo.com.br

Apresentação

O Fundo Cristão para Crianças, em parceria com a Universidade de Auburn, Estado do Alabama, Estados Unidos da América, introduziram no Brasil uma metodologia inovadora em educação ambiental, baseada na capacitação de grupos de voluntários para o monitoramento participativo da qualidade da água em bacias hidrográficas. Desde o ano 2000, foram formados grupos de Vigilantes da Água em diversas comunidades rurais do Vale do Jequitinhonha, Minas Gerais, e muitas famílias se beneficiaram da metodologia de trabalho, levando informações e conhecimentos sobre qualidade da água, essenciais para a manutenção da saúde das pessoas, bem como a conservação e a proteção dos recursos hídricos.

No Estado do Ceará, o Vigilantes da Água iniciou em 2006, com o Projeto Gestão de fontes hídricas em microbacias hidrográficas, voltada para melhoria da qualidade de vida de comunidades rurais, coordenado pela Embrapa Agroindústria Tropical. O objetivo geral é monitorar a qualidade de fontes de água utilizadas para consumo humano, com base na capacitação e formação de agentes ambientais pertencentes à própria comunidade, denominados “Vigilantes da Água”.

Este Protocolo foi inspirado na versão do Protocolo de garantia da qualidade dos dados elaborado pela Universidade de Auburn, ampliado e enriquecido com as experiências dos Grupos de Vigilantes da Água de Minas Gerais e Ceará, o qual fornece uma organização das tarefas

cumpridas pelo programa, a importância de validar os dados obtidos pelos Vigilantes da Água, controle de qualidade requeridos para execução correta dos procedimentos, metodologias comparativas para validação do método Coliscan Easygel e manuseio e disposição dos resultados, garantindo a qualidade dos dados que venham expressar a potabilidade da água de consumo.

Esperamos que o Protocolo aperfeiçoe a confiabilidade das análises e mostre exatidão na qualidade dos dados obtidos pelo monitoramento bacteriológico das bacias hidrográficas onde será aplicada a metodologia do Vigilantes da Água e sirva como referência para os grupos de Vigilantes da Água, bem como para o fortalecimento dos programas de monitoramento da qualidade de águas já existentes. Aceitamos críticas e sugestões daqueles que, por terem um olhar diferente do nosso, queiram contribuir para o enriquecimento continuado deste trabalho.

Vitor Hugo de Oliveira

Chefe-Geral da Embrapa Agroindústria Tropical

Sumário

Gerenciamento do Projeto	9
Organizações de tarefas do projeto.....	9
Modelo do projeto para alcançar metas e/ou objetivos	11
Definição do problema	13
Porque é necessário acompanhamento bacteriológico?.....	13
Como as informações serão utilizadas?	14
Descrição de tarefas.....	15
Objetivo da medição da qualidade dos dados	16
Avaliação comparativa dos métodos da calibração	19
Requisitos de formação e certificação	21
Manuseio e Aquisição de Dados	22
Concepção de amostragem	22
Métodos de amostragem requeridos	24
Metodologia do Colilert (<i>Standard Methods</i>)	26
Documentos e Registros	28
Manuseio de amostragem e vigilância requerida	30
Métodos analíticos requeridos.....	30
Controle de qualidade requeridos.....	31
Limites estabelecidos pelas legislações	32

Instrumentos/equipamentos, inspeção e manutenção.....	38
Calibração dos equipamentos e frequência	39
Inspeção e requisitos de aceitação de abastecimento.....	39
Avaliação e supervisão.....	39
Aplicações e ações de respostas	39
Relatórios.....	40
Validação e uso dos dados	40
Necessidade de revisão dos dados, validação e verificação.....	40
Métodos de avaliação e verificação	40
Importância da qualidade dos dados	42
Referências	43

Protocolo de Garantia de Qualidade dos Dados do Monitoramento Bacteriológico

Francisca Dalila Menezes de Sousa

Enio Giuliano Girão

Raimundo Bemvindo Gomes

Carlos Eduardo Siste

Gerenciamento do Projeto

Organizações de tarefas do projeto

A responsabilidade da equipe que coordena o projeto (Embrapa Agroindústria Tropical) foi implementar, coordenar e fornecer apoio técnico para que o programa seja executado. Durante esse período, foram formados grupos denominados Vigilantes da Água, que atuam nas comunidades rurais de diversos municípios cearenses, implantando e multiplicando a metodologia do monitoramento participativo da qualidade da água em bacias hidrográficas. A responsabilidade dos líderes comunitários e interessados pelo projeto é se organizarem para receberem o programa na comunidade e manterem o monitoramento em execução. A fundamentação da proposta de organização do projeto Vigilantes da Água segue o fluxograma exibido na Figura 1.

A equipe gestora do projeto é responsável pela capacitação técnica de monitores voluntários para formar equipes de Vigilantes da Água nos locais de implantação do projeto. A equipe gestora desenvolve manual, protocolos e reuniões para discutir resultados obtidos durante o monitoramento. É responsável também pelo controle de qualidade, gerenciamento e disposição dos dados, conforme detalhado no Plano de Garantia da Qualidade dos Dados (PGQD). A coordenação do projeto

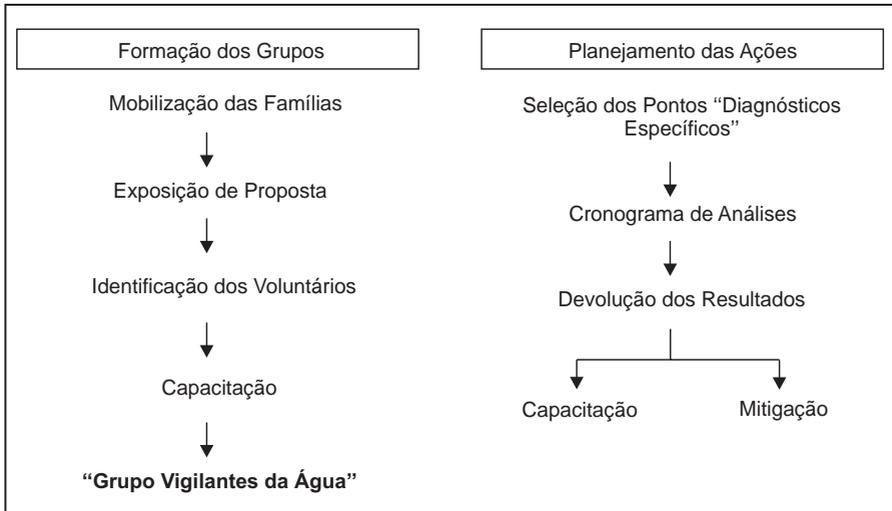


Figura 1: Fundamentação da proposta do projeto Vigilantes da Água.

estabelece contatos regulares com os grupos de Vigilantes da Água, promovendo sessões de formações e coordenando cursos. Os Vigilantes da Água mais experientes auxiliam os coordenadores do projeto em outros aspectos da formação de cidadãos, em *workshops* e outras reuniões. Os cooperadores técnicos do projeto auxiliam nas formações de cursos, palestras, eventos e técnicas de elaboração e discussão dos resultados. Participam também no aprimoramento das técnicas de aperfeiçoamento das etapas de execução do projeto e elaboração de documentos.

Os monitores voluntários participam inicialmente do treinamento básico para serem capacitados na metodologia e certificados para utilização dos *kits* bacteriológicos de teste da qualidade da água. O treinamento aborda princípios de monitoramento da qualidade da água, técnicas de coleta de dados e disposição dos resultados obtidos para a equipe de gestão do projeto. Após a conclusão do treinamento de certificação, os monitores assinam um "Termo de Responsabilidade", quando recebem o certificado de Vigilante da Água.

O efeito multiplicador é constituído de dois níveis de treinamento. Primeiro, o nível básico, que consiste na participação da oficina de treinamento e execução da análise, e, segundo, o nível instrutor, que é formado por cidadãos do nível básico que adquiriram experiência na coleta e execução durante seis meses de monitoramento.

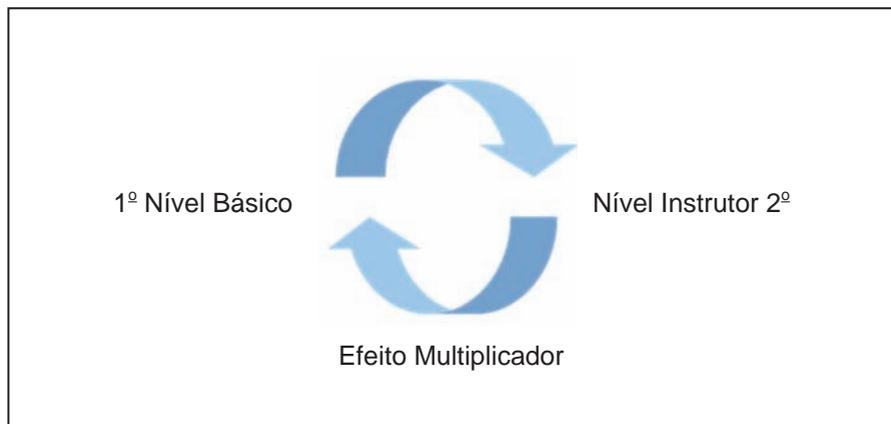


Figura 2: Níveis de formação.

Vigilantes da Água experientes também podem completar as fases adicionais de formação e qualificação para treinar os novos monitores, promovendo assim o monitoramento participativo por meio de multiplicadores. Os certificados de treinamento incluem: certificação do treinamento básico, participação em *workshops*, asseguuração da qualidade das amostragens e análises.

Modelo do projeto para alcançar metas e objetivos

O Projeto Vigilantes da Água objetiva realizar o monitoramento participativo seguindo um modelo de acordo com a Figura 3, aliando a tecnologia do método de monitoramento bacteriológico com a participação dos grupos de projetos sustentáveis, gerando o monitoramento participativo.

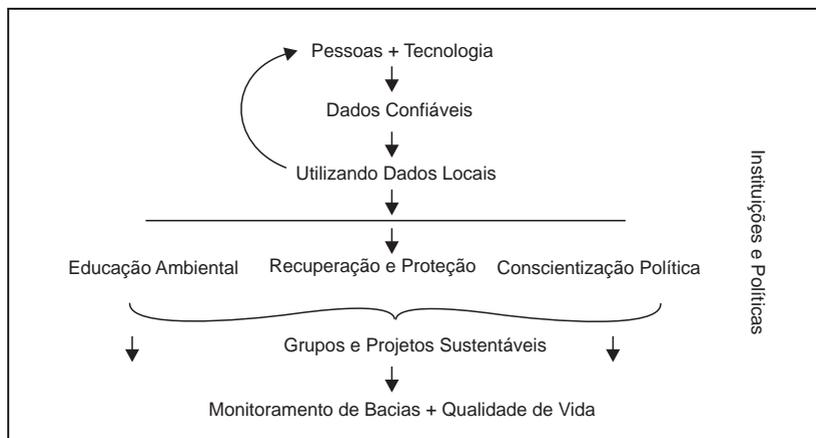


Figura 3: Modelo do projeto Vigilantes da Água.

Os objetivos principais do projeto são:

- Desenvolver habilidades e capacidades em voluntários interessados em promover a educação ambiental em nível local.
- Colaborar para a construção e fortalecimento de redes de trabalho com foco na gestão participativa da água.
- Prover recursos e suporte para o desenvolvimento de projetos socioambientais de intervenção local.
- Melhorar a qualidade de vida das famílias por meio do acesso à água de qualidade e em quantidades adequadas.
- Influenciar positivamente os governos no desenvolvimento e implantação de políticas públicas que respeitem as especificidades socioculturais locais.

Durante a execução do projeto, são detectados desafios a serem superados pela equipe gestora e também pelos grupos de Vigilantes da Água.

Alguns desafios são mostrados a seguir:

- Garantir a manutenção de parceiros para o financiamento continuado do programa Vigilantes da Água.

- Estabelecer estratégias que garantam o acesso permanente aos recursos tecnológicos necessários ao desenvolvimento do Global Water Watch (GWW).
- Melhorar o desenho dos projetos de intervenção a partir dos resultados do monitoramento da qualidade da água, tornando as ações de proteção e conservação dos recursos hídricos mais eficazes.
- Ser uma referência do GWW no Brasil, como metodologia de trabalho para programas de educação ambiental e gerenciamento participativo de recursos hídricos.

Definição do problema

As comunidades rurais do Semiárido brasileiro, em grande maioria, são desprovidas de águas tratadas, o que ocasiona vários problemas relacionados à saúde pública nas comunidades que consomem águas não tratadas e, muitas vezes, propícias à contaminação. Para o conhecimento mais detalhado do problema, é necessário o monitoramento da qualidade das águas de consumo desprovidas de tratamento. A proposta do Projeto Vigilantes da Água é o monitoramento participativo da qualidade da água com foco nas análises bacteriológicas. O monitoramento participativo consiste no envolvimento de líderes comunitários interessados e na mobilização da comunidade para execução de tarefas e implantação efetiva do projeto, pois a execução satisfatória do projeto exige dedicação.

Por que é necessário acompanhamento bacteriológico?

A preocupação com a contaminação das águas de consumo humano e outros usos que exigem qualidade da água é comum entre órgãos competentes e comunidade consumidora. A preocupação com a presença de bactérias prejudiciais à saúde na água de lagos, córregos, rios, cisternas e água para consumo ocasionou o interesse da implantação do monitoramento bacteriológico, cuja finalidade é registrar a possível contaminação e diagnosticar o problema e sua dimensão. O monitoramento gera uma base de dados de importante cunho social e pode ser utilizada como documento

de auxílio à pesquisa. É também uma forma de resposta do Projeto Vigilantes da Água às preocupações e aos compromissos com a resolução de problemas sociais e de saúde pública.

Como as informações serão utilizadas?

O processo de coleta dos dados bacteriológicos segue o fluxograma de aquisição e disposição dos dados mostrado na Figura 4.

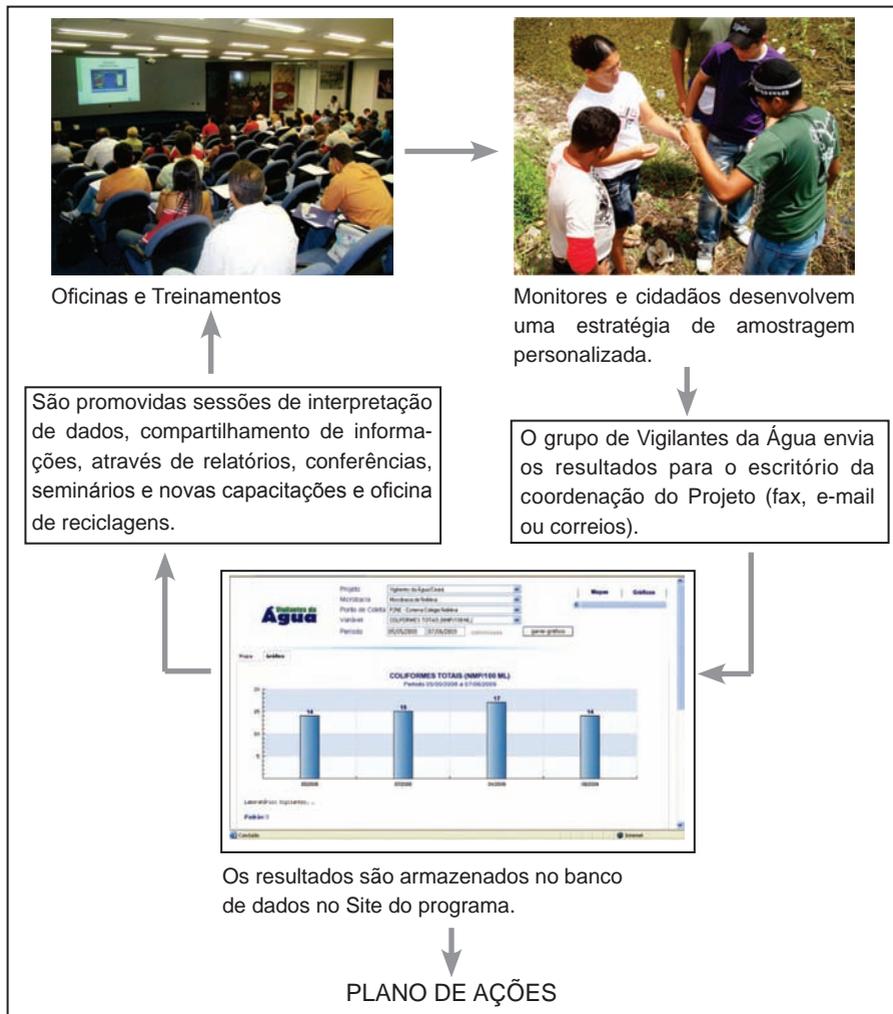


Figura 4. Processo da coleta, tratamento e disposição dos dados.

Os monitores voluntários, após participarem das oficinas da metodologia bacteriológica, desenvolvem estratégias de amostragem, dependendo de seus objetivos e orçamento. O grupo responsável em cada localidade envia os dados para o escritório do projeto, a equipe gestora avalia os resultados e os armazena no banco de dados (*site* do projeto), onde ficam disponíveis para pesquisa e consultas, em gráficos e tabelas. Os resultados armazenados no banco de dados podem ser usados para determinar tendências de médio prazo e respaldar e aconselhar os grupos de monitoramento sobre poluição ou problemas de contaminação na microbacia. Monitores são capazes de detectar e resolver problemas de contaminação a nível local que precisam de atenção imediata, com auxílio dos agentes comunitários de saúde, secretarias de saúde, entre outros órgãos. Esse processo é realizado, geralmente, sem o envolvimento da agência reguladora.

A divulgação dos resultados é apresentada em reuniões, *workshops*, conferências, seminários, congressos e artigos científicos, encontros dos grupos de comunitários Vigilantes da Água e boletins informativos. Nos encontros, os resultados são discutidos e avaliados comparativamente com as análises realizadas no laboratório. A realização das análises laboratoriais possui frequência controlada e é sistemática, em razão do alto custo das análises.

Descrição de tarefas

O *kit* utilizado pelo Programa Vigilantes da Água é o *Coliscan Easygel*, produzido pelo Laboratório *Micrology* (EUA), em parceria com a Universidade de *Auburn*, Alabama (EUA). É certificado pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (EPA) e está de acordo com a legislação brasileira (Portaria MS 518/04 e Res. CONAMA 357/05).

Essa tecnologia é utilizada pelo Vigilante da Água para identificar a presença de *Escherichia coli* (*E. coli*) e Coliformes Totais (Outros Coliformes). A tecnologia foi desenvolvida pelo Dr. Jonathan Roth, do *Micrology Laboratory*, Estados Unidos da América. Para o uso dessa tecnologia, recolhe-se amostra de 1 mL de água, que é coletada utilizando-se uma pipeta estéril e inoculada em 10 mL de meio de cultura

líquido. Os coliformes totais e *Escherichia coli* produzem enzimas que reagem com os componentes do meio de cultura, produzindo colônias de coloração que vai do rosa ao vermelho (Coliformes Totais), e colônias com coloração que vai do azul escuro ao roxo (*E. coli*).

Os Vigilantes da Água podem realizar as coletas para avaliar a presença de bactérias em córregos, lagos, piscinas, açudes, cisternas, poços, bebedouros e diversas fontes de águas utilizadas para consumo e outros usos, como irrigação e aquicultura. A determinação das condições da qualidade da fonte de coleta será a informação-base para o motivo do monitoramento e seleção dos pontos de amostragem. Em resposta aos problemas de contaminação ou vazamentos de fossas sépticas e esgotamentos sanitários, são feitos testes secundários, como nova coleta nos pontos e análises para detecção de fontes de poluição pontual de difusa.

A frequência de amostragem varia de acordo com os objetivos dos grupos de interessados pelo monitoramento local. São adotadas, na maioria das vezes, amostragens mensais, período de amostragem satisfatório para conhecimento da qualidade das águas em análise. Os resultados das análises bacteriológicas realizadas em laboratório são avaliados de acordo com APHA *Standard Methods* (1992), com 200-600 colônias de *Escherichia coli* por 100 mL como limite máximo permitido para todo o local de amostragem. Monitores são treinados para informar com urgência dados que ultrapassem o limite da legislação vigente.

Objetivo da avaliação da qualidade dos dados

Indicadores de qualidade

- **Precisão**

O uso de amostras idênticas é uma ferramenta importante de precisão dos resultados. A média de três réplicas da mesma amostra tende a ser mais confiável pois a precisão tem como base o desvio-padrão de uma série de repetições da mesma análise. A coleta das réplicas é realizada com a mesma pipeta estéril e no mesmo local de coleta, para que seja testada a

precisão da análise. Os monitores são treinados para recolher três réplicas de amostra de cada local avaliado.

● **Exatidão**

A precisão do método *Coliscan Easygel* é de desempenho aceitável, quando em perfeitas condições de uso e bem manipulada. É necessário que o frasco do *Coliscan Easygel* seja adequadamente armazenado, placas estéreis e pipetas guardadas em ambiente seco para proteger o material contra a umidade. A exatidão do método pode ser demonstrada pela comparação dos resultados obtidos com o material de referência padrão ou com outro método validado cujo erro regular não seja significativo. No caso, o método utilizado por laboratórios para validação dos resultados é *APHA Standard Methods* (1992). Esse período de calibração das análises será feito pelo laboratório parceiro do projeto. Um estudo de calibração foi realizado para confirmar a precisão técnica utilizada pelos monitores do grupo Vigilantes da água, comparando o método laboratorial e a tecnologia do Vigilantes da Água (Figuras 6).

● **Intervalo de medição**

Os monitores coletam tipicamente 1 mL de amostra, mas se pode amostrar uma série de volumes, a partir de 0,25 mL até 5 mL. O teste *Coliscan Easygel* pode detectar até uma pequena colônia de bactérias por amostra. Os monitores são treinados para contar até 200 colônias por amostra. Concentrações mais elevadas são registradas como MNPC (Muito Numeroso Para Contar).

● **Representatividade**

A representatividade depende de quantos pontos de amostragem serão coletados com as amostras de três repetições e locais devidamente selecionados. Os monitores recebem treinamento sobre a escolha do local adequado que melhor representa as verdadeiras condições ambientais. Por exemplo, os monitores são treinados para coletar amostras nos locais de fluxo à montante de algum ponto que represente descargas de poluição, amostrar locais que normalmente apresentam fluxo de intenso ou baixo potencial de fontes de contaminação, a fim de obter a variabilidade natural e localizar a fonte de contaminação.

● **Comparabilidade**

A comparabilidade é feita por meio da amostragem paralela método *Coliscan Easygel* com *Standard Methods* para testes bacteriológicos, recomendado e utilizado por laboratórios de análises de qualidade de água. Esses estudos comparativos têm indicado que o método *Coliscan Easygel* é uma ferramenta confiável e válida para a detecção de contaminação fecal.

● **Avaliação final**

Uma vez que um grupo de acompanhamento estabelece o plano de monitoramento, com datas das amostragens, pontos de coletas, fluxograma de atualização dos dados e tratamento dos resultados, todos os dados bacteriológicos são submetidos ao escritório do Projeto Vigilantes da Água, onde serão dispostos no banco de dados para análise, síntese e difusão.

● **Gerenciamentos de dados**

Os formulários de dados são preenchidos em campo para registro dos dados de coleta, das análises e anotações extras (ver Figura 10). O formulário dos dados será enviado para o escritório da equipe gestora do projeto e uma cópia é mantida com o grupo de monitores responsáveis pela coleta de dados.

Os dados notificados são armazenados no banco de dados, na ordem de recebimento pela equipe responsável de armazenamento de dados. Um login será mantido para documentar o fluxo de dados e verificação dos dados.

Os seguintes dados serão verificados:

a) Os formulários são enviados pelo grupo responsável, previamente selecionado pela equipe de armazenamento de dados, para verificar erros ou problemas, como a falta de dados, datas, horários, unidades incorretas, letra ilegível e a colocação de informações impróprias. A maioria dos erros poderá ser resolvida por contato com o monitor voluntário por telefone ou e-mail. Se nas leituras são encontrados resultados extremos, que não podem ser explicados (por exemplo, a elevada contaminação

nas amostras coletadas após o evento de chuva forte ou abaixo de uma estação de tratamento de águas residuais), obviamente, o monitor será convidado a testar novamente ou entrar em contato com outro monitor para recoleta, a fim de excluir a técnica de testes imprecisos ou média defeituosa.

b) O analista de dados responsável pelo armazenamento dos resultados analisará as fichas de dados, antes de efetuar a entrada dos dados. Todos os dados serão inseridos em uma planilha do tipo de programa aplicativo desenvolvido para este projeto e compatível com os softwares disponíveis no mercado e de acesso pelos parceiros do projeto e interessados.

c) Os dados inseridos no computador são impressos e confrontados com os dados originais dos formulários de registro das análises e são feitas as eventuais correções.

d) A seleção é feita segundo os dados originais dos formulários de registro das análises.

e) Os dados são então marcados como prontos para análise.

f) Além dos dados originais que estão sendo mantidos no escritório, é feito regularmente o backup dos dados e arquivados no computador.

g) os resultados das calibrações serão avaliados comparativamente por meio de gráficos, observando-se o perfil dos resultados laboratoriais com resultados obtidos pelos Vigilantes da Água.

Avaliação comparativa dos métodos da calibração

No âmbito do Projeto Vigilantes da Água, foram realizadas amostragens simultâneas e análises comparativas da metodologia *Coliscan Easygel* e *Standard Methods (Colilert)*. O método *Colilert* foi escolhido principalmente pela facilidade de manuseio, rapidez do resultado e compatibilidade com os resultados do *Coliscan Easygel*. As amostragens foram realizadas simultaneamente por um técnico do laboratório; as amostras laboratoriais

foram levadas imediatamente ao Laboratório Integrado de Águas de Mananciais e Residuárias do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará (LIAMAR/IFCE) para processamento das amostras de acordo com a metodologia do *Standard Methods*. O local escolhido para o ensaio foi o Açude Santo Anastácio (Figura 5), localizado no Campus da Universidade Federal do Ceará, inserido na Bacia Metropolitana do Estado do Ceará.



Figura 5. Locais de monitoramento no Açude Santo Anastácio, UFC.

Fonte: Google maps.

O período de amostragem foi de janeiro a setembro de 2010, em dois pontos de amostragem representativos, Sangradouro (P03) (local de escoamento da água) e Parede (P04) (local de maior tempo de retenção da água). Os resultados obtidos foram comparados em gráficos (Figura 6), mostrando que o método *Coliscan Easygel* apresentou o mesmo perfil quantitativo do método adotado pelo laboratório (*Colilert*).

Conforme se observa na Figura 6, os dois métodos seguem um perfil relativamente semelhante. Na metodologia do *Colilert* (laboratorial), o quantitativo de bactérias analisadas apresenta maior representação quantitativa, na maioria do período amostral, que pode ser justificada por melhores condições de crescimento bacteriológico, levando em consideração a estrutura da análise laboratorial (estufa especializada e ambiente estéril).

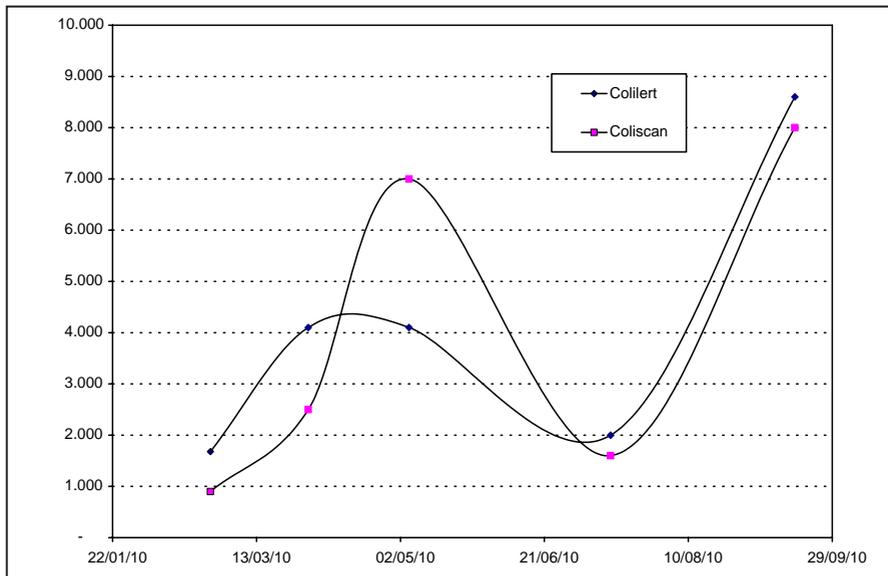


Figura 6. Gráfico comparativo dos métodos *Coliscan x Colilert*, Variável *E. coli*, Sangradouro do Açude Santo Anastácio.

O pico quantitativo no mês de maio de 2010 é uma exceção ao perfil de monitoramento, que pode ser justificado por alguma eventualidade no processamento da análise.

A tendência do aumento de contaminação nos meses de agosto e setembro de 2010 pode ser atribuída ao período de escassez chuvosa, ocasionando maior evaporação, maior tempo de retenção da água, diminuição do volume de água do açude, que proporcionam condições de aumento da contaminação do corpo hídrico.

Requisitos de formação e certificação

Os monitores voluntários interessados são selecionados para participarem do curso de formação realizado pela equipe dos gestores do Projeto Vigilantes da Água. O tempo de treinamento varia de acordo com as dúvidas dos participantes durante a oficina, as perguntas e o tempo de prática. O monitor será avaliado quanto à participação, frequência nas reuniões e desempenho durante o desenvolvimento do projeto.

Os tópicos abordados no curso de formação, segundo a Universidade de Auburn, Alabama, EUA, são:

- a) Introdução aos testes bacteriológicos e padrões de qualidade da água;
- b) Demonstração de técnicas de contagem de placas bacterianas;
- c) Estratégia de amostragem e seleção do local. A comunidade local normalmente organiza a logística para a oficina, realizada perto do grupo de acompanhamento.

Todos os monitores com a certificação do monitoramento bacteriológico são convidados a assistir a uma sessão de reciclagem da certificação, realizada anualmente, durante a qual são atualizados e avaliados no monitoramento e contagem de colônias bacterianas. A reciclagem da certificação é composta por uma sala de aula ou espaço adequado para rever as técnicas e responder a perguntas, contando com fotografias (prática representativa) ou amostras reais que foram colhidas e incubadas para mostrar as variações das colônias. Monitores experientes podem completar uma oficina de formação, compartilhando experiências e se tornarem formadores-multiplicadores da técnica bacteriológica *Coliscan Easygel*.

Os monitores que possuem a certificação de reciclagem da metodologia bacteriológica serão conduzidos pela gestão do Projeto Vigilantes da Água para participar de *workshops* e reuniões realizadas nos Estados da Federação onde o projeto atua. Para facilitar o processo nos pequenos grupos de monitores (cinco ou menos pessoas), a reciclagem de certificação pode ser inserida junto à reunião de certificação dos novos monitores.

Aquisição e Manuseio dos Dados

Concepção de amostragem

O controle bacteriológico será direcionado de acordo com as necessidades do monitoramento. Os monitores determinam suas necessidades, objetivos

específicos e estratégias de controle, que são personalizados para atender a esses objetivos. Por exemplo, grupos de Vigilantes da Água podem escolher fontes de abastecimento de água para pequenas comunidades rurais, que não possuem tratamento prévio. Outro grupo de Vigilantes da Água pode monitorar açudes utilizados para banho, aquicultura e outros usos. Outros grupos de acompanhamento podem suspeitar de um problema de poluição ou ponto de origem (por exemplo, uma estação de tratamento de água) e escolher a periodicidade da amostragem. Aconselha-se amostragem à montante e à jusante do local de captação de água da estação de tratamento.

- Número de amostras requeridas

Monitores são treinados para coletar três amostras de análise por ponto de coleta em determinado local e hora, para que a média geométrica e variabilidade sejam determinadas.

- Localização de amostragem

As amostragens em águas correntes devem ser coletadas rio acima. Em locais de água corrente, a amostragem deve ser evitada nos locais de águas paradas (remansos) ou com muita vegetação, geralmente nas margens. Aconselha-se coletar em local mais representativo. Se um coletor tiver que entrar na água, a amostra deve ser recolhida para montante, sem perturbar o sedimento. Amostragens em lagos devem ser realizadas de maneira superficial de 15 cm a 20 cm e feita às margens. Se houver necessidade e disponibilidade, pode-se utilizar barco. A amostragem também deve ser feita em locais onde haja suspeitas de casas com problemas de fossas sépticas às margens do lago.

- Frequência de amostragem

A frequência de amostragem é variável, depende dos objetivos do monitoramento. As amostras devem ser coletadas mensalmente para acompanhamento de rotina. As amostras devem ser coletadas com maior frequência (duas vezes por mês) para estudos específicos de suspeita ou problemas de contaminação.

- Seleção dos locais a serem amostrados

As regras gerais para a escolha do local de amostragem são: local seguro,

acessível, acesso legal e estratégico, isto é, que cumpram os objetivos de amostragem de maneira eficiente. Os monitores podem auxiliar no trabalho fornecendo um mapa ou descrição do local adequado para o registro do ponto de amostragem. Os monitores são também aconselhados a evitar coleta em condições perigosas e condições meteorológicas, tais como relâmpagos e durante inundações.

Métodos de amostragem requeridos

• Metodologia do *Coliscan Easygel*

Existem várias etapas preparatórias que precisam ser concluídas antes de se ir a campo para coletar amostras. Seguindo um *check-list* do material necessário para a coleta, é possível minimizar os imprevistos.

O meio de cultura *Coliscan Easygel* deve ser retirado do *freezer* e descongelado em temperatura ambiente algumas horas antes de ir a campo. É importante marcar os frascos de *Coliscan Easygel* em campo de acordo com o local de coleta. Uma micropipeta é suficiente para cada local de coleta (utiliza-se a mesma pipeta para três as réplicas).

O material necessário para ser levado a campo precisa conter um *kit* de análises correspondente a três repetições em cada ponto, para garantir uma média mais consistente dos dados.

Check-list para coleta e análise:

- Kit de análise: uma micropipeta estéril de 1mL, três frascos do meio de cultura *Coliscan Easygel* e três Placas de Petri estéreis
- Ficha de campo
- Caixa térmica de isopor
- Termômetro
- Caneta
- Sabão ou sabonete para lavar as mãos antes e após a coleta
- Incubadora
- Termômetro científico
- Fita adesiva

A caixa de isopor levada a campo pode ser de um tamanho proporcional apenas ao armazenamento dos frascos de meio de cultura já coletados, para manter a conservação da amostra, caso o local de amostragem seja distante do local de incubação da amostra, o que demandará tempo para a inoculação do meio na placa de Petri.

Antes da incubação das amostras são necessários alguns cuidados para seguir a sequência dos procedimentos. A tampa da placa de Petri deve ser encaixada e lacrada com uma fita adesiva transparente, até o momento da inoculação do meio, para evitar contaminação. A tampa da placa deve ser rotulada com a data da coleta, hora da incubação, ponto de amostragem, volume de amostra e número da réplica.

Em paralelo, uma incubadora, tal como uma caixa de isopor comum, deve ser configurada com uma lâmpada como fonte de calor e um termômetro para monitorar a temperatura. Antes de incubar as amostras, deve ser certificada a temperatura mantida para que não haja oscilação de temperatura após a incubação das amostras (Figura 7).



Figura 7. Placas na incubadora com temperatura controlada para crescimento das bactérias.

No momento da inoculação, o meio contendo a amostra é despejado na placa, cuidadosamente, para evitar derramamento e contaminação. Dentro da placa existe uma película de plástico que induz o líquido a se solidificar (formar gelatina). O meio solidifica-se na placa em uma hora e está pronto para ser incubado em 29 °C a 37 °C, por 30 h a 48 h. Após o período de incubação, as colônias de bactérias, *Escherichia coli* e outros coliformes são contados e relatados na ficha de campo.

● Método 1

A amostra é adicionada ao frasco contendo o meio líquido devidamente etiquetado. A mistura da amostra com o meio é transportada em isopor contendo gelo para o local de inoculação e incubação da amostra. Nesse método deve ser assegurado o período de duas horas do campo para o local de incubação da amostra.

● Método 2

A amostra é coletada e inoculada em campo. Os monitores são instruídos sobre o correto manuseio de revestimento das amostras, tais como manter as placas de Petri inoculadas na sombra até a solidificação (Figura 8).

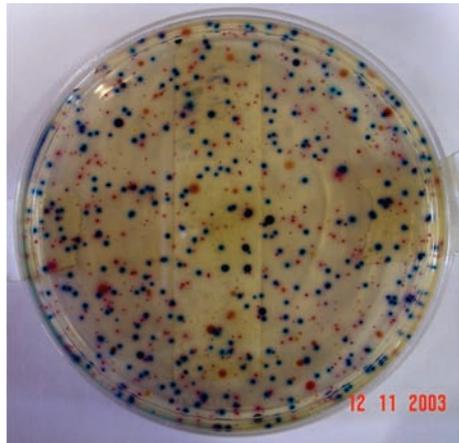


Figura 8. Placa com resultados da análise de uma amostra de água.

Os materiais de amostragem são utilizados apenas uma vez e descartados após o uso. Os monitores são instruídos sobre desinfecção e descontaminação adequada das placas, antes de serem descartados. Uma colher de chá de água sanitária é adicionada a cada placa de Petri. Deixa-se descansar por pelo menos quinze minutos, antes de colocá-las em saco plástico selado.

Metodologia do *Colilert (Standard Methods)*

Para a validação dos dados, o sistema reagente do teste apresenta uma formulação específica que otimiza o desenvolvimento rápido dos microrganismos. Essa formulação é específica para o desenvolvimento de Coliformes e da bactéria *Escherichia coli* em águas doces e tratadas.

As vantagens do método *Colilert* são: simples manuseio, não requer trabalho de preparo de meios de cultura, rápida execução. A principal desvantagem é a necessidade do uso de uma seladora para lacrar a cartela antes da incubação e o maior preço do *Colilert*, elevando o custo da análise.

Os procedimentos de amostragem do método *Colilert* em cartela:

- Identificar a amostra.
- Adicionar o *Colilert* ao frasco contendo 100 ml de amostra. Fechar e agitar para obter mistura total do reagente com a amostra.
- Todo o conteúdo da mistura é despejado na cartela.
- A cartela é selada com auxílio de uma máquina seladora.
- A cartela é incubada a 35 °C (com variação permitida entre 33 °C a 37 °C), durante 24 horas.
- Interpretação dos resultados com a consulta da tabela do NMP (Número Mais Provável) para a quantificação.

A leitura dos dados na cartela é de fácil interpretação. Cavidades incolores indicam resultado negativo. Cavidades amarelas indicam presença de coliformes totais e cavidades amarelo-fluorescentes indicam presença de *Escherichia coli* (Figura 9).

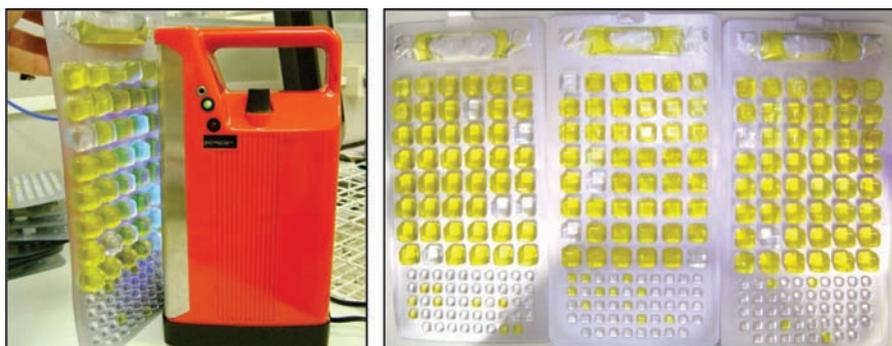


Figura 9. Leitura e Interpretação dos resultados da metodologia *Colilert* (*Standard Methods*)

Documentação e registros

Cada monitor deve preencher devidamente a ficha de campo com os dados de amostragem, no momento da coleta (Figura 10).

Essa informação inclui:

1. Nome do coletor de dados.
2. A microbacia em que o local de amostragem está inserido.
3. Grupo de acompanhamento (Município).
4. Data e hora.
5. Ponto de amostragem (coordenadas geográficas).
6. Número das réplicas.
7. Tipo de fonte.
8. Descrição do local de amostragem.
9. Condições meteorológicas gerais (ocorrência de chuvas).
10. Temperatura da água.
11. Observações adicionais: O prazo de validade do meio de cultura *Coliscan Easygel*.
12. O tipo de metodologia de amostragem, se a amostra foi recolhida e se manteve no campo ou foram transportadas em gelo para conservar a amostra até a inoculação.
13. Volume coletado da amostra.

Após um período de incubação de 24 a 48 horas, as colônias na placa inteira são contadas. O número de colônias é registrado no formulário de comunicação de dados, juntamente com a temperatura e período de incubação.



Programa de Desenvolvimento Humano Sustentável – PDHS
 Subprograma de Educação Ambiental e Vigilantes da Água

Relatório para Registro de Resultados de Análises Bacteriológicas de Água

(a) Nome da Associação: (c) Comunidade:

(d) Data da amostragem: (e) Coordenadas do Ponto: X: Y:

(f) Tipo de Fonte¹: (g) Código de Identificação do Ponto²:

(h) Hora da Amostragem: (i) Hora da Incubação: (j) Data do Vencimento do Kit:

(l) Volume da Amostra (mL): (m) Temperatura da Água (°C): (n) Código Identificador da Via³:

(o) Resultados encontrados (nº de colônias/placa):

Tipo de Coliforme	Número da Amostra			
	1	2	2	Média ⁴
<i>E. Coli</i>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Outros coliformes	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>

Caso tenha ocorrido alguma contaminação por *E. coli*, calcule quantas colônias existem por 100 mL de água.

Caso tenha ocorrido alguma contaminação por **Outros Coliformes**, quantas colônias existem por 100 mL de água.

(p) Observações importantes

Ocorreu alguma chuva na região nos últimos três dias? Sim Não Em sua opinião, escreva porque a água está contaminada?

(q) Descreva abaixo outras observações ou orientações que você julgar importantes para resolver os problemas acima encontrados⁵

 Assinatura do Vigilante da Comunidade

 Assinatura do Responsável Técnico

Leia com atenção antes de preencher o formulário:

- Coloque no campo apenas a letra referente a: (A) Poço artesiano (B) Poço Manual – cisterna, cacimba etc. (C) Nascente (D) Córrego, rio (E) Barragem, açude (F) Chuva – cisterna de placas/ferro cimento/amianto (G) Rede Pública (AT) se água tratada (ANT) se água não tratada; (RES) se a água amostrada está armazenada em reservatório de alvenaria, amianto, fibra, latão ou plástico; (CER) se a água amostrada está armazenada em reservatório de barro (filtro, potes etc.); (OUT) se a água está em outro tipo de recipiente – cabaça, garrafas de vidro ou plástico etc.
- Este código deve obrigatoriamente permanecer nas análises seguintes (ver instruções sobre como indicar os códigos em anexo).
- Coloque apenas o número; se o relatório preenchido vai para: 01 = Fundo Cristão; 02 = Entidade; 03 = Comunidade; 04 = Outras instituições/organizações; observação: é da responsabilidade da entidade encaminhar as vias 01e 04 ao FCC e 03 à comunidade até no máximo 30 dias após a amostragem.
- Usar sempre o número inteiro (Exemplo: se 0,6 colônias = 1 colônia ou se 0,4 colônias = 0).
- Relate, caso também ocorra algum fato anormal (ex. falta de energia na incubadora, acidente com as placas, dificuldade na amostragem etc.).

RT: Engenheiro Agrônomo Carlos Eduardo Siste – CREA MG 69179/D

Figura 10. Modelo de formulário para registro de análises bacteriológicas.

Manuseio de amostragem e vigilância requerida

A amostra bacteriológica permanece sob a responsabilidade do cidadão monitor de modo que nenhuma cadeia de procedimentos deve ser executada incorretamente. É obrigatório cumprir cada etapa do procedimento para a garantia do resultado confiável. Os monitores são treinados para identificar corretamente as placas de Petri e os frascos, antes de fazer o trabalho de campo. As amostras devem ser devidamente identificadas e analisadas. Qualquer erro na execução da análise implica na não confiabilidade do resultado.

Métodos analíticos requeridos

● *Coliscan Easygel*

O *Coliscan* é um método baseado no fato de que os coliformes produzem certas enzimas para fermentação de lactose, em que podem ser identificados dois substratos cromogênicos, postos em prática por essas duas enzimas, para a produção de pigmentos de cor diferente no meio Easygel. Coliformes em geral produzem as enzimas galactosidase e glucuronidase e as colônias apresentam uma cor que vai do rosa ao vermelho, no meio. Bactérias *E. coli* produzem enzimas galactose e glucorose e as colônias crescem roxo-escuras ou azuis, no meio.

● *Colilert (Standard Methods)*

Os microrganismos têm afinidade por determinados nutrientes correspondentes ao seu metabolismo e utilizam esses nutrientes como fonte de carbono. Os nutrientes indicadores específicos de *Colilert* são: orto-nitrofenol- β -galactopiranoside (ONPG) e 4-metil-umbeliferil- β -d-glucurônico (MUG). As bactérias coliformes possuem a enzima galactosidase. À medida que elas se reproduzem no *Colilert*, utilizam a enzima para metabolizar o ONPG, alterando sua cor de incolor para amarela.

As bactérias *E. coli* possuem a enzima glucuronidase, que metaboliza o MUG, caso esteja presente no *Colilert*, originando fluorescência. Já que a maioria dos microrganismos não coliformes não conta com essas enzimas, eles não podem se reproduzir e interferir no resultado. O *Colilert* utiliza

tecnologia de substrato definido (*Defined Substrate Technology – DST*) e detecta um único coliforme ou *E. coli* viável por amostra.

Controle de qualidade requeridos

A manutenção preventiva será feita constantemente para avaliar as causas mais comuns das deficiências do processo, tais como: equipamentos quebrados ou defeituosos, meios de cultivo com data de vencimento excedida, meio contaminado ou insuficiente e técnica de medição imprecisa. Nas sessões de treinamentos para o manuseio, manutenção do equipamento e técnicas apropriadas para o teste bacteriológico, são abordados cuidados requeridos com o material. Para evitar contaminação e prazo de validade excedido, a aquisição e a distribuição dos *kits* são realizadas dentro de um ano (prazo de validade do meio de cultura *Coliscan Easygel*). Os *kits* são distribuídos para cada município de acordo com a quantidade de pontos de amostragem e suprimentos suficientes para realização das três réplicas por local monitorado, como descrito na metodologia.

A precisão das placas de Petri e do meio de cultura *Coliscan Easygel* é testada e comparada periodicamente com valores obtidos em laboratórios usando o método *Colilert*.

As calibrações são realizadas em laboratórios certificados. As amostragens são simultâneas: um técnico do laboratório e um monitor do Projeto Vigilantes da Água realizarão a coleta no mesmo local de amostragem e no mesmo horário, a fim de obterem as mesmas condições amostrais, evitando interferências de amostragem e avaliando apenas a exatidão do método. As amostras laboratoriais também são coletadas em triplicata, ou seja, três réplicas, para se efetuar a média, propiciando mais exatidão dos resultados obtidos.

Todos os resultados bacteriológicos avaliados são inseridos no banco de dados do *site* do projeto (www.cnpat.embrapa.br/monitordeaguas). Dados com três amostras idênticas podem ser representados graficamente, mais precisamente com as médias.

Colônias que se apresentam verde ou azul-turquesa são registradas separadamente no formulário de dados. Essas colônias podem ser importantes gêneros da família *Enterobacteriaceae*, como *Proteus*, *Salmonella* ou *Shigella*. Se um número excessivo de colônias verde é detectado, os monitores são instruídos a realizar uma nova coleta (de preferência, com um lote diferente de meios). Se o elevado número de colônias azul-verde ainda é evidente, o lote de meio de cultura deve ser avaliado (ALABAMA WATER WATCH, 1999).

Se a concentração de colônias de *E. coli* é detectada em número excessivo, referente aos padrões que deve ser atendido, os monitores são instruídos a fazer repetições dos testes para verificação mais consistente do caso.

O monitor mais experiente do grupo deve rever as folhas de dados para identificar problemas em potencial, tais como informações incompletas ou incorretas e médias da amostra. Apenas os dados aceitáveis para armazenamento no banco de dados serão enviados. É importante a presença dos monitores na sessão de reciclagem da certificação para revisão técnica.

Limites estabelecidos pelas legislações

Os padrões de qualidade de águas dentro de suas classificações no Brasil, segundo a Resolução CONAMA nº 357/05, alterada parcialmente pela Resolução CONAMA nº 430/11, as águas doces podem ser classificadas de acordo com a Tabela 1.

Tabela 1. Classificação das águas segundo a Resolução CONAMA nº 357/05. (BRASIL, 2005).

Classificação	Usos e destinação
I Classe especial Águas destinadas:	<ul style="list-style-type: none"> • Ao abastecimento para o consumo humano, com desinfecção. • À preservação do equilíbrio natural das comunidades aquáticas. • À preservação dos ambientes aquáticos em unidades de conservação de proteção integral.
II Classe 1 Águas que podem ser destinadas:	<ul style="list-style-type: none"> • Ao abastecimento para o consumo humano, após tratamento simplificado. • À proteção das comunidades aquáticas. • À recreação de contato primário, tais como natação, esqui aquático e mergulho, conforme Resolução CONAMA nº 274/2000. (BRASIL, 2000). • À irrigação de hortaliças que são consumidas cruas e de frutas que se desenvolvam rentes ao solo e que sejam ingeridas cruas sem remoção de película. • À proteção das comunidades aquáticas em terras indígenas.
III. Classe 2 Águas que podem ser destinadas:	<ul style="list-style-type: none"> • Ao abastecimento para consumo humano, após tratamento convencional. • À proteção das comunidades aquáticas. • À recreação de contato primário; tais como natação, esqui aquático e mergulho, conforme Resolução CONAMA nº 274/00. (BRASIL, 2000). • À irrigação de hortaliças, plantas frutíferas e de parques, jardins, campos de esporte e lazer, com os quais o público possa vir a ter contato direto. • À aquicultura e à atividade de pesca.
IV. Classe 3 Águas que podem ser destinadas:	<ul style="list-style-type: none"> • Ao abastecimento para consumo humano, após tratamento convencional ou avançado. • À irrigação de culturas arbóreas, cerealíferas e forrageiras. • À pesca amadora. • À recreação de contato secundário. • À dessedentação de animais.

Fonte: Adaptada de Resolução CONAMA nº 357/2005. (BRASIL, 2005).

II Classe 1: Águas que podem ser destinadas

Coliformes termotolerantes: para o uso de recreação de contato primário, deverão ser obedecidos os padrões de qualidade de balneabilidade, previstos na Resolução CONAMA nº 274/00. (BRASIL, 2000). Para os demais usos, não deverá ser excedido um limite de 200 coliformes termotolerantes por 100 mL em 80% ou mais, de pelo menos seis amostras, coletadas durante o período de um ano, com frequência bimestral.

E. coli poderá ser determinada em substituição ao parâmetro Coliformes Termotolerantes de acordo com limites estabelecidos pelo órgão ambiental competente.

III. Classe 2

Coliformes termotolerantes: para uso de recreação de contato primário deverá ser obedecida a Resolução CONAMA nº 274/00. (BRASIL, 2000). Para os demais usos, não deverá ser excedido um limite de 1.000 coliformes termotolerantes por 100 mL em 80% ou mais de pelo menos seis amostras coletadas durante o período de um ano, com frequência bimestral. *E. coli* poderá ser determinada em substituição ao parâmetro Coliformes Termotolerantes de acordo com limites estabelecidos pelo órgão ambiental competente.

IV. Classe 3

Coliformes termotolerantes: para o uso de recreação de contato secundário não deverá ser excedido um limite de 2.500 coliformes termotolerantes por 100 mL em 80% ou mais de pelo menos seis amostras, coletadas durante o período de um ano, com frequência bimestral. Para dessedentação de animais criados confinados, não deverá ser excedido o limite de 1.000 coliformes termotolerantes por 100 mL em 80% ou mais de pelo menos seis amostras, coletadas durante o período de um ano, com frequência bimestral.

Para os demais usos, não deverá ser excedido um limite de 4.000 coliformes termotolerantes por 100 mL em 80% ou mais de pelo menos seis amostras coletadas durante o período de um ano, com periodicidade bimestral. *E. Coli* poderá ser determinada em substituição ao parâmetro Coliformes Termotolerantes de acordo com limites estabelecidos pelo órgão ambiental competente.

Limites estabelecidos para balneabilidade

De acordo com a Resolução CONAMA nº 274/00, (BRASIL, 2000). as águas doces, salinas e salobras podem ser qualificadas quanto à balneabilidade, conforme demonstrado na Tabela 2.

Tabela 2. Classificação das águas de acordo com a Resolução CONAMA nº 274/00. (BRASIL, 2000).

Classificação	Limites
Excelente	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, 250 coliformes fecais (termotolerantes) ou 200 <i>E. coli</i> ou 25 <i>Enterococos</i> por 100 mL.
Muito Boa	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, 500 coliformes fecais (termotolerantes) ou 400 <i>E. coli</i> ou 50 <i>Enterococos</i> por 100 mL.
Satisfatória	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 <i>E. coli</i> ou 100 <i>Enterococos</i> por 100 mL.

Fonte: Adaptada da Resolução CONAMA nº 274/2000. (BRASIL, 2000).

As águas serão consideradas impróprias para o banho quando for verificada uma das seguintes ocorrências:

- Não atendimento aos critérios estabelecidos para as águas próprias.
- Valor obtido na última amostragem superior a 2.500 coliformes fecais (termotolerantes) ou 2.000 *E. coli* ou 400 *Enterococos* por 100 mL.
- Incidência elevada ou anormal, na região de enfermidades transmissíveis por via hídrica, indicada pelas autoridades sanitárias.
- Presença de resíduos ou despejos, sólidos ou líquidos; inclusive esgotos sanitários, óleos, graxas e outras substâncias, capazes de oferecer riscos à saúde ou tornar desagradável a recreação.

- pH<6,0 ou pH>9,0 (águas doces), à exceção das condições naturais.
- Floração de algas ou outros organismos, até que se comprove que não oferecem riscos à saúde humana.
- Outros fatores que contraindiquem, temporária ou permanentemente, o exercício da recreação de contato primário.

Limites e padrões para potabilidade

O padrão microbiológico de potabilidade da água para consumo humano no Brasil encontra-se regulamentado pela Portaria 518/GM, de 25 de março de 2004. (BRASIL, 2004). Esta portaria estabelece os procedimentos e responsabilidades, relativos ao controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. Na Tabela 3 são estabelecidos padrões microbiológicos de potabilidade e conformidades.

Tabela 3. Padrão microbiológico de potabilidade da água para consumo humano.

Parâmetro	VMP ⁽¹⁾
Água para consumo humano ⁽²⁾	
<i>Escherichia coli</i> ou coliformes termotolerantes ⁽³⁾	Ausência em 100 mL
Água para saída do tratamento	
Coliformes totais	Ausência em 100 mL
Água tratada no sistema de distribuição (reservatórios e redes)	
<i>Escherichia coli</i> ou coliformes termotolerantes ⁽³⁾	Ausência em 100 mL
Coliformes totais	Sistemas que analisam 40 ou mais amostras por mês: Ausência de 100 mL em 95% das amostras examinadas no mês; Sistemas que analisam menos de 40 amostras por mês: apenas uma amostra poderá apresentar mensalmente resultado positivo em 100 mL

⁽¹⁾ Valor Máximo Permitido.

⁽²⁾ Água para consumo humano em toda e qualquer situação, incluindo como fontes individuais como poços, minas, nascentes, dentre outras.

⁽³⁾ A detecção de *Escherichia coli* deve ser preferencialmente adotada.

Fonte: Portaria 518/GM, de 25 de março de 2004. (BRASIL, 2004).

Ainda de acordo com a Portaria 518/2004, (BRASIL, 2004), no controle da qualidade da água, quando forem detectadas amostras com resultado positivo para coliformes totais, mesmo em ensaios presuntivos, novas amostras devem ser coletadas em dias imediatamente sucessivos até que as novas amostras revelem resultado satisfatório.

Nos sistemas de distribuição, a coleta deve incluir, no mínimo, três amostras simultâneas, sendo uma no mesmo ponto e duas outras localizadas a montante e a jusante. Amostras com resultados positivos para coliformes totais devem ser analisadas para *Escherichia coli* e, ou, coliformes termotolerantes, devendo, neste caso, ser efetuada a verificação e confirmação dos resultados positivos. O percentual de amostras com resultado positivo de coliformes totais em relação ao total de amostras coletadas nos sistemas de distribuição deve ser calculado mensalmente, excluindo as amostras extras (coleta).

O resultado negativo para coliformes totais das amostras extras (recoletas) não anula o resultado originalmente positivo no cálculo dos percentuais de amostras com resultado positivo.

Outras diretrizes da Portaria 518/2004 (BRASIL, 2004):

- Toda água fornecida coletivamente deve ser submetida a processo de desinfecção, concebido e operado de forma a garantir o atendimento ao padrão microbiológico desta norma.
- Toda água para consumo humano suprida por manancial superficial e distribuída por meio de canalização deve incluir tratamento por filtração.
- Em todos os momentos e em toda a sua extensão, a rede de distribuição de água deve ser operada com pressão superior à atmosférica.
- Caso essa situação não seja observada, fica o responsável pela operação do serviço de abastecimento de água obrigado a notificar a autoridade de saúde pública e informar à população, identificando períodos e locais de ocorrência de pressão inferior à atmosférica.

- Excepcionalmente, caso o serviço de abastecimento de água necessite realizar programa de manobras na rede de distribuição, que possa submeter trechos a pressão inferior à atmosférica, o referido programa deve ser previamente comunicado à autoridade de saúde pública.
- O responsável pelo fornecimento de água por meio de veículos deve:
 - I – Garantir o uso exclusivo do veículo para este fim.
 - II – Manter registro com dados atualizados sobre o fornecedor e, ou, sobre a fonte de água.
 - III – Manter registro atualizado das análises de controle da qualidade da água.

A água fornecida para consumo humano por meio de veículos deve conter um teor mínimo de cloro residual livre de 0,5 mg/L.

O veículo utilizado para fornecimento de água deve conter, de forma visível, em sua carroceria, a inscrição: “ÁGUA POTÁVEL”.

Instrumentos, equipamentos, inspeção e manutenção

Após a aquisição dos frascos de meio de cultura *Coliscan Easygel* são armazenados em *freezer* ou geladeira até o uso. A data de vencimento deverá constar nos frascos. É importante escrever nas caixas dos frascos a data de validade do referente lote para enfatizar a importância do uso dentro do prazo recomendado.

As placas de Petri e micropipetas estéreis deverão ser inspecionadas para se verificar algum defeito (isto é, placas quebradas ou pacotes de micropipetas abertos) e descartar-se o material encontrado com defeito.

A oficina de formação e o manual fornecem instruções para se evitar a contaminação antes da amostragem, como manter a micropipeta esterilizada na embalagem até a coleta e etiquetarem-se as placas de Petri fechadas até a inoculação.

Calibração dos equipamentos

As calibrações são realizadas no equipamento e material utilizado para a análise bacteriológica. Todos os suprimentos e equipamentos são utilizados apenas uma vez e depois descartados (SISTE et al., 2009). Outros materiais de uso permanente, como a incubadora, em perfeitas condições, podem ser reutilizados, mas devem ser inspecionados e higienizados periodicamente.

Inspeção e requisitos de aceitação de abastecimento dos Kits

Os kits e suprimentos são inspecionados quando recebidos. Após a verificação, os itens quebrados ou defeituosos são devolvidos para substituição. O escritório da comissão gestora do projeto deve ter um freezer funcional para armazenar os lotes de meios bacteriológicos, no primeiro momento, após a distribuição dos kits entre os parceiros é importante que sejam mantidos sob refrigeração em freezer sob responsabilidade dos parceiros.

Avaliação e Supervisão

Aplicações e ações de respostas

Como reflexo dos resultados obtidos, são estudados planos de ações da própria comunidade, diante dos resultados levantados no decorrer do monitoramento. Articulação com órgão competente, em caso de poluição, e degradação ambiental registradas no período de monitoramento.

Os planos de ações devem ser discutidos com líderes comunitários e representantes responsáveis pela gestão da bacia hidrográfica.

Um número de telefone e endereço de *e-mail* do escritório do projeto é fornecido a todos os monitores para facilitar a comunicação a respeito das técnicas, problemas de qualidade de água, ou outras preocupações.

Relatórios

Todos os dados bacteriológicos são apresentados em relatórios semestrais e anuais, elaborados pelos Coordenadores do projeto e também pelo grupo de Vigilantes da Água, que podem apresentar suas experiências e sugerir melhorias. Os resultados são apresentados em encontros dos grupos e discutidos comparativamente com os resultados obtidos nas calibrações periódicas.

Esses relatórios consistem em avaliação global das atividades do programa, que incluem implementação do protocolo, os resultados das atividades das oficinas de reciclagem, a reposição de *kits* e equipamentos, o número de formulários de registros de dados recebidos, e qualidade dos dados. Os relatórios também devem conter o número de pontos de vigilância bacteriológica e amostras por grupo, distribuídos por bacias hidrográficas.

Validação e Uso dos Dados

Necessidade de revisão dos dados, validação e verificação

Todos os dados de campo serão revistos pela equipe gestora para determinar se os resultados cumprem os objetivos com base nos critérios de precisão, exatidão, representatividade, comparabilidade e perfeição.

As decisões de rejeição de dados são feitas pela equipe gestora do projeto. A aceitação de dados baseia-se na verificação de certificação do monitor, validação dos meios de cultura e condição do kit, critérios adotados de amostragem e analíticos, representatividade dos pontos de amostragem.

Métodos de avaliação e verificação

As oportunidades para garantir a qualidade dos dados serão criadas de acordo com o programa. Reuniões técnicas, coleta de dados, estudos de casos, erros em comum entre os grupos serão abordados em destaque nos treinamentos de nivelamento, seminários, auditorias em campo e encontros dos grupos durante o ano.

Na ficha de registro de análise tem um campo reservado para observações que incluiria uma anotação para eventos de chuva nas oito horas antes da amostragem, a fim de explicar elevadas concentrações de bactérias que podem ser associados à enxurrada. As águas da chuva podem arrastar material para dentro do corpo d'água, inclusive diversas bactérias.

Determinar dados absurdos é difícil porque as concentrações de bactérias, frequentemente, não são previsíveis. Alta variabilidade entre as amostras idênticas é motivo para suspeitar de erro de amostragem e os monitores são incentivados a verificarem esses resultados com testes adicionais. As fórmulas para os cálculos (Número de colônias / volume de amostra) são incorporadas ao banco de dados para garantir resultados precisos e padronizados.

Além dos esforços realizados nas oficinas e sessões de treinamento (Figura 11) para controlar a qualidade dos dados, medidas adicionais serão tomadas, como a formação dos monitores sobre como verificar os seus próprios dados antes de enviá-los e a importância do cuidado de completar todas as lacunas de informações dos formulários.



Figura 11. Encontro promovido para discussão e avaliação dos resultados.

Importância da qualidade dos dados

Monitores são treinados nas oficinas sobre a metodologia da análise bacteriológica para identificarem corretamente os tipos de colônias presentes com base em suas cores e para calcularem níveis de *E. coli* e Coliformes totais por 100 ml. Eles também são treinados para verificarem níveis elevados de *E. coli* com testes adicionais, ou entrarem em contato com o escritório do Projeto Vigilantes da Água para uma avaliação oficial.

Os estudos de laboratório indicam que as técnicas que normalmente são utilizadas resultam em baixa variabilidade da concentração de *E. coli*, por conseguinte, os monitores são instruídos a fazerem repetições e nova amostragem para verificarem seus dados iniciais.

Os dados bacteriológicos coletados pelos monitores não são utilizados para aplicação da lei ou regulamento, mas são consideradas como um “primeiro alerta”. Problemas detectados e verificados pelos grupos de Vigilantes da Água receberão uma maior atenção por profissionais.

Referências

ALABAMA WATER WATCH. **Bacteriological monitoring**. Auburn: Auburn University, 2006. 82 p.

ALABAMA WATER WATCH. **Quality assurance plan for bacteriological monitoring**. Auburn: Auburn University, 1999. 63 p.

APHA. **Standard methods for the examination of water and waste water**. 18. ed. Washington D. C. : Academic Press, 1992. p. 214-218.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 518/GM, de 25 de março de 2004. **Estabelece os procedimentos e responsabilidades relativos ao controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade, e dá outras providências**. Disponível em: <<http://dtr2001.saude.gov.br/sas/PORTARIAS/Port2004/GM/GM-518.htm>>. Acesso em: 30 dez. 2010.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Resolução CONAMA nº 274, de 29 de novembro de 2000. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/res/>>. Acesso em: 30 dez. 2010.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Resolução CONAMA nº 357, de 17 de março de 2005. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/res/>>. Acesso em: 30 dez. 2010.

SISTE, C. E.; GIRÃO, E. G.; DUNCAN, B. L. (Org.). **Manual prático para formação e capacitação de grupos comunitários em métodos de monitoramento de qualidade da água – módulo II: avaliação bacteriológica da água**. Fortaleza : Embrapa Agroindústria Tropical, 2009. 64 p. (Embrapa Agroindústria Tropical. Documentos, 120).

Embrapa

Agroindústria Tropical

Apoio



**GOVERNO DO
ESTADO DO CEARÁ**
*Conselho de Políticas e Gestão
do Meio Ambiente*



Ministério da
**Agricultura, Pecuária
e Abastecimento**

GOVERNO FEDERAL
BRASIL
PAÍS RICO É PAÍS SEM POBREZA