

CETESB

COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL

DIRETORIA DE TECNOLOGIA, QUALIDADE E AVALIAÇÃO AMBIENTAL
DEPARTAMENTO DE ANÁLISES AMBIENTAIS

Relatório Técnico

Monitoramento de *Escherichia coli* e coliformes termotolerantes em pontos da rede de avaliação da qualidade de águas interiores do Estado de São Paulo

SÃO PAULO, 2008

Monitoramento de *Escherichia coli* e coliformes termotolerantes em pontos da rede de avaliação da qualidade de águas interiores do Estado de São Paulo

AUTORES

Maria Inês Zanolli Sato - TL

Elayse Maria Hachich - TLTM

Nelson Menegom Jr. - TQA

Adalgisa Maria de Jesus Melo - TLTM

Maria Cristina LS Coelho - TLTM

Marisa Di Bari - TLTM

Solange Rodrigues Ramos - TLTM

INTRODUÇÃO

As bactérias do grupo coliforme têm sido utilizadas há vários anos na avaliação da qualidade microbiológica de amostras ambientais (ROMPRÉ et al 2002, TALLON et al. 2005), e atendem vários dos requisitos de um bom indicador de contaminação fecal. Para sua definição, sempre foram utilizados mais os critérios baseados nas técnicas utilizadas nas análises que a taxonomia clássica. Assim, publicações da Organização Mundial da Saúde e da Associação Americana de Saúde Pública incluem nessa definição características tais como capacidade de fermentação da lactose em presença de agentes tensoativos, nas temperaturas de 35°C (coliformes totais) ou 44-45°C (coliformes fecais ou termotolerantes), com formação de ácido, gás e aldeído (APHA 2005, WHO 2004). Num extenso trabalho de revisão sobre avanços na bacteriologia dos coliformes, LECLERC et al. 2001 discutem igualmente o assunto e justificam a adoção de uma definição mais ampla, que incluiria nesse grupo todas as bactérias da família Enterobacteriaceae que possuem a enzima β -D-galactosidase. Esses autores também relatam que o grupo dos coliformes assim definido possui 19 gêneros e 80 espécies. A maioria desses organismos está presente em vários ambientes (solo, águas superficiais, trato intestinal humano e de animais, peixes, moluscos, plantas, insetos e roedores). A *Escherichia coli*, componente desse grupo que possui a capacidade de crescer e fermentar a lactose na temperatura mais elevada, tem seu habitat quase que exclusivamente limitado ao trato intestinal de seres humanos e animais de sangue quente, enquanto que as demais bactérias termotolerantes definidas como coliformes possuem o mesmo habitat mas são mais abundantes no ambiente.

Embora já na década de 70 fossem conhecidas as limitações dos coliformes termotolerantes como indicadores da contaminação fecal de amostras ambientais, os métodos para identificação de *E. coli* eram ainda caros, complexos e demorados, sendo assim facilmente disponíveis apenas para laboratórios especializados (EDBERG et al 2000). Na década de 80, o desenvolvimento de métodos analíticos baseados na presença de enzimas de determinados grupos de microrganismos, como por exemplo a β -D-glicuronidase, que está presente em 95% das linhagens de *E. coli*, permitiu que as análises dessa bactéria fossem adotadas na rotina dos laboratórios de análises bacteriológicas de água (EDBERG et al. 2000, TALLON et al. 2005). Atualmente, são disponíveis no mercado meios de cultura seletivos aos quais são incorporados substratos específicos para enzimas de diferentes grupos de microrganismos, eliminando a necessidade de testes confirmativos para detecção e quantificação desses organismos. Vários estudos realizados

em diferentes países compararam a eficiência dos métodos baseados em substratos definidos com os métodos tradicionais (EDBERG et al. 1988, BRENNER et al. 1993, GRANT 1997, ECKNER 1998, ALONSO et al. 1999, FRANCY & DARNER 2000, GEISSLER et al. 2000, YAKUB et al. 2002, NOBLE et al. 2003, HAMILTON et al. 2005).

A legislação canadense e a européia adotam os enterococos a *E. coli* para avaliação da qualidade de águas recreacionais (HEALTH AND WELFARE CANADA 1992, EUROPEAN PARLIAMENT 2006), estabelecendo para a *E. coli* valores máximos de 200/100mL (média geométrica de cinco amostras coletadas durante um período de 30 dias) e de 900/100mL (percentil 90 de pelo menos 8 amostras coletadas durante o período de maior frequência de banhistas).

Segundo um estudo epidemiológico realizado em praias de Hong Kong, a média geométrica de 610/100mL de *E. coli* corresponde a um risco microbiológico aceitável de doença (sintomas gastro-intestinais de alta credibilidade e afecções dermatológicas) de 15 em 1000 banhistas (Wong 1994).

Em estudos realizados pela Agência Ambiental Americana, foi demonstrado que a *E. coli* e os enterococos são os melhores indicadores de ocorrência de gastroenterites em nadadores. Portanto, essa instituição recomenda a adoção desses organismos para avaliação de águas destinadas à recreação de contato primário, estabelecendo para a *E. coli* um valor máximo de 126/100mL (média geométrica de 5 amostras coletadas durante um período de 30 dias), correspondente a uma taxa de doença gastrintestinal de 8 em 1000 nadadores, derivada de estudos epidemiológicos (USEPA 1984). Levando-se em conta o critério anteriormente adotado para coliformes termotolerantes (média geométrica de 200/100mL) esse valor de *E. coli* corresponde a 63% do valor de coliformes termotolerantes.

Embora a *E. coli* seja a bactéria predominante do grupo dos coliformes termotolerantes, vários estudos realizados em diferentes condições encontraram proporções variáveis entre 84% e 104%, para as concentrações desses microrganismos, conforme relatado por de HAMILTON et al. 2005. Garcia-Armisen et al. 2007 compararam as proporções de *E. coli* e coliformes termotolerantes em 166 amostras de água coletadas na bacia do rio Sena, na França. Os resultados obtidos indicaram uma correlação elevada entre as contagens e uma proporção de *E. coli*/coliformes termotolerantes de 0,77. Segundo esses autores, esse valor poderá ser utilizado para converter dados históricos de coliformes termotolerantes para *E. coli*, uma vez que a legislação européia irá adotar a *E. coli* como critério de qualidade de águas recreacionais.

A Resolução CONAMA 357/2005, que dispõe sobre a classificação de corpos de água e diretrizes ambientais para seu enquadramento, utiliza os coliformes termotolerantes como padrão de qualidade microbiológica, mas permite sua substituição pela *Escherichia coli*, de acordo com critérios estabelecidos pelo órgão ambiental competente (BRASIL 2005). Para que esses critérios pudessem ser estabelecidos com segurança para os corpos de água do Estado de São Paulo, foi realizado um estudo, no período de 2004-2005, no qual os coliformes termotolerantes e a *E. coli* foram analisados simultaneamente em 18 pontos de coleta da “Rede de Monitoramento da Qualidade das Águas Interiores do Estado de São Paulo” e em 7 pontos do “Programa de Balneabilidade das Praias em Reservatórios” (Billings e Guarapiranga).

Durante o ano de 2005, as análises de *E. coli* foram também realizadas com uma técnica de membrana filtrante desenvolvida pela Agência Ambiental Americana (USEPA 2002), que utiliza um substrato cromogênico. Nesse caso, pretendia-se avaliar o desempenho desse método, que proporciona resultados confirmativos em 24 horas, com o objetivo de adotá-lo para o futuro monitoramento da *E. coli* em corpos de água no Estado de São Paulo.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostragem

Foram selecionados corpos d'água que apresentaram diferentes faixas de contaminação microbiana (concentração média de coliformes termotolerantes em 2002) e diferentes fontes de poluição (urbana e agrícola), em 18 pontos da “Rede de Avaliação da Qualidade das Águas Interiores do Estado de São Paulo”, nas UGRHIs (Unidade de Gerenciamento de Recursos Hídricos) 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 10, 15, 17, 20 e em 7 pontos do “Programa de Balneabilidade das Águas Interiores do Estado de São Paulo”. As amostras foram coletadas a cada 2 meses durante todo o ano. A descrição de cada ponto de coleta pode ser observada na Tabela 1.

Tabela 1 – Descrição dos pontos de coleta

REDE DE AVALIAÇÃO DAS ÁGUAS INTERIORES DO ESTADO DE SÃO PAULO		
Nª e Nome da UGRHI	Descrição do Ponto	Código do Ponto
2 – Paraíba do Sul	R. Paraíba, captação de Jacareí	PARB02200
3 – Litoral Norte	R. Grande, captação de Ubatuba	GRAN02400
4 – Pardo	R. Pardo, clube Regatas de Ribeirão Preto	PADO02500
5 – Piracicaba, Capivari, Jundiaí	R. Atibaia, captação Atibaia	ATIB02010
	R. Jaguari, captação de Paulínia e Hortolândia	JAGR02500
	R. Corumbataí, captação de Piracicaba	CRUM02500
	R. Capivari, captação de Campinas	CPIV02130
6 – Alto Tietê	R. Tietê, ponte dos Remédios	TIET04200
	R. Tietê, captação de Mogi das Cruzes	TIET02090
	R. Baquirivú-Guaçú, ponte na R. Iwasse, Guarulhos	BQGU03200
	R. Jundiaí, canal de interligação com res. Taiapuê	JNDA00500
7 – Baixada Santista	R. Mogi, ponte rodov. Piaçaguera-Cubatão, Guarujá.	MOGI02800
9 – Mogi Guaçú	R. Mogi-Guaçú, ponte rodov. Sertãozinho Pitangueiras	MOGU02900
10 – Sorocaba-Médio Tietê	R. Sorocaba, captação de Cerquilha	SORO02700
	R. Tietê, ponte na estrada Faz. Sto. Olegário, L. Paulista	TIET02450
15 – Turvo Grande	Rio Preto, ponte na rodov. que liga Ipiguá a BR 153	PRETO02300
17 – Médio Paranapanema	R. Pardo, captação de Ourinhos	PADO02600
20 – Aguapeí	R. Aguapeí, ponte Parapuã-Penápolis	AGUA02100

cont. Tabela 1 – Descrição dos pontos de coleta

PROGRAMA DE BALNEABILIDADE DAS PRAIAS INTERIORES DO ESTADO DE SÃO PAULO		
Reservatório	Descrição do Ponto	Código do Ponto
Billings	Prainha em frente a ETE	BILL02801
	Prainha próxima ao Zôo do Pque. Municipal	RGDE02851
	Prainha do Jardim Los Angeles	BILL02401
Guarapiranga	Parque Guarapiranga	GUAR00901
	Próximo ao restaurante do Odair	GUAR00601
	Marina Guarapiranga	GUAR00702
	Clube de Campo Castelo	GUAR00502

As amostras foram coletadas em frascos estéreis, em volumes de 500mL, seguindo-se a metodologia descrita no “Standard Methods” (APHA, 2005a). Após as coletas, as amostras foram mantidas e transportadas em caixas de isopor contendo gelo reciclado, para manutenção da temperatura na faixa de 2°- 8°C. As análises microbiológicas foram realizadas 24 horas após as coletas.

Análises microbiológicas

A análise de coliformes termotolerantes foi realizada pela técnica de membrana filtrante, utilizando-se o ágar mFC (Difco), e a diferenciação para *E. coli* foi feita com o uso do meio EC-MUG (Difco) conforme descrito no “Standard Methods” (APHA 2005b).

Foram filtrados volumes variáveis, de acordo com grau de contaminação da amostra, de forma que fossem obtidas contagens de 20 a 60 colônias por placa. A incubação foi realizada a $44,5^{\circ} \pm 0,2^{\circ}\text{C}$ durante 24 horas. Após esse período, foi realizada a contagem das colônias típicas de coliformes termotolerantes, de coloração azul.

Para a diferenciação da *E. coli*, pelo menos 10 colônias da placa utilizada para contagem foram transferidas para o meio EC-MUG, que foi incubado a $44,5^{\circ} \pm 0,2^{\circ}\text{C}$ durante 24 horas. Culturas que apresentaram fluorescência sob luz UV de comprimento de onda de 365nm foram consideradas provenientes de colônias positivas para *E. coli*. Simultaneamente, as colônias submetidas à diferenciação com EC-MUG foram inoculadas em ágar eosina-azul de metileno para isolamento, e as colônias típicas para coliforme nesse meio, que eram provenientes de colônias negativas no meio EC-MUG, foram submetidas à identificação com uma galeria de testes bioquímicos disponível comercialmente (API 20E, Biomérieux).

As amostras coletadas durante o ano de 2005 também foram analisadas pela técnica de membrana filtrante utilizando-se o ágar m-TEC modificado que contém o substrato cromogênico 5-bromo-6-cloro-3-indolil β -D-glicuronídeo para a enzima β -D-glicuronidase, presente em 95% das linhagens de *E. coli*. Após filtração e transferência das membranas para esse meio, as placas foram incubadas a $44,5^{\circ} \pm 0,2^{\circ}\text{C}$, durante 22 horas, após uma pré-incubação de 2 horas a $35 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$. As colônias de coloração vermelho-escura (magenta) nesse meio foram contadas como *E. coli* sem outras etapas de confirmação (USEPA 2002).

Análises estatísticas

Os dados foram convertidos em logaritmo de base 10 para verificar se os mesmos apresentavam uma distribuição normal.

Para a comparação dos métodos de análise de *E. coli* com os meios ágar mFC + EC-MUG e ágar mTEC modificado foi realizado o teste t pareado.

Com o objetivo de avaliar-se a relação entre as concentrações de coliformes termotolerantes e de *E. coli*, obtidas tanto diretamente com o meio agar mTEC modificado (n=166) como após diferenciação dos coliformes termotolerantes com o meio EC-MUG (n=380), foi estabelecido um modelo de Regressão Linear Simples.

Todas essas análises estatísticas foram realizadas para a totalidade dos dados e também se eliminando os resultados cuja concentração de coliformes termotolerantes fosse superior a 4000 UFC (Unidades Formadoras de Colônia)/100mL, uma vez que este é o maior valor estabelecido pela Resolução CONAMA 357/2005, para este parâmetro, para determinados usos das águas de Classe 3.

RESULTADOS

A porcentagem média de *E. coli* identificada com o meio EC-MUG a partir dos coliformes termotolerantes isolados no ágar mFC foi de 84,3%. Outros dados descritivos sobre essas porcentagens, bem como quanto à proporção entre *E. coli* detectada pelo ágar mTEC modificado e coliformes termotolerantes do ágar mFC podem ser observados na Tabela 2.

Tabela 2 – Dados descritivos para a porcentagem de *E. coli* com relação a coliformes termotolerantes para os dois métodos de análise utilizados

	mFC/EC-MUG	mFC/ mTEC
Número de amostras	380	166
Média	84,3 %	84,6%
Desvio padrão	18,1%	39,5%
Intervalo de confiança 95%	[82,4% -86,1%]	[78,6%-90,7%]
Mediana	90,0%	84,6%
Mínimo	0%	5%
Máximo	100%	319%

O teste t pareado, aplicado aos resultados da análise de *E. coli*, demonstrou que não existem diferenças significativas entre os resultados obtidos com os meios de cultura agar mFC+EC-MUG e agar mTEC modificado ($p < 0,01$). Entretanto, em várias amostras (assinaladas nas planilhas do Anexo 1) as concentrações de *E. coli* no agar mTEC modificado foram superiores às concentrações de coliformes termotolerantes, e em 12 amostras a proporção entre esses dois microrganismos variou entre 1,30 e 3,19 (Tabela 3).

Nas figuras 1 a 8, podem ser observados o diagrama de dispersão e a reta de regressão linear para todos os dados.

Na Tabela 4 estão apresentados os parâmetros estatísticos obtidos pela regressão linear. Na Tabela 5, estão descritas as outras espécies de coliformes termotolerantes isoladas no agar mFC, negativas com o meio EC-MUG e identificadas com o sistema API.

Nos Anexos 1 e 2, estão apresentados os resultados das análises de coliformes termotolerantes e *E. coli* para cada ponto e data de coleta e os dados estatísticos referentes à análise de variância.

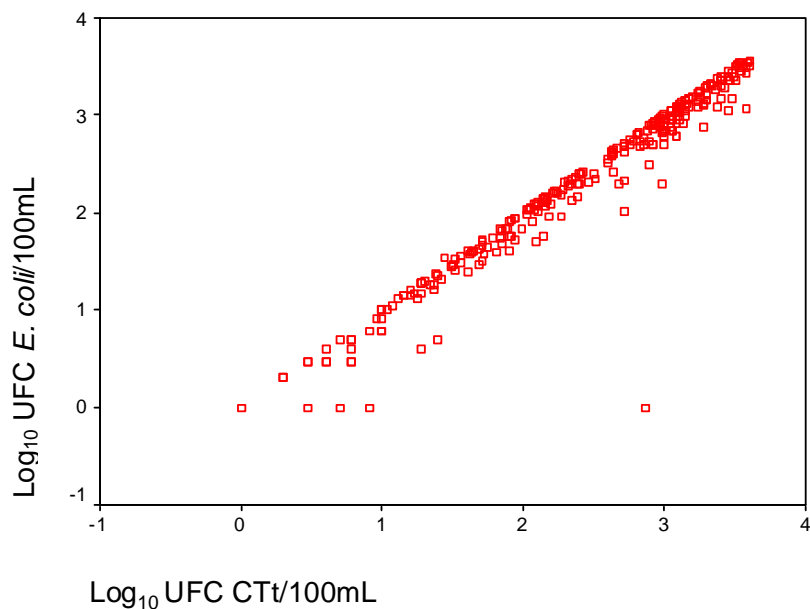


Figura 1 – Diagrama de dispersão das concentrações de coliformes termotolerantes inferiores a 4000UFC/100mL (ágar mFC) e de *E. coli* meio (EC-MUG)

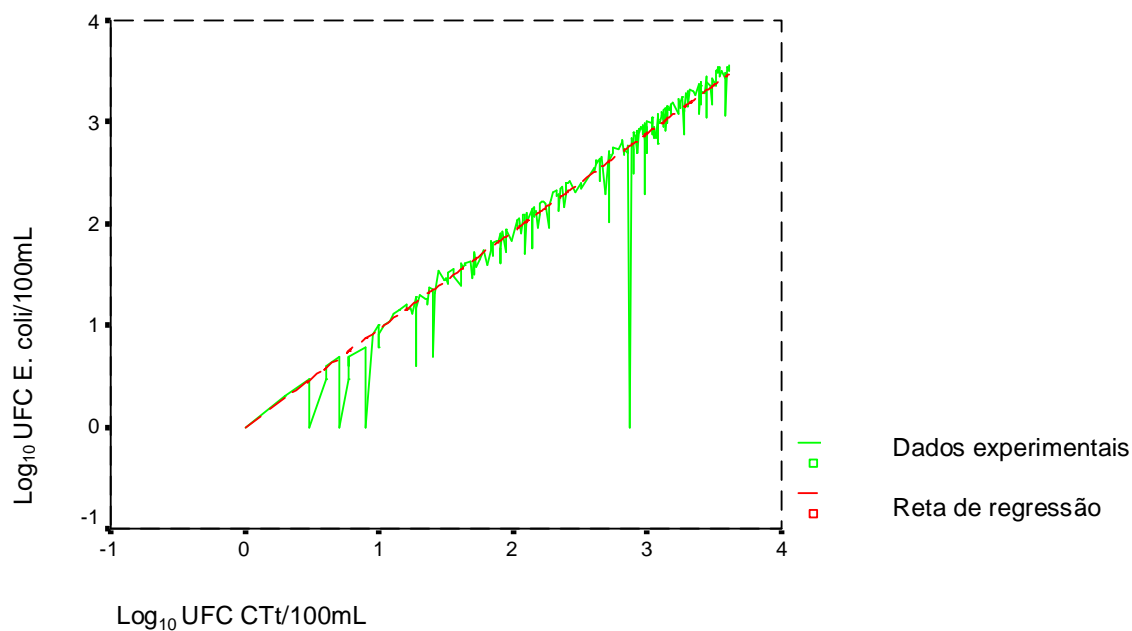


Figura 2 – Regressão linear entre as concentrações de coliformes termotolerantes inferiores a 4000 UFC/100mL (ágar mFC) e *E. coli* (meio EC-MUG)

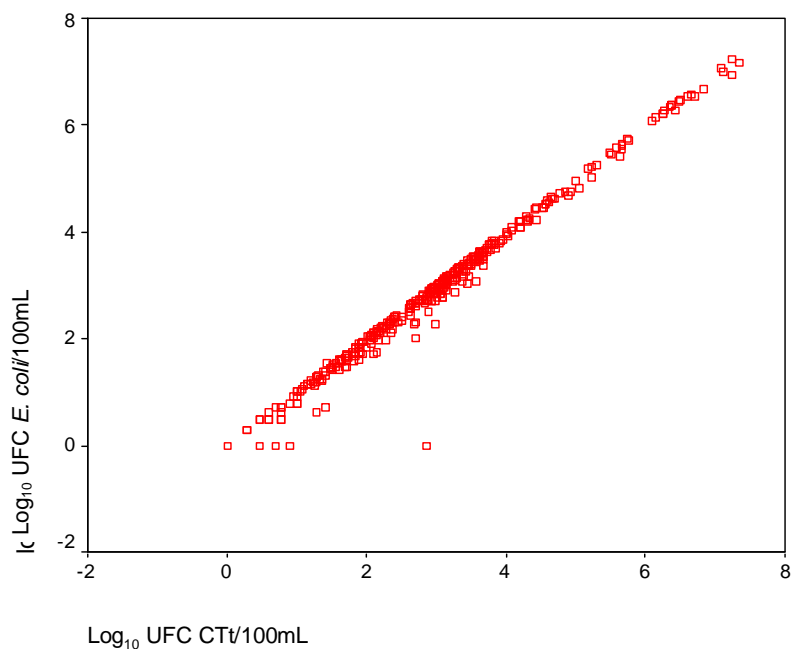


Figura 3 - Diagrama de dispersão das concentrações de coliformes termotolerantes (ágar mFC) e de *E. coli* (EC-MUG)

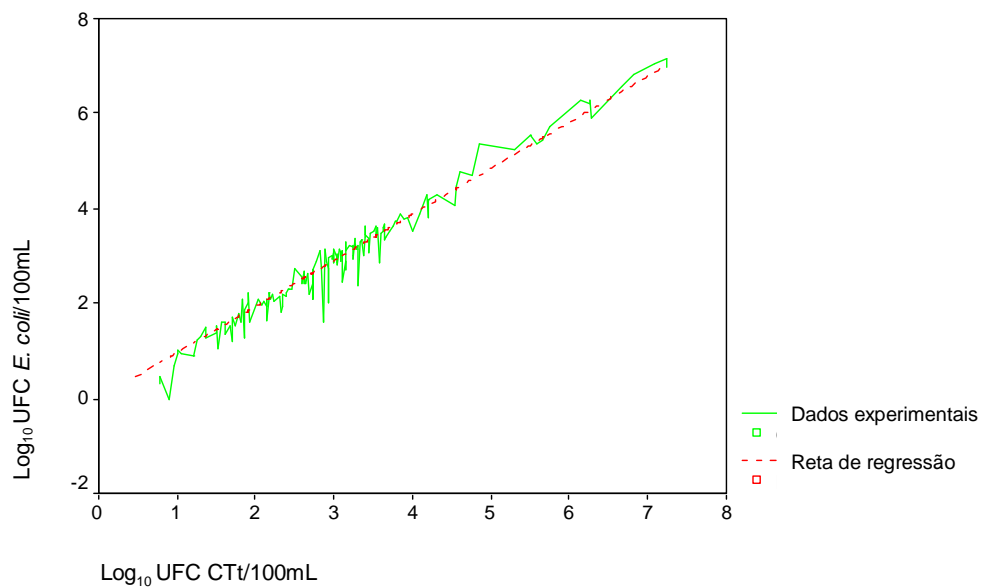


Figura 4 – Regressão linear entre as concentrações de coliformes termotolerantes (ágar mFC) e *E. coli* (EC-MUG)

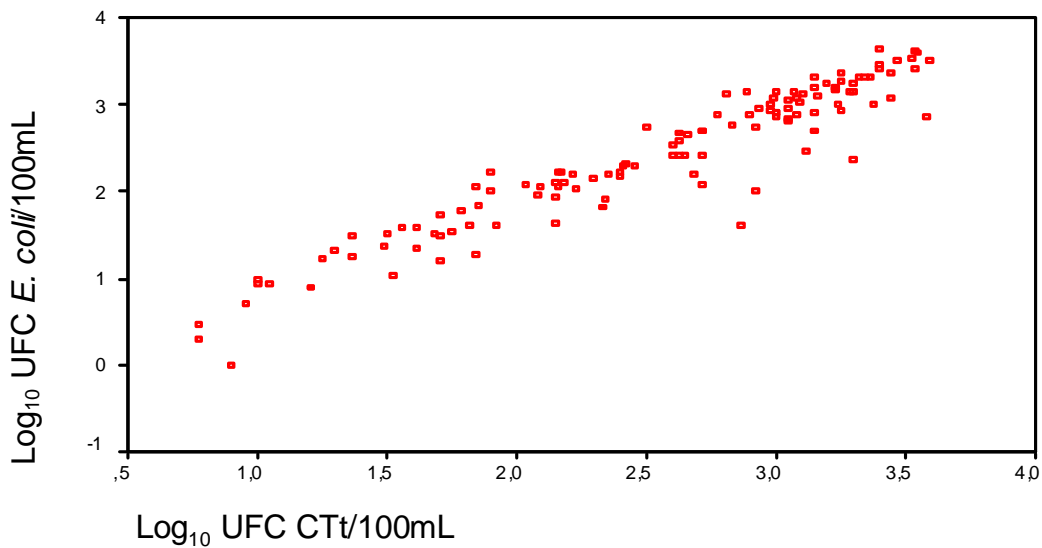


Figura 5 – Diagrama de dispersão das concentrações de coliformes termotolerantes inferiores a 4000UFC/100mL (agar mFC e de *E. coli* (agar mTEC modificado))

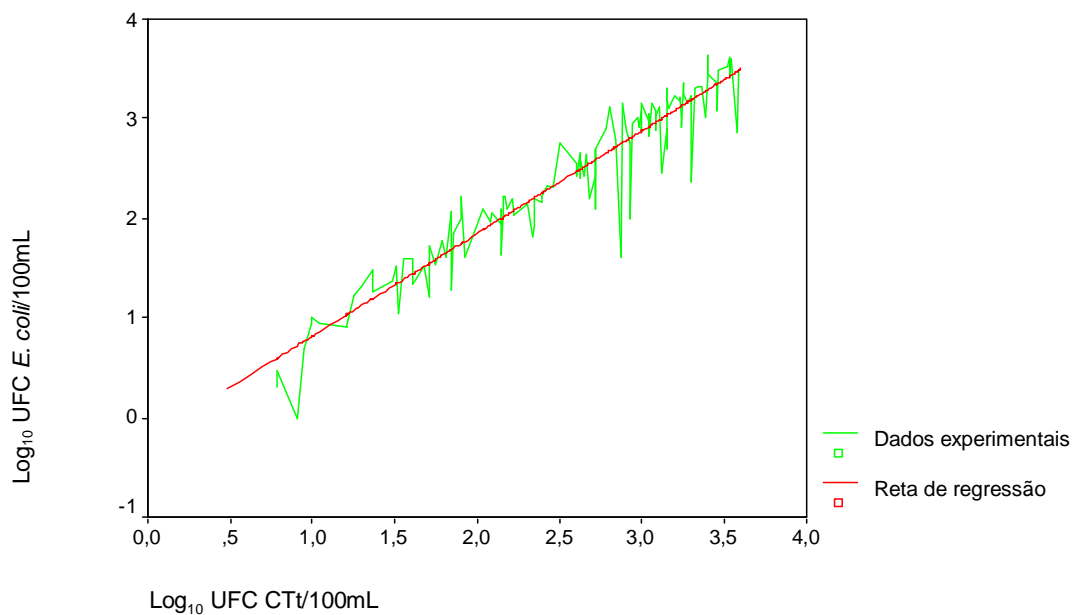


Figura 6 – Regressão linear entre as concentrações de coliformes termotolerantes inferiores a 4000UFC/100mL (agar mFC e de *E. coli* (agar mTEC modificado))

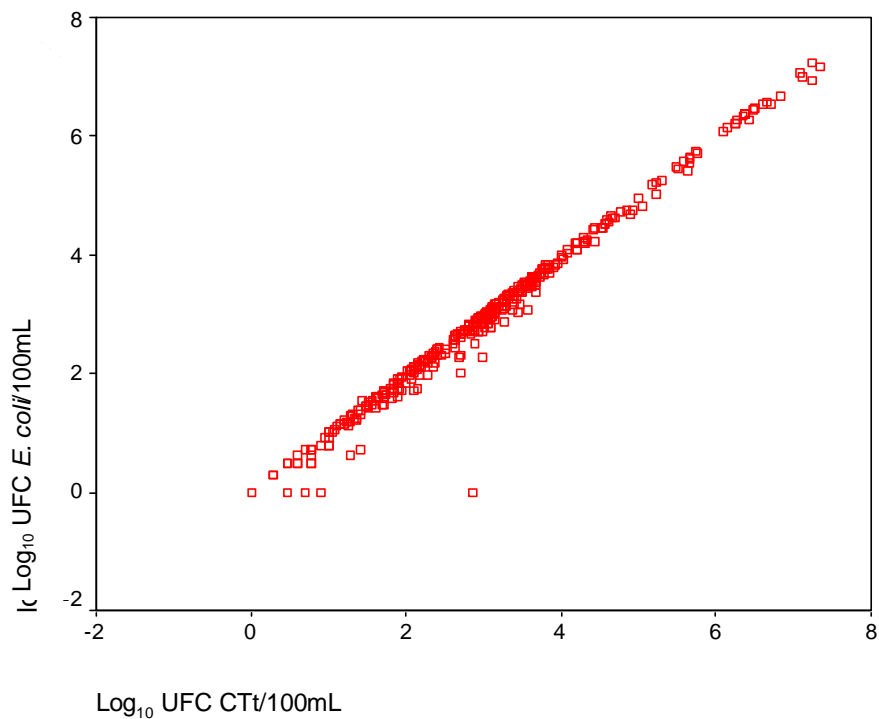


Figura 7 – Diagrama de dispersão das concentrações de coliformes termotolerantes (ágar mFC) e *E. coli* (agar mTEC modificado)

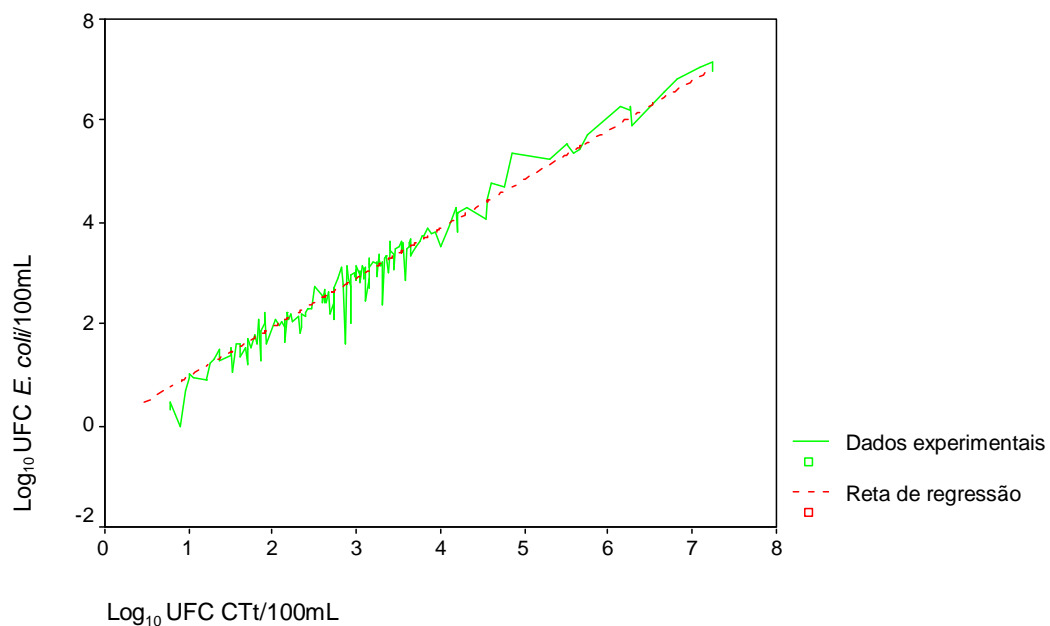


Figura 8 – Reta de regressão entre as concentrações de coliformes termotolerantes (ágar mFC) e *E. coli* (agar mTEC modificado)

Tabela 3 – Densidades de *E. coli*, CTs e proporção *E. coli*/CTt em 12 amostras

Local de Coleta	Data de Coleta	<i>E. coli</i> (UFC/100mL)	Coliformes termotolerantes (UFC/100mL)	Proporção <i>E. coli</i> /CTt
R. Paraíba, captação Jacareí	24/02/05	780	600	1,30
R. Tietê, Laranjal Paulista	03/03/05	4.300	2500	1,72
R. Aguapeí, Parapuã-Penápolis	23/08/05	168	80	2,10
R. Tietê, captação Mogi Cruzes	13/09/05	117	69	1,69
R. Grande, captação Ubatuba	14/09/05	560	320	1,75
R. Capivari, captação Campinas	03/10/05	220.000	69.000	3,19
	12/12/05	1.300	640	2,03
R. Mogi, rodovia Piaçaguera	19/10/05	1.400	760	1,84
Guarapiranga, Restaurante Odair	08/11/05	60.000	40.000	1,50
R. Pardo, captação Ourinhos	06/12/05	20.000	15.000	1,33
R. Mogi-Guaçú, r. Sertãozinho-Pitangueiras	07/12/05	1.400	1.000	1,40
R. Pardo, Regatas Rib. Preto	07/12/05	2.000	1.400	1,43

Tabela 4 – Parâmetros estatísticos da regressão linear e coeficiente de correlação de Pearson

DADOS (n)	r^2	r	p	Valor estimado de <i>E. coli</i> para 1000 CTt (UFC/100mL)		
				Média	ICi	ICs
Coliformes termotolerantes x <i>E. coli</i> (EC-MUG) <4000UFC/100mL (284)	0,992	0,996	<0,01	796	621	953
Coliformes termotolerantes x <i>E. coli</i> (EC-MUG) (380)	0,996	0,998	<0,01	847	712	1008
Coliformes termotolerantes x <i>E. coli</i> (agar mMTEC) <4000UFC/100mL (124)	0,900	0,951	<0,01	755	563	1014
Coliformes termotolerantes x <i>E. coli</i> agar mMTEC) (166)	0,971	0,985	<0,01	745	620	1030

UFC = Unidades Formadoras de Colônias; r^2 = Coeficiente de explicação; r = Coeficiente de correlação de Pearson.

ICi = Intervalo de confiança inferior 95%; ICs = Intervalo de confiança superior 95%

Tabela 5 – Número, porcentagem e espécies de coliformes termotolerantes isoladas em ágar mFC e negativas em EC-MUG

ESPÉCIE	NÚMERO (PORCENTAGEM)
<i>Klebsiella pneumoniae pneumoniae</i>	354 (60,6)
<i>Escherichia coli</i> (MUG -)	151 (25,9)
<i>Enterobacter cloacae</i>	20 (3,4)
<i>Klebsiella terrigena</i>	20 (3,4)
<i>Enterobacter aerogenes</i>	15 (2,6)
<i>Citrobacter freundii</i>	14 (2,4)
<i>Pantoea sp</i>	2 (0,3)
<i>Klebsiella pneumoniae ozaenae</i>	2 (0,3)
<i>Klebsiella ornithinolytica</i>	1 (0,2)
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	1 (0,2)
<i>Citrobacter youngae</i>	1 (0,2)
<i>Kluyvera sp</i>	1 (0,2)
<i>Leclercia adecarboxylata</i>	1 (0,2)
<i>Serratia liquefaciens</i>	1 (0,2)
TOTAL	584 (100)

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Conforme apresentado na Tabela 3, os coeficientes de correlação e de explicação comprovam a linearidade entre as concentrações de coliformes termotolerantes e *E. coli* para os 4 conjuntos de resultados. Os valores estimados das concentrações de *E. coli* equivalentes a 1000 UFC/100mL de coliformes termotolerantes nesses 4 conjuntos de dados são muito semelhantes. Pode-se portanto concluir, a partir desses resultados, que a porcentagem de *E. coli*/ coliformes termotolerantes nas amostras analisadas está na faixa compreendida entre 74,5% e 84,7%,

bastante próxima portanto do valor adotado pela RESOLUÇÃO CONAMA 274/2000 (Brasil 2000).

Foi comprovada estatisticamente a equivalência dos resultados de *E. coli* obtidos com os dois métodos de análise utilizados. Do ponto de vista analítico, o método que determinou as concentrações de *E. coli* com os meios ágar mFC e EC-MUG é considerado mais adequado para a estimativa da proporção entre os dois grupos de microrganismos, uma vez que a bactéria *E. coli* foi identificada dentre a população de coliformes termotolerantes isolada no ágar mFC. Quanto ao outro método analítico utilizado, essa proporção foi estimada a partir das contagens de coliformes termotolerantes em um meio (ágar mFC) e de *E. coli* em outro meio (ágar mTEC modificado). Existe, por outro lado, uma forte tendência para a utilização de métodos que empregam substratos cromogênicos, como o ágar mTEC modificado, ao invés dos métodos tradicionais, baseados na fermentação da lactose, o que justifica igualmente a utilização dos resultados obtidos com esse meio.

HAMILTON et al. 2005, num trabalho de revisão sobre métodos atualmente disponíveis para análise de *E. coli*, discutem a proporção de *E.coli*/coliformes termotolerantes observada em diferentes pesquisas, e, relatam que essa proporção, em alguns casos pode exceder o limite teórico de 1,0. Esses autores compararam as densidades de *E. coli* em amostras de água coletadas em pequenos corpos d'água, analisadas por técnicas utilizando substratos cromogênicos (Colilert, mColiBlue24, ágar nutriente com MUG) e técnicas tradicionais (ágar mFC e ágar mTEC), concluindo que os métodos enzimáticos recuperaram mais *E. coli*. Por outro lado, FRANCY & DARNER 2000 compararam as concentrações de *E. coli* em águas recreacionais doces, obtidas com ágar mTEC modificado e tradicional, concluindo que o meio cromogênico recuperou menores quantidades da bactéria.

No que diz respeito à identificação de outras enterobactérias, além da *Escherichia coli* MUG positivo (Tabela 5), a maioria (64,5%) pertencia ao gênero *Kebsiella*, com predominância de *K. penumoniae penumoniae* (60,6%). BORDALO, 1994, avaliando a recuperação de coliformes termotolerantes em diferentes ambientes aquáticos, identificou 82% das linhagens isoladas como pertencentes à espécie *E. coli* e 46,8% como pertencentes ao gênero *Klebsiella*, principalmente *K. penumoniae* e *K. oxytoca*. ALONSO et al. 1999, comparando o desempenho de meios de cultura cromogênicos na recuperação de coliformes termotolerantes e *E. coli*, identificou predominantemente a espécie *Citrobacter freundii*.

Quanto à comparação entre os dois métodos de análise de *E. coli*, foram obtidos resultados globais estatisticamente equivalentes com ágar mTEC modificado e os meios ágar mFC e caldo

EC-MUG, tradicionalmente utilizados na análise de *E. coli* e recomendados pelo “Standard Methods” (APHA 2005a), embora algumas amostras analisadas com ágar mTEC modificado tenham apresentado concentrações de *E. coli* superiores às concentrações de coliformes termotolerantes em ágar mFC. A técnica com ágar mTEC modificado, que permite a determinação da *E. coli* em 24 horas sem necessidade de etapas confirmativas, poderá portanto ser adotada pelos laboratórios da Sede e Agências para monitoramento da *E. coli* na Rede de Avaliação da Qualidade das Águas Interiores do Estado de São Paulo.

Levando-se em consideração os parâmetros estatísticos (média) da regressão linear entre as concentrações de *E. coli* e coliformes termotolerantes obtidos nesse trabalho (Tabela 4), poderia se adotar para a *E. coli* valores de 80% das concentrações de coliformes termotolerantes estabelecidas para as várias classes e usos das águas da Resolução CONAMA 357/2005. Recomenda-se entretanto, que a CETESB adote um critério mais conservativo, de 60%, que é o valor arredondado do limite inferior do intervalo de confiança para três dos quatro conjuntos de dados apresentados na Tabela 4. Este valor estaria bastante próximo da porcentagem de 63%, derivada da conversão dos critérios de balneabilidade da USEPA (200/100mL coliformes termotolerantes para 126 *E.coli*/100mL). Dessa forma, ao valor de 1000 coliformes termotolerantes estabelecidos para águas de classe 2 do CONAMA 357/2005 corresponderia um valor de 600 *E. coli*.

REFERÊNCIAS

Alonso J.L., Soriano, A., Carbajo, O., Amoros I., Garelick H. 1999 Comparison and recovery of *Escherichia coli* and thermotolerant coliforms in water with a chromogenic medium incubated at 41 and 44,5°C. **Appl. Environm. Microbiol.** **65** (8): 3746-49.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION 2005a. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. Standard Methods on line. 2005. Section 9060. Samples. Disponível em [<http://www.standardmethods.org>]. Acesso em 3 de setembro de 2007.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION 2005b. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. Standard Methods on line. 2005. Section 9222. Membrane filter technique for members of the coliform group. Disponível em <<http://www.standardmethods.org>> Acesso em 13/12/2005.

Bordalo A.A. 1994. Faecal coliform recovery in two standard media along an estuarine gradient. **Water Res.** **28** (11): 2331-2334.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Comissão Nacional do Meio Ambiente. **Resolução CONAMA 274, de 29 de dezembro de 2000**. Disponível em [<http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=272>]. Acesso em 30 de maio de 2008.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Comissão Nacional do Meio Ambiente. **Resolução CONAMA 357, de 17 de março de 2005**. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento. Disponível em <<http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res05/35705.pdf>>. Acesso em 23 de fevereiro de 2006.

Brenner K. P. et al. 1993. New medium for the simultaneous detection of total coliforms and *Escherichia coli* in water. **Appl. Environm. Microbiol.** **59** (11) : 3534-44.

Edberg S. C., Allen M. J., Smith, D. B. 1988. National field evaluation of a defined substrate method for the simultaneous enumeration of total coliforms and *Escherichia coli* from drinking water: comparison with standard multiple-tube fermentation method. **Appl. Environ. Microbiol.** **54** (6): 1595-1601.

Edberg S. C., Rice EW, Karlin, RJ, Allen MJ. 2000. *Escherichia coli*: the best biological drinking water indicator for public health protection. **J. Appl. Microbiol.** **88**:106S-116S.

Eckner K. F. 1998. Comparison of membrane filtration and multiple-tube fermentation by the Colilert and Enterolert methods for detection of waterborne coliform bacteria, *Escherichia coli* and enterococci used in drinking and bathing water quality monitoring in Southern Sweden. **Appl. Environm. Microbiol.** **64** (8): 3079-83.

European Parliament 2006. **Directive 2006/7/EC of the European Parliament and of the Council (15 Feb 2006) concerning the management of bathing water quality and repealing Directive 76/160/EEC.** Disponível em [<http://europa.eu/scaldplus/leg/en/lvb/28007.html>]. Acesso em 16.11.2007.

Francy D., Darner R.A. 2000. Comparison of methods for determining *Escherichia coli* concentrations in recreational waters. **Water Research** **34** (10): 2770-78.

Garcia-Armisen T. , Prats J., Servais P. 2007 Comparison of culturable fecal coliforms and *Escherichia coli* enumeration in fresh waters. *Can. J. Microbiol.* **53**: 798-801.

Geissler K., Manafi, M. , Amoros I., Alonso J. L. 2000. Quantitative determination of total coliforms and *Escherichia coli* in marine waters with chromogenic and fluorogenic media. **J. Appl. Microbiol.** **88**: 280-85.

Grant M. A. 1997. A new membrane filtration medium for simultaneous detection and enumeration of *Escherichia coli* and total coliforms. **Appl. Environm. Microbiol.** **63** (9): 3526-30.

Hamilton W.P., Kim M.K., Thackston E.L. 2005. Comparison of commercially available *Escherichia coli* enumeration tests: implications for attaining water quality standards. **Water Res** **39**:4869-4878.

Health and Welfare Canada 1992. **Guidelines for Canadian recreational water quality**. Disponível em [<http://www.hc-sc.gc.ca/ewh-semt/water-eau/recreat/index-e.html>]. Acesso em 16.11.2007.

Leclerc H. Mossel D. A. A., Edberg S. C. Struijk C. B. 2001. Advances in the bacteriology of the coliform group: their suitability as markers of microbial water safety. **Ann. Rev. Microbiology** **55**:201-34.

Noble R. T. et al. 2003 .Comparison of beach bacterial water quality indicator measurement methods. **Environm. Monitoring Assessment** **81**: 301-12.

Tallon P., Magajna B., Lofranco C., Leung K. T. 2005 Microbial indicators of faecal contamination in water: a current perspective. **Water, Air and Soil Pollution** **166**: 139-66.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. 2004 **Guidelines for drinking water quality**. Volume 1. Recommendations. 3rd ed. World Health Organization. Geneva.. Disponível em [http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/guidelines/en/index.html]. Acesso em 30 de maio de 2008.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY.1984. Health effects criteria for fresh recreational waters. EPA 600/1-84-004, August 1984. Disponível em [<http://www.epa.gov/nerlcwww/frc.pdf>]. Acesso em 12 de janeiro de 2011.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. Office of Water. 2002. **Method 1603: Escherichia coli (E. coli) in water by membrane filtration using modified membrane-thermotolerant Escherichia coli agar (modified mTEC)**. EPA 821-R-02-023. Set 2002. Disponível em [<http://www.epa.gov/nerlcwww/online.htm#1603>]. Acesso em 30 de maio de 2008.

Wong T. W. 1994. Swimming related illnesses in Hong Kong beaches: an epidemiological perspective. **J Hong Kong Med. Assoc.** **46**(1): 27-30.

Yakub G. P. et al. 2002. Evaluation of Colilert and Enterolert defined substrate methodology for wastewater applications. **Water Environment Research** **74** (2):131-35.