

***ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DA ÁGUA EM DIFERENTES PONTOS DA ORLA DO
MUNICÍPIO DE CARIACICA – ES***

***MICROBIOLOGICAL ANALYSIS OF WATER AT DIFFERENT POINTS ON THE
SEASIDE OF THE CITY OF CARIACICA – ES***

Alerrandra Faria da Cruz¹

Eclair Venturini Filho²

RESUMO: As poluições das águas podem ter diversas causas, sendo a mais comum o despejo de esgoto sem tratamento no mar, que representa grande risco para a saúde de banhistas, animais e plantas marinhas. O presente estudo consiste na aplicação de práticas analíticas em diversos pontos da Orla de Cariacica - ES, com estudos sobre a presença possíveis microrganismos e seus principais efeitos quando presentes na água. O objetivo foi realizar análises microbiológicas, pH e comparar resultados obtidos de acordo com a resolução CONAMA nº 274. As amostras de água foram coletadas em cinco pontos da Orla, sendo nomeados como Pontos de 1 a 5, de forma que pudesse ser encontrado alterações em todas das partes do local avaliado. As amostras foram levadas ao laboratório Labsales, onde foram feitas fabricações de placas Endo Les, sementeiras e medição de pH, além da utilização do laboratório de microbiologia do HIMABA, onde foram feitas provas bioquímicas das amostras. Os resultados analisados indicaram presença da bactéria Escherichia Coli, que foi encontrada nos 5 pontos analisados. Certamente devido ao despejo indevido de esgoto no mar, indicando que a água está imprópria para banho de acordo com as condições propostas pela instituição reguladora da resolução 274. A execução desse estudo permite uma avaliação importante para a sociedade que vive ao redor da Orla que depende socioeconomicamente da água local, compreendendo os riscos que a bactéria pode acarretar na saúde desses indivíduos. Ademais, permite-se alertar aos governantes necessidades de cuidados com a orla, diminuindo possíveis surtos de doenças.

ABSTRACT: The water pollution can have many causes, being the most common the sewage dump without sea treatment, which represents a great risk to the swimmers' health, animals and marine plants. This study consists of the application of analytical practices in some spots of Orla de Cariacica – ES, with studies about the possible presence of microorganisms and their main effects when present in water. The goal was to perform microbiological analyzes, pH and compare the obtained results with the CONAMA nº 274 resolution. The samples were taken to the Labsales laboratoy, where there were made Endo Les plaques, sowing and measuring of pH, beyond the use of the microbiology laboratory from HIMABA, where there were made biochemical tests of samples. The analyzed results showed the presence of the bactéria Escherichia Coli, which was found in the 5 analyzed spots. Certainly caused by the incorrect sewage dump in the sea, implying that the water is inappropriate for bathing according to the proposed conditions by the regulatory institution of the 274 resolution. The execution of this study allows an important appraisal to society that lives around the waterfront and depends socioeconomically on local water, understanding the risks the bacteria can cause on these people's health. Furthermore, it also allows to alert the rulers the necessities of taking care of the waterfront, decreasing potential disease outbreaks.

¹ Centro Universitário Salesiano – UniSales (alerrandrafaria963@gmail.com)

² Centro Universitário Salesiano – UniSales (efilho@salesiano.br)

1. INTRODUÇÃO

O Laboratório Ambiental é uma ferramenta indispensável no processo de gestão ambiental. Por meio deles, podem ser obtidos dados representativos para a compreensão da realidade, que é a base para a tomada de decisões. Discutem-se os pré-requisitos para alcançar a excelência na validação desses dados e hoje, para garantir sua confiabilidade, recomenda-se que os laboratórios de ensaio e calibração implementem uma série de requisitos compilados em textos normativos atuais como o NIT que tratam de princípios de boas práticas laboratoriais - padrão dicla-035 BPL1 e a ABNT NBR ISO/IEC 170252 especifica os requisitos gerais para a competência dos laboratórios de ensaio e calibração (GOMES e SABANI, 2011).

Ambas as normas especificam condições baseadas em requisitos que envolvem processos administrativos, técnicos, recursos humanos, materiais e infraestrutura, etc. No que diz respeito às instalações físicas de um laboratório ambiental, e mais especificamente relacionado à arquitetura e condições ambientais, as contribuições de muitos parâmetros precisam ser consideradas para garantir a integridade das amostras, o desempenho esperado das análises, a qualidade dos dados e o bem-estar das pessoas que utilizam o espaço (ABNT, 2005).

Dentro do contexto desses laboratórios ambientais está a poluição, onde as causam podem ser as mais diversas, sendo a mais comum o despejo de esgoto sem tratamento no mar, o que representa risco para a saúde de banhistas, animais e plantas marinhas. Nem sempre é possível ver a contaminação que torna as praias impróprias para banho. A *Escherichia coli* é considerada um microrganismo indicador, ou seja, quando presente na água pode indicar a ocorrência de contaminação fecal (pois é encontrada no intestino de mamíferos), a provável presença de outros microrganismos patogênicos, além de poder indicar condições higiênico-sanitárias inadequadas da água do mar (CRISTIANE et al., 2009).

Do mesmo modo os, manguezais são ecossistemas característico nas áreas costeiras do Brasil e estão distribuídos em países tropicais e subtropicais. Localizado em zonas de maré como lagoas costeiras, contornos de baías e estuários, é considerado um ecossistema de transição entre ambientes terrestres, marinhos e de água doce, com grandes flutuações de salinidade (BRAGA et al., 1989; SOUZA et al., 2008).

Devido à pressão da sociedade pela proteção do meio ambiente, a Política Nacional do Meio Ambiente (PNMA) foi elaborada como base para a implementação de resoluções que continuam apoiando atividades poluidoras potenciais ou efetivas até os dias atuais, como a Resoluções Conama nº 001/1986 e nº 237/1997 (CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE, 1997).

Portanto, toda atividade ou negócio que tenha potencial para causar danos ao meio ambiente deve passar por um processo de Avaliação de Impacto Ambiental (AIA), que analisa o problema identificando possíveis impactos ambientais e mede sua significância determinando o tamanho, extensão e impacto, e identificar ações de mitigação ou compensatórias. Mas, além do AIA, o Estudo de Impacto Ambiental é uma das ferramentas mais utilizadas no Brasil para planejar e prevenir mudanças ambientais antrópicas e é obrigatória no processo de licenciamento de projetos com atividades que alteram o meio ambiente (SCHERER, 2011).

Identificada a dificuldade de assimilação e interpretação dos impactos ambientais somente qualificados, o atual trabalho objetivou realizar a análise de pH da água, além das análises microbiológicas e com os resultados analisados comparar os parâmetros de balneabilidade com

os resultados obtidos. E com estes achados mostrar para a população se a água da Orla de Cariacica - ES está própria ou não para banho.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 ECOSSISTEMAS: IMPORTÂNCIA E PRESERVAÇÃO

Podemos definir impactos ambientais como as ações ou omissões humanas (influências ambientais), no contexto de sua realidade espacial e temporal, são caracterizadas como positivas ou negativas por um grupo social. O impacto ambiental inclui o conceito de julgamento, valor positivo (benéfico) ou negativo (prejudicial). Portanto, o conceito de impacto ambiental é relativo, pois os julgamentos e seu interior mudam com o espaço e o tempo (SILVA, 2011).

A análise ou avaliação de impacto ambiental - AIA é uma ferramenta da política ambiental nacional importante para a gestão institucional de programas e projetos nas esferas federal, estadual e municipal. Durante o processo de AIA são caracterizadas todas as atividades impactantes e os fatores ambientais que podem ser afetados por essas atividades, e podendo ser divididos em ambiente físico, ambiente biológico e ambiente feito pelo homem, que variam de acordo com as características e etapas do projeto. Uma abordagem tradicional que pode ser usada para avaliação de impacto ambiental é um mecanismo estruturado para identificar, coletar e organizar dados de impacto ambiental, permitindo a apresentação em um formato visual de fácil interpretação para as partes interessadas (JÚNIOR, 2013).

2.3 BALNEABILIDADE

A classificação das águas em relação à balneabilidade pode ser baseada em quatro categorias: imprópria, satisfatória, muito boa e excelente. Tal classificação é realizada a partir da quantidade de coliformes fecais, *Escherichia coli* e *Enterococos*. Dentro dessas classificações, as categorias consideradas excelentes, muito boas e satisfatórias pelas consultorias estão em categoria própria (MARTINS et al., 2017).

Além disso, essas águas podem ser identificadas como impróprias a partir de parâmetros que têm a capacidade de oferecer risco à saúde da sociedade, por meio da presença de esgotos, e a presença de resíduos que tornam a recreação desagradável (MARTINS et al., 2017).

O banho é uma qualidade de água utilizada para recreação de contato primário (natação, mergulho, esqui aquático, etc.) e entende-se o contato direto e prolongado com a água com alta probabilidade de ingestão de grandes quantidades de água. O parâmetro indicador básico para classificar as praias de acordo com sua aptidão para banho em termos de higiene é a densidade de coliformes fecais, onde diversos fatores determinam a presença de esgoto nas praias, tais como: sistemas de coleta e descarte de resíduos gerados nas proximidades, sazonalidade turística, a topografia da praia, a ocorrência de chuva, etc (LEITE, 2006).

No Brasil, a Resolução CONAMA - Conselho Nacional do Meio Ambiente - 20/86 estabeleceu os detalhes específicos da classificação e compartimentos dos corpos d'água, estabelecendo as normas relativas ao banho nos artigos 26 a 34. Essas normas foram retiradas pela Resolução CONAMA 274/00, que trata exclusivamente do banho. A inovação trazida pela nova resolução refere-se à possibilidade de utilização de outros microrganismos, mais específicos, indicadores de contaminação fecal, como *Escherichia coli* e *Enterococcus*, com o valor da amostragem superior a 2500 coliformes fecais (resistente ao calor) ou 2000 *E. coli* ou 400 *Enterococos* por 100 mL de amostra (LEITE, 2006).

2.4 NORMAS AMBIENTAIS

Na resolução CONAMA n° 274, de 29 de novembro de 2000 diz que águas salobras com salinidade são aceitáveis entre 0,50% e 30% (GAETANI et al., 2012).

Conforme a resolução CONAMA n° 274, *Escherichia coli*: bactéria pertencente à família Enterobacteriaceae, caracterizada pela presença das enzimas β -galactosidase e β -glicuronidase. Cresce em meio complexo a 44-45°C, fermenta lactose e manitol com produção de ácido e gás e produz indol a partir do aminoácido triptofano. A *Escherichia coli* é abundante em fezes humanas e de animais, tendo, somente, sido encontrada em esgotos, efluentes, águas naturais e solos que tenham recebido contaminação fecal recente.

2.5 IMPACTOS AMBIENTAIS

A PNMA (Política Nacional do Meio Ambiente) Lei n° 6.938 de 31 de agosto de 1981 determina como uma de suas ferramentas para a avaliação de Impacto Ambiental (AIA), por intermédio de identificar, mitigar e avaliar a capacidade dos efeitos socioambientais de obras, movimentações ou projetos de significativo impacto ambiental. Um outro mecanismo de ação do PNMA é o licenciamento ambiental, que é feito através de processos administrativos onde a intenção é regularizar as atividades potencialmente poluidoras ou capazes de causar destruição ambiental (art. 10, Lei n° 6.938/1981) (SILVA, 2011).

No Brasil, o AIA (Avaliação de Impacto Ambiental) está associado ao licenciamento ambiental como uma ferramenta técnica para apoiar os órgãos licenciadores na tomada de decisões sobre a viabilidade ambiental dos projetos. O Ibama é o órgão fiscalizador do Licenciamento Ambiental Federal (LAF). Assim, o Instituto é responsável por fiscalizar a instalação, ampliação, operação e desativação das atividades e projetos licenciados pelo governo federal (ALVARO et al., 2021).

O impacto ambiental corresponde a qualquer alteração desfavorável ou favorável nas circunstâncias que seja ou possa ser causada, direta ou indiretamente, pelas atividades, produtos ou serviços do negócio. Os efeitos ambientais surgem da interação de fatores ambientais de uma atividade no ambiente receptor. O mesmo impacto ambiental pode estar associado a mais de um aspecto ambiental. Como boa prática, as declarações de impacto ambiental estabelecidas neste documento incluem os receptores ou componentes ambientais afetados (água, ar, solo, fauna, flora, etc.) e as implicações das mudanças (perda, diminuição, aumento, etc). Essas diretrizes mantêm as expressões concisas e claras, a pesquisa incluiu efeitos diretos e indiretos, mas ambos estavam diretamente relacionados aos fatores ambientais correspondentes, sem explicação para a ordem dos efeitos (ALVARO et al., 2021).

2.6 ANÁLISE DA ÁGUA

A água é essencial para a vida humana, e há várias atribuições ligada a ela. Ultimamente a população vem usando-a como entretenimento, além disso, essa recreação pode ser preocupante quanto a qualidade da água pois é importante serem realizados estudos que mostrem a qualidade da água e assim precavendo todos sobre o risco de contaminação do local (BORGES et al., 2014).

Portanto, deve-se atentar para o destino da água, levando em consideração fatores que podem afetar negativamente a qualidade da água, pois beber sem nenhum tratamento pode levar a sérios danos à saúde, tornando-se portadora de diversos agentes biológicos e químicos. A baixa qualidade da água é um dos problemas mais graves do mundo. No Brasil, cerca de 87% das cidades têm acesso a água encanada e água potável de alta qualidade, mas apenas 55% têm rede de esgoto e apenas 28% das cidades com rede de esgoto têm sistema de tratamento (CASTRO et al., 2018).

A questão tornou-se preocupante no que concerne a balneabilidade, pois devem ser realizados estudos para expor as condições de banho em determinadas zonas balneares, alertando a todos os riscos para a saúde humana decorrentes da exposição direta e prolongada a agentes patogênicos causadores de determinadas doenças de veiculação hídrica (BORGES et al., 2014).

A saúde pública, assunto de grande interesse da sociedade, se encontra profundamente ligada à qualidade do meio ambiente. No contexto da gestão ambiental, o processo de decisão dos planejadores e órgãos fiscalizadores necessitam estar baseados em dados representativos das condições do meio. Essa necessidade decorre da legislação, que equipara os cenários formados por esses dados aos padrões de qualidade legalmente exigidos e que determina um marco de quantitativos para a acumulação de poluentes e resíduos no meio ambiente. Seguidamente os laboratórios ambientais disponibilizam instrumento de análise técnica dispondo amostras de matriz do ambiente. Portanto, para gerarmos informações confiáveis que possam representar o cenário ambiental desejado, uma conformação arquitetônica perfeitamente adequada para o ensaio pretendido é condição importante para a conclusão de uma análise prática em laboratório ambiental (SENDA; PAULO, 2017).

Os laboratórios ambientais são ferramentas imprescindíveis no processo de gerenciamento do meio ambiente. São por meio deles que podem ser obtidos dados representativos para a compreensão da realidade, que é a essência para a tomada de decisões. Discutem-se situações de pré-requisitos para ganhar a excelência na aprovação desses dados e, hoje, para garantir sua confiabilidade, é recomendado que os laboratórios de ensaio e calibração implementem uma série de requisitos compilados em textos normativos vigentes, como a norma ABNT NBR ISO/IEC 17025, que normaliza as definições gerais para a atribuição de laboratórios de ensaio e calibração, a norma NIT-dicla-035 que versa sobre os princípios de boas práticas de laboratório (BPL) (GOMES e SABANI, 2011).

Ambas as normas especificam condições baseadas em exigências referentes a processos administrativos, de recursos humanos, técnicos, materiais, de infraestrutura, entre outros. No que se refere às instalações físicas dos laboratórios ambientais, mais especificamente em relação à arquitetura e às condições ambientais, há inúmeros parâmetros precisam ser considerados para garantir a integridade da amostra, o desempenho esperado da análise, a qualidade dos dados e o bem-estar de quem usa o espaço (SENDA; PAULO, 2017).

2.6.1 coleta e preservação das amostras

As informações do responsável pelo colhimento de água para consumo humano, e as técnicas usadas, são de essencial importância para a realização correta da análise. Cada amostra colhida e identificada devidamente deve vir junto de uma ficha de solicitação, que deve conter informações que a caracterize (MUSAFIR et al., 2010).

Para obter melhores resultados a coleta de amostras devem ser realizadas de modo representativos e confiáveis. Portanto, o indivíduo que for designado para fazer a amostragem detém de ter um treinamento sobre as habilidades de manutenção e cuidado com manejo dos equipamentos que forem utilizados em campo, compreender os critérios de segurança, além disso saber a localização específica dos pontos de coleta e estar passível para observar e protocolar condições atípicas nos locais referidos (EMBRAPA, 2006).

As porções de água coletada podem ser compostas ou simples. A coleta composta consiste na combinação adequada de algumas amostras simples, que podem ser obtidas em pontos diferentes ou no mesmo ponto em tempos distintos. A amostra simples consiste em fazer a seleção de um ponto significativo de um corpo de água e retirar diretamente uma porção deste. É importante ocorrer que a mesma capacidade de cada amostra simples tem que ser utilizada para forma composta. Os frascos de armazenagem das amostras não podem ser preenchidos até a boca, já que impossibilita a homogeneização, a tampa do frasco só deve ser retirada na hora da coleta (LUIS KICHE et al., 2011).

A seleção adequada do tipo de garrafa usada para coletar e armazenar amostras de água é imprescindível. Diversos tipos de materiais foram experimentados como frascos de coleta (por exemplo, PVC, polipropileno) e muitos deles interagiram com a amostra. Normalmente, materiais como politetrafluoretileno (PTFE ou Teflon®) e vidro borossilicato são recomendados (KASPER et al., 2015).

É fundamental que a amostra de água não seja contaminada ou alterada durante o processo de coleta já o ambiente de coleta não é aquele que o analista pode controlar, porém o laboratório pode ser ajustado a muitas condições como compreender o ambiente natural e as formas pelas quais os equipamentos de coleta podem contaminar e alterar a amostra, é o primeiro passo para a ação correta do coletor para evitar a contaminação da amostra e a interconversão entre as diferentes espécies. As amostras de água podem ser coletadas manualmente, imergindo a garrafa diretamente na água. Curiosamente, amostrar alguns centímetros abaixo da superfície (subterrâneo) para evitar coletar camadas superficiais que tenham características diferentes do restante da coluna d'água, a menos que a amostragem dessa camada seja o objetivo. Para evitar a poluição atmosférica, a garrafa pode ser aberta e fechada enquanto já estiver imersa na água, ou pode ser imersa rapidamente após a abertura da tampa. Este procedimento é essencial em áreas onde a poluição do ar é significativa; onde há uma certa quantidade de aerossóis no ar, solo exposto/nu e áreas sujeitas à erosão eólica, próximo a cidades, tráfego de veículos, indústria e incêndios, pois estes podem ser a principal fonte de poluição (KASPER et al., 2015).

Cuidados especiais devem ser tomados ao transportar frascos, equipamentos e reagentes para evitar quebras, danos e derramamentos. Ao enviar reagentes e frascos vazios, é recomendável usar uma caixa de engradado para segurar os frascos com segurança. Equipamentos sensíveis devem ser armazenados em compartimentos revestidos para reduzir os efeitos da vibração durante o transporte. Motores, caixas e outros equipamentos pesados devem ser fixados dentro do veículo para evitar que deslizem ou vibrem (NBR 9898, 1987).

Apresentação de coleta de amostra de água para exame microbiológico técnicas de diferenciação para água bruta e tratada, que devem sempre ser feitas antes de qualquer outro tipo de teste ou ensaio ser coletado no local para evitar o risco de contaminação do ponto de amostragem com frascos ou amostradores não estéreis. Procedimentos de coleta de amostras para testes microbianos em águas superficiais (EMBRAPA, 2006).

As amostras para análise microbiológica são melhor coletadas diretamente em frascos estéreis e enviadas para análise, ou em um balde esterilizado. Retirar a tampa e a película protetora do frasco, tendo o cuidado de evitar a contaminação da amostra com dedos de luvas ou outros materiais, mantenha a tampa afastada cerca de 10 cm do frasco durante a coleta para não contaminar o interior da tampa ou qualquer material que tenha caído no frasco, encha o frasco até aproximadamente $\frac{3}{4}$ (três quartos) do seu volume com a amostra para homogeneizá-la durante os testes laboratoriais, feche imediatamente o frasco e prenda bem a película protetora em torno da tampa, identificar a amostra e refrigerar amostras em incubadoras para transporte (LUIS KICHE et al., 2011).

2.6.2 microrganismos na água

Espera-se que a água após o processo de tratamento esteja dentro dos padrões de qualidade que devem ser mantidos durante a distribuição para chegar ao ponto de consumo sem comprometer a saúde humana e animal. No entanto, o fato de existirem vários problemas de saúde associados ao abastecimento público de água em todo o mundo exige um controle de qualidade cada vez mais rigoroso. Embora os recursos analíticos disponíveis facilitem a detecção e quantificação de agentes físicos, químicos e microbiológicos potencialmente perigosos para a saúde, existem dificuldades significativas na determinação de parâmetros de qualidade e na definição de índices de tolerabilidade para substâncias consideradas potencialmente perigosas para a saúde. Muitas doenças transmitidas pela água são causadas por bactérias que são principalmente da flora intestinal, cuja presença é determinada por métricas como coliformes totais e coliformes termotolerantes (ALVES, 2007).

A *Escherichia coli* é uma bactéria da família *Enterobacteriaceae*, amplamente difundida na natureza e seu principal habitat é o trato intestinal de humanos e animais. A *E. coli* comensal, que faz parte da microbiota intestinal, não é patogênica e desempenha importante papel fisiológico no funcionamento do organismo. Existem seis classes patogênicas de *E. coli* que causam infecções intestinais em animais e humanos, denominadas *E. coli* diarreiogênicas que se diferenciam pela presença de fatores de virulência como toxinas e invasinas, adesinas fimbriais e afimbriais, e classificadas em: *E. coli* enteropatogênica (EPEC), *E. coli* enterotoxigênica (ETEC), *E. coli* enteroinvasora (EIEC), *E. coli* enterohemorrágica (EHEC) ou *E. coli* produtora da toxina de Shiga (STEC), *E. coli* enteroagregativa (EAEC) e *E. coli* aderente difusa (DAEC). As EPEC podem ser isoladas de diversas fontes como em: alimentos crus e processados; animais silvestres e domésticos; esterco e solo de matadouros de gado e fazendas e em águas (SOUZA, et al., 2016).

De acordo com a Resolução CONAMA nº 274, de 29 de novembro de 2000, as águas são consideradas como próprias para o banho, na categoria ótimo, logo que 80% ou mais de um conjunto de amostras obtidas colhidas no mesmo local, apresentarem, no máximo, 250 coliformes fecais (termotolerantes) ou 200 *Escherichia coli* a cada 100 mililitros. Além disso, não importa em qual categoria a água se enquadre, o pH deve estar entre 6,0 e 9,0 para ser considerado adequada (CRISTIANE et al., 2009).

O nome "coliforme fecal" tem sido usado há muito tempo para descrever as bactérias coliformes que fermentam a 44,5°C para produzir o gás lactose *Escherichia coli* e algumas cepas de *Klebsiella* e *Enterobacter* exibem essa tolerância ao calor, no entanto, apenas *E. coli* tem tripas humanas e animais como seu habitat primário. *Klebsiella* e *Enterobacter* podem ser encontradas em outros ambientes, como vegetais e solo, onde persistem por mais tempo do que os patógenos do intestino. Portanto, existe uma relação direta entre a presença de coliformes termotolerantes em alimentos e água e contaminação por fontes fecais, o que levou à necessidade de a legislação brasileira alterar o nome de coliformes fecais para coliformes de 45°C (SILVA; CAVALLI; OLIVEIRA, 2006).

O MINISTÉRIO DA SAÚDE, através da Resolução nº 12, de 2 de janeiro de 2001, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) adotou a denominação coliformes a 45°C, considerando os padrões "coliformes de origem fecal" e "coliformes termotolerantes" como equivalentes a coliformes a 45°C.

Os Enterococos estão presentes na microbiota de humanos e animais, e também foi descrito no ambiente. Dentre essas espécies, *Enterococcus faecalis* é um dos principais patógenos associados a infecções nosocomiais em todo o mundo. *Enterococcus faecalis* é resistente a diferentes classes de antimicrobianos relatórios crescentes, incluindo isolados multirresistentes (MDR) de fontes as questões ambientais são preocupantes (SANTOS et al., 2021).

2.7 TÉCNICA DE MEMBRANA FILTRANTE

A técnica de membrana filtrante é um dos meios que podem ser utilizados para a contagem de coliformes em águas. Ele é feito através de filtração de volumes específicos de água, onde as bactérias ficam aderidas na membrana filtrante com porosidade de 0,45 µm, e por elas serem maiores que os poros de água elas ficarão retidas na superfície da membrana (CETESB, 2007; SILVA, 2012; GRECHI, 2005).

Na filtração é utilizado um aparelho que contém um funil de filtração com tampa e um suporte de membrana e frasco coletor. Quando ocorre este procedimento os coliformes ficam retidos na mesma, onde são transferidos para o meio de cultura de acordo com o microrganismo investigado, logo, são transferidos para estufa a $35 \pm 5^\circ\text{C}$ por 24 horas. Após serem incubadas as colônias são numeradas visualmente ou por contadores eletrônicos (CETESB, 2007; SILVA, 2012; GRECHI, 2005).

Figura 1: Sistema de filtração induzida por membrana filtrante com porosidade de 0,45µm



Fonte: Google Imagens (2022)

2.8 PATOLOGIAS RELACIONADAS A MICRORGANISMOS

Desde o começo da microbiologia sanitária acontecem complexidades de isolar organismos patogênicos das coletas ambientais. No entanto é recomendado que as indicações de contaminações sejam realizadas através de indicadores microbiológicos com aparição de material fecal no meio ambiente, a organização mais capaz de fazer isso são bactérias que atuam como coliformes (SILVA et al., 2017).

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), as doenças disseminadas através de alimentos aumentam as enfermidades no mais amplo espectro, e, além do mais de ser um crescente problema de saúde pública no mundo inteiro, isto é, resultado da ingestão de alimentos contaminados com microrganismos ou algum produto químico. A contaminação pode ocorrer em alguma etapa do processo de produção até o consumo, e pode ocorrer principalmente através do meio ambiente, incluindo poluição da água ou ar.

Escherichia coli é uma bactéria que é da família *Enterobacteriace*, e é bastante encontrada na natureza, o seu principal ambiente é o trato intestinal humano e animal. A *E. coli* faz divisão da microbiota intestinal, ela não é patogênica e tem principal papel fisiológico para o desempenho do organismo. Uma das *E. coli* que existem é a *E. coli* diarreio gênicas que causam infecção intestinal em homens e animais e são diferenciadas pela presença de fatores de virulência como adesinas, fimbrias e afimbrias, toxinas e invasivas (SOUZA et al., 2016).

No caso de água imprópria para banho, o contato dos banhistas com essa água pode agravar a propagação de doenças de veiculação hídrica. Associação estatística entre médias. Análises periódicas dos números de *Escherichia coli* e casos de doença diarreica mostraram uma forte associação: durante os períodos de maior poluição da água da praia, houve também números mais altos de doença diarreica aguda. Este é um alerta para a sociedade local e todas as autoridades nas cidades que implementam o turismo de praia sobre a urgência da implementação do sistema (CUNHA, et al., 2010).

Segundo Murray (2014), a *Escherichia coli* enteropatogênica (EPEC) é considerada uma importante causa de diarreia em crianças em países pobres. A doença é rara em adolescentes e adultos, devido ao desenvolvimento de imunidade protetora. A doença é caracterizada por bactérias entram no epitélio intestinal e posteriormente destroem microvilosidades. Em relação às propriedades fenotípicas e patológicas, as cepas de *E. coli*. As infecções invasivas intestinais estão intimamente relacionadas à *Shigella*. Bactérias invade e destrói as células epiteliais do hospedeiro, produzindo a doença caracterizada inicialmente por diarreia aquosa e pode desenvolver úlceras na área.

O risco potencial de úlceras por *E. coli* é uma preocupação nacional e internacional que pode atingir a saúde pública. Este patógeno é crítico para a indústria alimentícia e cadeia alimentar. Os riscos de surtos de *E. coli* enterohemorrágica ou outros patógenos prejudiciais aos seres humanos se os padrões de processamento, boas práticas de higiene, e se há uma análise de perigos e a aplicação de pontos-chave no controle de contaminação na indústria alimentícia e balneabilidade (ROSA et al., 2016).

A *Enterobacteriaceae* são bacilos gram-negativos e causam doenças como gastroenterites, Salmonelose, shigelose e febre tifoide. Quando ocorre grandes períodos de estiagem a população se recorrem para outros meios de abastecimento para suprir necessidades. A

Enterobacteriaceae está respectivamente relacionada a infecções extra intestinais que eleva o risco da saúde pública, a *Enterobacteriaceae* também é responsável por surtos epidêmicos ao longo da história da humanidade, e também está relacionada com casos de mortes, principalmente em crianças (SOUSA, 2006).

Enterococcus é um grupo de bactérias caracterizadas por cocos gram-positivos geralmente presentes na microflora normal do trato gastrointestinal de humanos e animais. Apesar de serem considerados microrganismos simbióticos, o *Enterococcus sp.* é suscetível de estar associada a múltiplas infecções humanas, com o rápido crescimento das cidades, muitas vezes sem saneamento básico, as águas superficiais tornam-se vetores de doenças de veiculação hídrica (ROBERTO, 2016).

Além do intestino, eles também podem estar presentes em plantas, solo e superfícies de água. Apesar de serem considerados microrganismos simbióticos, *Enterococcus sp.* pode estar associada a uma variedade de infecções humanas, no ambiente hospitalar e na comunidade tais como endocardite, bacteremia, síndrome da diarreia neonatal, infecção intra-abdominal, infecção urinária e colonização ou infecção em feridas superficiais (ZARRILI et al., 2005; SILVA et al., 2010).

Segundo Francy & Darner (2006) os métodos preditivos são úteis para o gerenciamento do banho, pois podem alertar os banhistas sobre possíveis riscos microbianos antes que eles entrem em contato com a água e apoiar as decisões das autoridades de fechar o acesso a praias severamente afetadas. Esses métodos complementam o monitoramento regular de bactérias indicadoras fecais na água, como já feito, e não devem substituí-lo completamente.

3. METODOLOGIA

3.1 COLETA, TRANSPORTE E ARMAZENAMENTO

O estudo executado na Orla da Cidade de Cariacica-ES e teve sua natureza aplicada com abordagem quali-quantitativa, pesquisa descritiva com estudo de campo experimental.

A primeira coleta em campo foi dividida em cinco pontos distintos, nomeados como: ponto 1, ponto 2, ponto 3, ponto 4 e ponto 5 demarcados na figura 2. Seguiu-se este padrão para as outras coletas em dias diferentes.

As pesquisas foram realizadas através de coleta, análise e identificação de microrganismos patogênicos na água em cinco pontos distintos no decorrer da Orla, como mostra a figura 2. De modo que não prejudicasse o meio ambiente, a coleta foi supervisionada pela bióloga Pamela M. Nunes Decottignies e assim seguindo as normas ambientais de coleta conforme a resolução CONAMA n°20.

As coletas foram repetidas 3 vezes, cada uma das coletas foi feita em dias diferentes e horários distintos como mostra a tabela 1.

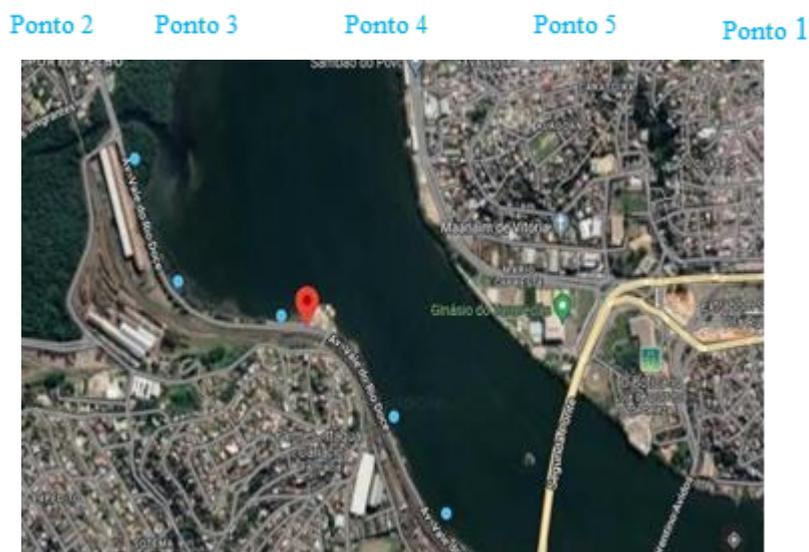
Tabela 1: Horários de coleta

Horário de coleta	Coleta 1 20/09/2022	Coleta 2 05/10/2022	Coleta 3 20/10/2022
Ponto 1	07:30	07:40	06:50
Ponto 2	07:35	07:44	07:00
Ponto 3	07:38	07:54	07:10
Ponto 4	07:45	07:59	07:14
Ponto 5	07:55	08:05	07:20

Fonte: Própria

Em seguida, as amostras coletadas foram transportadas em temperatura adequada entre 2-10°C para o laboratório LabSales do Centro Universitário Salesiano - UNISALES, para que as análises fossem realizadas.

Figura 2: Pontos de coleta das amostras analisadas



Fonte: Google Earth (2022)

3.2 PREPARAÇÃO DOS MEIOS DE CULTURA

Para a fabricação do meio de cultura foi utilizado o Agar base Endo Les, onde o mesmo foi produzido no laboratório do Centro Universitário Salesiano - UNISALES. Foi utilizado 25,125 g do meio de cultura para 500 mL de água destilada e 2 mL de etanol diluído para a fucsina. Foram separados toda a quantidade correta em um becker e aquecido por 1 minuto no tripé de

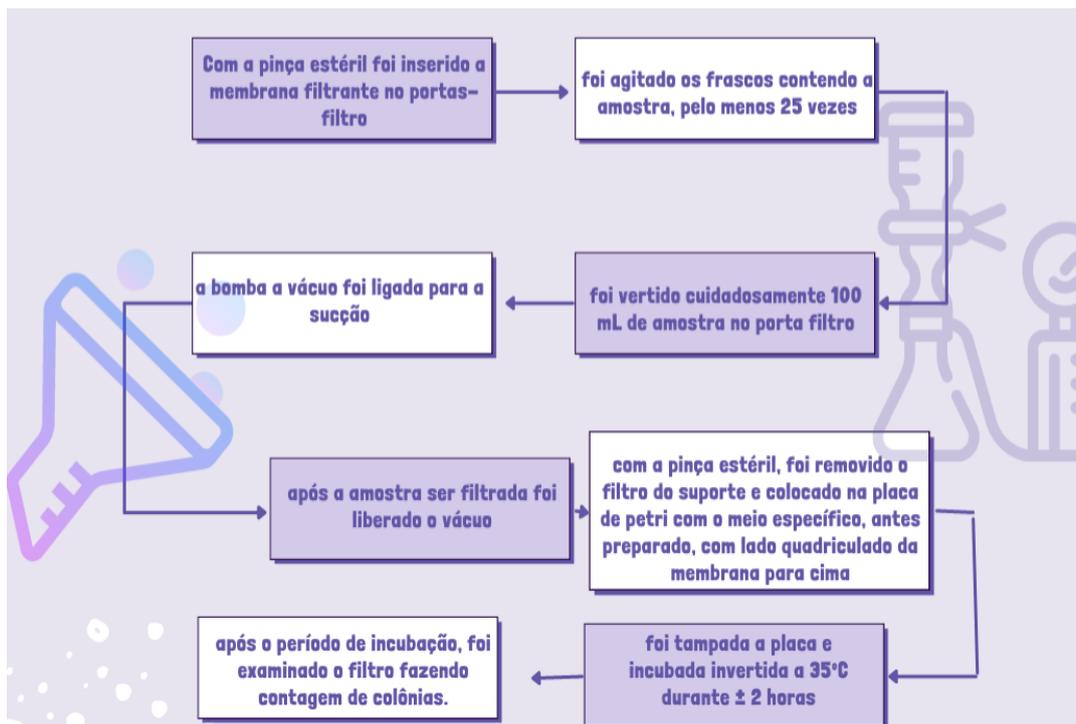
ferro com bico de Bunsen, logo, transferido para um Erlenmeyer e levado para a autoclave por 15 minutos a 121 °C. Ademais foi aguardado o tempo para resfriamento do meio de cultura até que o mesmo pudesse ser plaqueado, após o meio de cultura chegar em temperatura correta foi plaqueado e identificado. Seguidamente as placas foram viradas e armazenadas em geladeira.

3.3 TÉCNICA DA MEMBRANA FILTRANTE

As identificações dos microrganismos foram realizadas através da técnica de membrana filtrante, seguindo etapas como mostrado na Figura 3. A técnica baseia-se na filtração de volumes adequados de água, em que as bactérias ficarão retidas na membrana, com porosidade de 0,45µm, que consegue reter os microrganismos com tamanhos maiores que o poro.

Em todas as análises foram utilizados o método de coloração de Gram para diferenciação dos germes gram-negativos e gram-positivos, tendo em vista que na pesquisa foram abordados grupos de bactérias gram-negativas.

Figura 3: Fluxograma do processo da técnica de membrana filtrante



Fonte: Própria.

3.4 IDENTIFICAÇÃO BACTERIANA

Para a confirmação de bactérias realizaram-se provas bioquímicas, onde foram utilizados tubos específicos para crescimento da bactéria. Por tanto para a utilização destas provas bioquímicas as mesmas foram retiradas da refrigeração um tempo antes de sua utilização.

Assim também foram selecionadas as colônias que seriam utilizadas para a inoculação das provas bioquímicas, onde cada placa foi analisada e assim foi selecionada uma colônia da bactéria onde se encontrava mais isolada.

No tubo de ureia foi inoculado a bactéria onde a colônia foi selecionada no meio de cultura utilizado, logo, a colônia é estriada de forma qualitativa dentro do tudo e em seguida incubada na estufa a 37 °C entre 18 e 24 horas.

No tubo de Agar SIM foi inoculado a bactéria e com o lado reverso da alça foi utilizado para captar a colônia do meio e assim inoculado de forma vertical para ver seu crescimento e motilidade, ademais o tubo foi incubado na estufa a 37 °C entre 18 e 24 horas.

Além disso foi utilizado o Ágar Citrato Simmons onde foi utilizado a alça para obter a colônia e assim fazer a semeadura dentro do tudo de forma qualitativa, seguidamente a amostra foi incubada na estufa a 37 °C entre 18 e 24 horas.

Ademais o teste de catalase é um reagente onde foi pingado 3 gotas do mesmo na bactéria que cresceu no meio de cultura Agar Endo Les.

3.5 ANÁLISE DO PH

Para a análise de pH foi utilizado o aparelho de phmetro da marca ION modelo PHS-3E. Foi ligado o aparelho para estabilização antes de prosseguir com o procedimento de medida. Posteriormente foram lavados o eletrodo com água destilada e secados com papel absorvente, seguidamente o aparelho foi calibrado com uma solução tampão pH 4,0 e 7,0, e depois foram lavados novamente com água destilada. Após a conclusão de todo o processo de calibração, foi medido o pH das amostras por meio do eletrodo introduzido na amostra a ser examinada e, assim, foram realizadas as leituras de pH. As medidas do pH foram realizadas para cada ponto diferente.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O estudo foi realizado com base nos padrões e normas do conselho nacional do meio ambiente, sem agredir ou causar desordem no ecossistema em questão. Parâmetros imprescindíveis de qualidade da água foram abordados nesta pesquisa, como a medição do pH e a análise microbiológica de coliformes totais.

Conforme Martins et al. (2017) as pesquisas discutidas estão relacionadas à qualidade de vida e ao bem-estar social. Para ter a qualidade da água associada ao banho nas praias da Paraíba, o governo do estado e o município são obrigados a combater a poluição dessas áreas por meio do reforço do sistema de limpeza das praias, pois assim como os rios que desembocam no oceano, que são áreas indiretas de poluição de água salgada como o rio Gramame, principalmente o rio Jaguaribe.

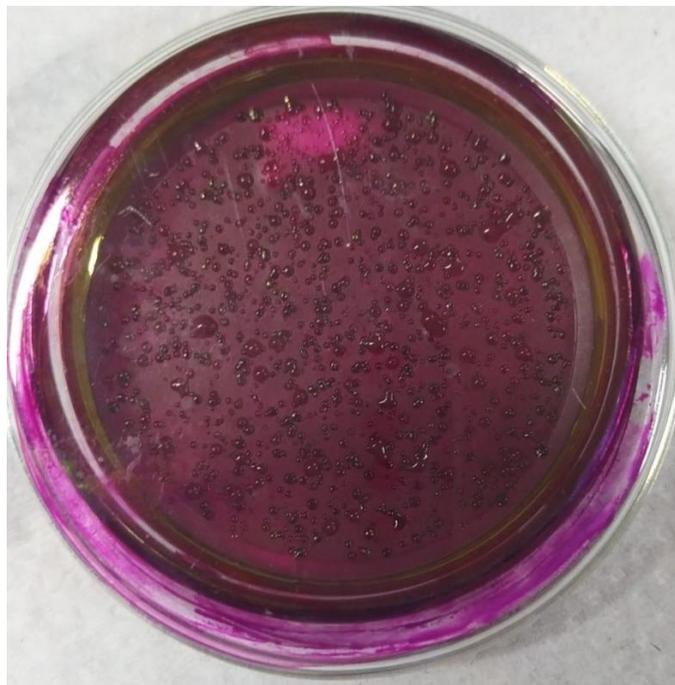
Vale ressaltar que no dia da coleta 1 (20/09/2022) a maré estava baixa conforme a TÁBUA DE MARÉS, 2022 e temperatura estável com mínima de 21 °C e máxima de 23 °C de acordo com

INCAPER, 2022. Na coleta 2 (05/10/2022) a maré se encontrava baixa conforme a TÁBUA DE MARÉS, 2022, porém no dia anterior a coleta houve um temporal. Durante a coleta não houve chuva e a mínima do dia era de 21 °C e máxima de 23 °C conforme o INCAPER, 2022. Enquanto que na coleta 3 (20/10/2022) a maré estava baixa conforme a TÁBUA DE MARÉS, 2022 e a coleta foi realizada com chuva, pois no dia o tempo se encontrava instável e com grandes chances de chuva, a temperatura estava mínima de 20 °C e máxima de 22 °C de acordo com o INCAPER, 2022.

Além disso foi possível visualizar o crescimento de bactérias no meio de cultura Ágar base Endo Les após o tempo de incubação de 24 horas na estufa a 37 °C. Como foi citado acima na metodologia através da técnica de membrana filtrante foi possível identificar o crescimento de colônias em abundância no ponto 1 (figura 4) totalizando aproximadamente a quantidade de 751 UFC/mL da coleta 1, os outros pontos da coleta 1 foram incontáveis devido ao crescimento em abundância. Além disso, na coleta 2 e 3 também não foram possíveis as contagens de colônias devido ao crescimento ter ocorrido em abundância.

Conforme Almeida et al (2012), as colônias isoladas procedente de Ágar MacConKey e Ágar Salminella-Shigella passaram enfracuecido no Enterokit (Probac do Brasil): EPM, Mili e Citrato para concluir as comprovações de provas bioquímicas no sentido de identificação de enterobactérias.

Figura 4: Meio de cultura Ágar Endo Les com técnica de membrana filtrante, colônias da coleta 1 do Ponto 1



Fonte: Própria

Seguidamente foram realizadas as provas bioquímicas de todos os pontos das coletas 1, 2 e 3.

Os meios de culturas em tubo com nutrientes específicos para o crescimento bacteriano foram empregados, ajudando a entender o metabolismo de cada uma delas. O material foi incubado na estufa a 37°C por 24 horas para a primeira visualização, mais 24 horas para segunda visualização, totalizando 48 horas de incubação e assim foi realizado para o todos os pontos de todas as coletas. Na leitura das provas bioquímicas o Ágar SIM apresentou indol positivo (LABORCLIN, 2018) para todos os pontos e após aplicação do reativo de Kovacs a reação apresentou coloração avermelhada em todos os tubos (figura 5a). Já o Ágar citrato Simmons (figura 5b) permaneceu com a coloração inicial verde, comprovando o resultado negativo para todos os pontos (LABORCLIN, 2019), sendo mais uma prova frente a *Escherichia coli*. A terceira prova bioquímica realizada nos pontos foi por meio da enzima urease, através do meio de cultura a base de ureia que apresentou a mesma coloração amarela, podendo afirmar resultado negativo (LABORCLIN, 2019) como apresentado na tabela 1. Quanto a alteração da coloração do meio de cultura ureia, caso ficasse positivo ocorreria a alteração da cor original do meio para a rosa pink, e em caso negativo sua cor original permanece, amarelo, como mostra a figura 5c.

Após a incubação do Ágar SIM verificou-se a motilidade da bactéria em todos os pontos da coleta 1, 2 e 3 que pode ser dito como o crescimento difuso, saindo da linha de inóculo para fora (figura 5a), obtendo o turvamento do meio. Já a reação de indol que é uma degradação rápida do triptofano, foi positiva depois da adição de três gotas de Reativo de Kovacs na superfície do meio houve o surgimento da coloração avermelhada. Já a coloração enegrecida em abundância, é a alta produção de H₂S (sulfeto de hidrogênio), clarificando positivamente que as cepas de *Escherichia coli* possuem perfis bioquímicos variados. Já o Ágar Citrato Simmons é uma fonte de carbono, e sua mudança de cor do meio de verde para azul caracteriza a positividade da prova.

Tabela 2: Tabela de resultados das provas bioquímicas 20/09/2022, 05/10 e 20/10/2022

Pontos	20/09/2022	05/10/2022	20/10/2022
Ponto 1			
Ponto 2	Citrato (verde)	Citrato (verde)	Citrato (verde)
Ponto 3	Ureia (amarelo)	Ureia (amarelo)	Ureia (amarelo)
Ponto 4	SIM (indol + produção de H ₂ S)	SIM (indol + produção de H ₂ S)	SIM (indol + produção de H ₂ S)
Ponto 5			

Fonte: Própria

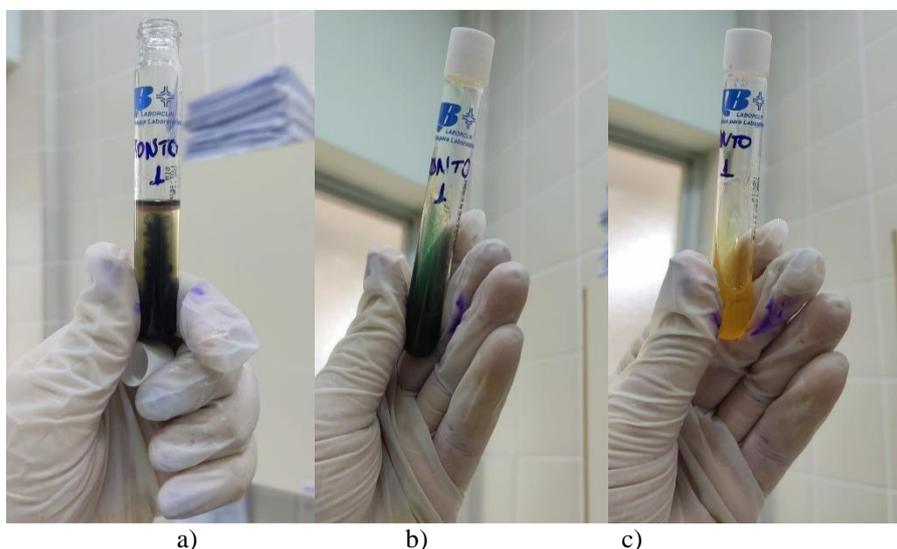
Além disso para a confirmação da bactéria *Escherichia coli* foi utilizado o método da coloração de gram para a confirmação da bactéria gram negativa. O pH conforme a tabela 3 destes pontos estava dentro do padrão estabelecido pela resolução CONAMA.

Tabela 3: Resultados pH

Pontos	Coleta 1	Coleta 2	Coleta 3
	20/09/2022	05/10/2022	20/10/2022
Ponto 1	6,23	7,43	9,08
Ponto 2	6,34	7,42	8,82
Ponto 3	6,39	7,37	8,64
Ponto 4	6,41	7,42	8,47
Ponto 5	6,40	7,49	8,52

Fonte: Própria

Figura 5: a) Colônia inoculada no SIM após 24 horas de incubação, apresentando indol positivo e produção de H₂S; b) Colônia inoculada no Ágar Citrato Simmons após 24 horas de incubação, apresentando resultado negativo; c) Ureia com colônia semeada após 24 horas de incubação, e resultado negativo



Fonte: Própria

Bem como as tabelas 1 e 2 nos informam os resultados dos pontos em três dias distintos onde foram realizadas estas análises, e com estes resultados foi possível sugerir que há uma grande quantidade de bactérias na Orla de Cariacica devido ao grande crescimento de colônias que ocorreram nas placas e também através da confirmação destas bactérias através das provas bioquímicas. Dentre os achados desses microrganismos, as provas bioquímicas que forneceram esses resultados mostraram a presença de grande número de *Escherichia coli* (ANVISA, 2022),

pode-se dizer que esses pontos analisados conforme Resolução CONAMA nº 274, de 29 de novembro de 2000 não é adequado para balneabilidade.

Resultados semelhantes foram obtidos por Scandelai, Solina e Souza (2012) onde o laboratório analisou e comparou a concentração de bactérias e coliformes fecais em 18 pontos de amostragem da água da represa laranja-doce no município de Martinópolis – SP. Constatou-se que o balneário em 100% das amostras ainda foi classificado como “inadequado” com pico de coliformes totais de 120.000 UFC.100mL⁻¹ devido à alta densidade populacional da área por se tratar de um condomínio construído. Esses valores são superiores aos permitidos pela Resolução CONAMA nº. 274/00 (até 5.000 UFC.100mL⁻¹).

Tais resultados são entendíveis com a área averiguada, tendo em vista que a contaminação por *E. coli* é maior quando as águas estão sujeitas as consequências de um alto grau de urbanismos e concentrações populacionais. Esses aspectos se enquadram a Cariacica – ES devido possuir uma população de 386.495 habitantes (IBGE, 2021), estes acontecimentos podem justificar altos valores de *E. coli* encontrados nestes pontos.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com as análises realizadas nestes pontos identificamos a bactéria *Escherichia coli*, onde essa bactéria pode ser encontrada em vários locais incluindo o nosso trato gastrointestinal, porém quando encontrada na água e em quantidades acima do permitido ela pode causar um dano as vezes até irreversível para o ser humano.

Com isso, o estudo indicou para os indivíduos, que existem microrganismos presentes na água e que podem ocasionar patologias, além de alertar os órgãos públicos que neste local deve-se realizar mais pesquisas e cuidados para que não se desenvolva nenhum quadro patológico em pessoas daquela região e de demais regiões que porventura tenham contado com a água inadequada.

O presente estudo demonstrou que dos cinco pontos coletados da orla de Cariacica - ES, todos os cinco pontos apresentam-se impróprios para atividades de banho devido a presença de *Escherichia Coli*, de acordo com a Resolução CONAMA nº274.

A correlação entre os resultados de análises de pontos distintos nos mostram que estes pontos estão contaminados, e que pode ser devido ao despejo de esgoto oriundos de vazamento na rede coletora ou de ligações clandestinas na rede de drenagem. Esta atual pesquisa sugere que a falta de saneamento básico nas franjas de Cariacica-ES pode expor as comunidades locais a uma variedade de doenças transmitidas pela água. Portanto, é necessário que o poder público municipal dê mais atenção a essa área.

Perante os resultados apresentados, recomendam-se algumas ações de monitorização dos banhos costeiros como desenvolver planos de monitoramento em cooperação com as autoridades públicas, fornecer canais de informação aos usuários através de placas de qualidade da água, rastreamento mais detalhado dos tipos de usuários da orla, busca de informações sobre a relação entre doenças gastrointestinais e turistas à beira-mar, desenvolver tecnologias para melhor aprimorar métodos e decisões mais rápidas e eficientes sobre os riscos às populações é uma ação que precisa ser incentivada.

Para complementar esses estudos microbiológicos iniciais da orla de Cariacica – ES, outros estudos podem ser desenvolvidos como análises físico-químicas, microbiológicas e ecotoxicológicas são propostos na área. Além disso, o trecho amostral pode ser expandido para aumentar o escopo e a relevância do estudo de qualidade da água desta Orla.

AGRADECIMENTOS

Meu primeiro agradecimento é a Deus, aquele em que me sustentou até aqui e permitiu que eu pudesse estar chegando até essa etapa. Não poderia deixar de agradecer o apoio da minha família que foram de extrema importância para que todo este projeto se realizasse.

Deixo meu agradecimento em especial ao meu orientador Eclair Venturini filho, a minha banca de TCC Pamela Deccotignies e Wedson Correa. Não poderia deixar de lembrar daqueles que fizeram parte deste projeto, toda equipe do laboratório da faculdade Unisales e a Marinalva do laboratório externo e que também me ajudou nesta caminhada.

REFERÊNCIAS

- ALVARO, J. et al. **Ministério do Meio Ambiente**. 2021. Disponível em: <<http://www.ibama.gov.br>>. Acesso em: 16 Mai. 2021.
- ALVES, G. M. **Bactérias na Água de Abastecimento da Cidade de Piracicaba**. 2007.
- BORGES, F. et al. **Avaliação dos Parâmetros da balneabilidade no Rio Mearim no Município de Bacabal – MA**. 2014.
- ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR ISO/IEC 17025 – Requisitos gerais para competência de laboratórios de ensaios e calibração. Rio de Janeiro: 2005b.
- ANVISA, **Gram-negativos Fermentadores**. 2022. Disponível em: <https://www.anvisa.gov.br/servicos/controle/rede_rm/cursos/boas_praticas/MODULO2/introducao.htm>. Acesso em: 11 Nov. 2022.
- ALMEIDA, C. N.; et al. **Deteção de Enteropatógenos e teste de susceptibilidade a agentes sanitizantes de cepas diarreogênicas de Escherichia coli isoladas das praias de São Luís – Maranhão**. 2012. Disponível em: <<https://revistas.ufg.br/iptsp/article/view/20757/12180>>. Acesso em: 16 Nov. 2022.
- BRAGA, R. A. P.; UCHOA, T. M. M.; DUARTE, M. T. M. B. Impactos Ambientais sobre o manguezal de Suape – PE. **Acta Botanica Brasilica**, v.3, n.2, p.9-27,1989.
- CASTRO, A. C. D. O. et al. **Análises da água e sua contaminação por micro-organismos influenciando a viabilidade para o consumo humano**. **Científic@ - Multidisciplinary Journal**, v. 5, n. 2, p. 4–13, 14 maio 2018.
- CRISTIANE, M. et al. **Análise de microorganismos Patogênicos para Avaliação da balneabilidade**. 2009.
- CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. **Resolução CONAMA n° 237**, 19 de dezembro de 1997.
- CRISTINA PAIVA DE SOUSA. **Segurança Alimentar e Doenças Veiculadas por Alimentos: Utilização do Grupo Coliforme como um dos Indicadores de Qualidade de Alimentos**. 2006.
- CRISTIANE, M. et al. **Análise de microorganismos patogênicos para avaliação da balneabilidade**. 2009.
- CETESB (SÃO PAULO). L5.214: **Coliformes Totais: Determinação pela Técnica de Membrana Filtrante**. São Paulo. 2007. 2 p.
- EMBRAPA. **Manual de P Manual de P Manual de P Manual de P Manual de**. 2006.

GAETANI, S.-E. F. et al. **República Federativa do Brasil Presidente Dilma Vana Rousseff Vice-Presidente Michel Miguel Elias Temer Lulia Ministério do Meio Ambiente Ministra de Estado do Meio Ambiente Izabella Mônica Vieira Teixeira.** 2012.

IBGE, **População Cariacica – ES,** 2021. Disponível em: <
<https://cidades.ibge.gov.br/brasil/es/cariacica/panorama>>. Acesso em: 16 Nov. 2022.

INCAPE, **Governo do Estado do Espírito Santo,** 2022. Disponível em: <
<https://incaper.es.gov.br/>>. Acesso em: 15 Set. 2022

FRANCY, D. S.; DARNER, R. A. **Procedures for developing models to predict exceedances of recreational water-quality standards at coastal beaches.** 2006.

CUNHA, F. G., et al., **A relação entre a Balneabilidade das Praias e a Ocorrência de Doenças Diarreicas: Estudo de caso,** 2010.

JÚNIOR, MARCOS A. F. DA C. **Ambientais Manual de Impactos do Saneamento.** 2013.

KASPER, D. et al. **Metodologias de coleta, preservação e armazenamento de amostras de água para análise de mercúrio - Uma revisão Química Nova Sociedade Brasileira de Química,** 2015.

LEITE, M. A. **Balneabilidade, Índice de Qualidade da Água e Bioensaios de Toxicidade nas praias do Reservatório de Ilha Solteira/SP.** 2006.

MARIA DE MEDEIROS MARTINS, L. et al. **Análise dos parâmetros de balneabilidade: um estudo de caso sobre as praias dos municípios de João Pessoa e Cabedelo/PB analysis of bathing water parameters: case study on João Pessoa's and Cabedelo's beaches.** 2017.

MUSAFIR, M. et al. **Governo do Tocantins secretaria de estado da saúde superintendência de vigilância e proteção à saúde coordenadoria laboratório central de saúde pública marcelo de carvalho miranda Governador do Estado do Tocantins.** 2010.

MINISTÉRIO DA SAÚDE, **Resolução nº 12, de 2 de janeiro de 2001.**

MARTINS, L. M. M. et al.; **Análise dos parâmetros de balneabilidade: um estudo de caso sobre praias dos municípios de João Pessoa e Cabeludo/PB.** V. 5; nº 1, 2017. Disponível em: <
<https://periodicos.unipe.br/index.php/interscientia/article/view/452/413>>. Acesso em: 17 Nov. 2022.

NBR 9898. **Preservação e técnicas de amostragem de efluentes líquidos e corpos receptores.** 1987.

ROBERTO, S. B. **Universidade tecnológica federal do paraná programa de pós-graduação em engenharia ambiental virulência e resistência antimicrobiana.** 2016.

SILVA, M.P.; CAVALLI, D.R.; OLIVEIRA, T.C.R.M. **Avaliação do padrão coliformes a 45oc e comparação da eficiência das técnicas dos tubos múltiplos e petrifilm e na detecção de coliformes totais e Escherichia coli em Alimentos.** 2006. Disponível em: <
<https://www.scielo.br/j/cta/a/FwVQNPFX6pFSLMQVDBdfpkx/?format=pdf&lang=pt.>>. Acesso em: 8 abr. 2022.

SILVA, C. A. **Estudo de impacto ambientais.** E-tec, 2011. Disponível em: <
http://proedu.rnp.br/bitstream/handle/123456789/427/Estudo_de_Impactos_Ambientais.pdf?sequence=1&isAlloWed=y>. Acesso em: 13 dez. 2022.

SANTOS, L. D. R. et al. **Occurrence of multidrug-resistant Enterococcus faecium isolated from environmental samples.** Letters in Applied Microbiology, v. 73, n. 2, p. 237–246, 1 ago. 2021.

SENDA, F.; PAULO, S. **Laboratórios ambientais: papel na gestão do meio ambiente e uma análise sob a perspectiva arquitetônica.** 2017.

SILVA, R. H. et al. **Contaminação fecal da ostra *Crassostrea rhizophorae* e da água de cultivo do estuário do Rio Pacoti (Eusébio, Estado do Ceará): Isolamento e identificação de *Escherichia coli* e sua susceptibilidade a diferentes antimicrobianos**. Braz. J. vet. Res. anim. Sci. 2017.

SOUZA, C. et al. ***Escherichia coli* enteropatogênica: uma categoria diarreiofônica versátil**. Revista Pan-Amazônica de Saúde, v. 2, n. 7, p. 1–2, jul. 2016.

SILVA, N. da.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. de A.; TANIWAKI, M. H.; SANTOS, R. F. S. dos.; GOMES, R. A. R.; OKAZAKI, M. M. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**, 4 ed. São Paulo: Editora Varela, 2010.

SOUZA, A. S. ; TORRES, J. P. M. ; MEIRE, R. O. ; NEVES, R. C. ; COURI, M. S.; SEREJO, C. S. **Organochlorine pesticides (ocs) and polychlorinated biphenyls (PCBs) in sediments and crabs (*Chasmagnathus granulata*, Dana, 1851) from mangroves of Guanabara Bay, Rio de Janeiro state, Brazil**. Chemosphere v.73, S186–S192. 2008.

SCHERER, M. **Análise da qualidade técnica de estudos de impacto ambiental em ambientes da Mata Atlântica de Santa Catarina: abordagem faunística**. Biotemas. Florianópolis, v. 4, n. 24, p. 171-181, dez. 2011.

SILVA, D. M.; **Avaliação microbiológica das águas de bebedouros de duas instituições de ensino da cidade de Paracatu – MG, em relação à presença de Coliformes Totais e *Escherichia coli***. 2012. 85 f. Monografia (Graduação) – Faculdade Tecsona. 2012.

GRECHI S. Q.; **Avaliação da eficiência de métodos rápidos usados para detecção de Coliformes Totais e Coliformes Fecais em amostras de água, em comparação com a técnica de fermentação em tubos múltiplos**. 2005. 104 f. Dissertação (Mestrado alimentos e nutrição) – Universidade Paulista Júlio de Mesquita Filho, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Campus Araraquaras, 2005.

GOMES, G. P. A.; SABANI, S. P. **Comparação de requisitos para gestão de qualidade em laboratórios segundo NBR ISSO/IEC 17025 e boas práticas de laboratório (BPL)**. Embrapa, 2011. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/55388/1/CITE-09.pdf>>. Acesso em: 13 dez. 2022.

LUIS KICHE et al. **GUIA NACIONAL DE COLETA E PRESERVAÇÃO DE AMOSTRAS**. 2011. Disponível em: <www.cetesb.sp.gov.br>.

LABORCLIN, **ÁGAR SIM**. 2018. Disponível em: <<https://www.laborclin.com.br/wp-content/uploads/2019/06/SIM.pdf>>. Acesso em: 11 Nov. 2022.

LABORCLIN, **CITRATO SIMMONS**. 2019. Disponível em: <<https://www.laborclin.com.br/wp-content/uploads/2019/05/510014-CITRATO-SIMMONS-AGAR-3mL-TB13X1.pdf>>. Acesso em: 11 Nov. 2022.

LABORCLIN, **ÁGAR E CALDO UREIA**. 2019. Disponível em: <https://www.laborclin.com.br/wp-content/uploads/2019/05/agar_caldo_ureia_bula_25012019.pdf>. Acesso em: 11 Nov. 2022.

SCANDELAI, A. P. J.; SOLINA, M. R. M.; SOUZA, A.T.; **Avaliação da balneabilidade e qualidade da água da represa laranja – doce no Município de Martinópolis – SP**. São Paulo. v. 4; nº 2, p. 31-36. 2012. Disponível em: <<https://revistas.unoeste.br/index.php/ce/article/view/800/889>>. Acesso em: 16 Nov. 2022.

ZARRILI, R.; TRIPODI, M. F.; PODOLO, A. D.; FORTUNATO, R.; BAGATTINI, M.; CRISPINO, M.; FLORIO, A.; TRIASSI, M.; UTILI, R. **Molecular epidemiology of highlevel aminoglycoside-resistant enterococci isolated from patients in a university hospital in southern Italy**. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, v. 56, pg. 727- 835, 2005.