

VALIDAÇÃO DO MÉTODO 1603 DA USEPA PARA REALIZAÇÃO DE ANÁLISE DA PRESENÇA DE *Escherichia coli* EM ÁGUAS DOCES SUPERFICIAIS, ATÉ 24 HORAS APÓS A COLETA.



Adriana S. Carneiro¹; Luciana H. M. Lerche²; Andréia S. Uehara¹; Laila D. de Oliveira¹; Lygia R. Ferreira¹; José Roberto Costa²; Maria Inês Z. Sato² – ¹CETESB Cubatão; ²CETESB Sede – adrodrigues@sp.gov.br

INTRODUÇÃO

A *Escherichia coli* (*E. coli*) é uma bactéria que tem como habitat quase que exclusivamente o trato intestinal humano e de animais de sangue quente, e sendo assim, a sua presença em amostras de água, é uma indicação de poluição fecal e possível presença de patógenos. Por este motivo, a USEPA (United States Environmental Protection Agency) preconiza o uso desta bactéria como indicador apropriado para monitorar a qualidade microbiológica das águas doces superficiais. No Brasil, as Resoluções CONAMA nº 274/00, para águas recreacionais, e nº 357/05, para classificação e enquadramento de corpos d'água em seus usos múltiplos, estabelecem os limites para *E. coli*. Em São Paulo, é de responsabilidade da Companhia Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB) a verificação da qualidade das águas doces superficiais, dentro de um programa de monitoramento que é realizado através de coletas periódicas de amostras de água de rios e reservatórios. O prazo para o início da avaliação da presença de *E. coli* recomendado pelo método USEPA 1603, é de até 6 horas após a coleta, no

entanto este tempo é insuficiente principalmente para pontos de coleta localizados distantes dos laboratórios de análises. Visando a manutenção da qualidade do Programa de Monitoramento da CETESB, esse trabalho foi realizado tendo como objetivo demonstrar, através de estudos estatísticos, que a realização do ensaio em até 24 horas após a coleta, não altera de maneira significativa os resultados obtidos.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostras de água dos rios da UGRHI da Baixada Santista foram coletadas (n=35) e analisadas pela técnica de membrana filtrante segundo o método USEPA 1603 (ágar mTEC modificado), nos prazos de 6 e 24 h após a coleta. Os resultados obtidos foram submetidos ao teste de Dixon, para avaliação de resultados "outliers", aos testes F e t-student para verificar a homogeneidade das variâncias e médias, e ao teste do Qui-quadrado, para determinar se a distribuição era normal. Também foi calculada a incerteza relativa dos ensaios.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Por nossos dados serem resultado de análise da presença de bactérias, optamos por transformar os números brutos em seus correspondentes em escala logarítmica.

Após a aplicação do teste de Dixon (tabela 1) para eliminar valores "outliers", nenhum dos 35 pares de dados foi rejeitado.

nº das amostras	6h	24h	Log 6h	Log 24h	diff. dos logs (D)	D - Dmédio	D - Dmédio	
5	1131457	21	25	1,322	1,398	-0,07572071	-0,107	0,0114
26	1201980	56	65	1,748	1,813	-0,06472533	-0,096	0,0092
8	1131558	21	24	1,322	1,390	-0,05799195	-0,089	0,0079
7	1131557	44	48	1,643	1,681	-0,03778856	-0,069	0,0047
2	1131453	27	29	1,431	1,462	-0,03103423	-0,062	0,0039
4	1131456	50	53	1,699	1,724	-0,02530687	-0,056	0,0032
1	1131452	18	19	1,255	1,279	-0,0234811	-0,055	0,0030
20	1201622	38	43	1,580	1,633	-0,05368486	-0,085	0,0072
15	1131571	44	44	1,643	1,643	0	-0,031	0,0010
27	1201981	70	68	1,845	1,833	0,012589127	-0,019	0,0003
23	1201977	18	17	1,255	1,230	0,024823584	-0,006	0,0000
31	1201987	16	15	1,204	1,176	0,028028724	-0,003	0,0000
10	1131561	24	22	1,380	1,342	0,037788561	0,007	0,0000
12	1131568	56	51	1,748	1,708	0,040617851	0,010	0,0001
22	1201976	20	18	1,301	1,255	0,045757491	0,015	0,0002
11	1131567	58	52	1,763	1,716	0,04742465	0,016	0,0003
14	1131570	29	26	1,462	1,415	0,04742465	0,016	0,0003
28	1201982	19	17	1,279	1,230	0,04830468	0,017	0,0003
16	1131572	35	31	1,544	1,491	0,052706351	0,022	0,0005
13	1131569	26	23	1,415	1,362	0,053245512	0,022	0,0005
33	1203386	69	66	1,839	1,820	0,019305155	-0,012	0,0001
17	1201619	42	40	1,623	1,602	0,021189299	-0,010	0,0001
30	1201986	16	14	1,204	1,146	0,057991947	0,027	0,0007
19	1201621	58	55	1,763	1,740	0,023065304	-0,008	0,0001
34	1203387	57	54	1,756	1,732	0,023481096	-0,008	0,0001
3	1135454	52	45	1,716	1,653	0,06279083	0,032	0,0010
9	1131559	35	30	1,544	1,477	0,06694679	0,036	0,0013
6	1131556	20	17	1,301	1,230	0,070591074	0,039	0,0016
21	1201623	28	25	1,447	1,398	0,049218023	0,018	0,0003
32	1203385	68	60	1,833	1,778	0,054357662	0,023	0,0005
35	1203389	31	27	1,491	1,431	0,05989793	0,029	0,0008
24	1201978	21	16	1,322	1,204	0,118099312	0,087	0,0076
25	1201979	23	17	1,362	1,230	0,131278915	0,100	0,0100
18	1201620	20	16	1,301	1,204	0,096910013	0,066	0,0043
29	1201983	19	13	1,279	1,114	0,164810249	0,134	0,0179

Tabela 1: Teste de Dixon aplicado aos 35 pares de resultados. Para a realização do teste, foi utilizada a fórmula $(X_n - X_{n-2}) / (X_n - X_3)$, e foi considerado o valor crítico para Dixon - 5% = 0,412 e 1% = 0,483

A tabela 2 mostra o teste-F, o qual testa a homogeneidade dos dados. O F calculado foi igual a 1,18 que é inferior ao resultado encontrado na tabela de distribuição F (1,77). Assim, podemos afirmar que os dados obtidos nos ensaios são homogêneos.

nº das amostras	6h	24h	6h(log)	24h(log)	
1	1131452	18	19	1,255	1,279
2	1131453	27	29	1,431	1,462
3	1135454	52	45	1,716	1,653
4	1131456	50	53	1,699	1,724
5	1131457	21	25	1,322	1,398
6	1131556	20	17	1,301	1,230
7	1131557	44	48	1,643	1,681
8	1131558	21	24	1,322	1,390
9	1131559	35	30	1,544	1,477
10	1131561	24	22	1,380	1,342
11	1131567	58	52	1,763	1,716
12	1131568	56	51	1,748	1,708
13	1131569	26	23	1,415	1,362
14	1131570	29	26	1,462	1,415
15	1131571	44	44	1,643	1,643
16	1131572	35	31	1,544	1,491
17	1201619	42	40	1,623	1,602
18	1201620	20	16	1,301	1,204
19	1201621	58	55	1,763	1,740
20	1201622	38	43	1,580	1,633
21	1201623	28	25	1,447	1,398
22	1201976	20	18	1,301	1,255
23	1201977	18	17	1,255	1,230
24	1201978	21	16	1,322	1,204
25	1201979	23	17	1,362	1,230
26	1201980	56	55	1,748	1,716
27	1201981	70	68	1,845	1,833
28	1201982	19	17	1,279	1,230
29	1201983	19	13	1,279	1,114
30	1201986	16	14	1,204	1,146
31	1201987	16	15	1,204	1,176
32	1203385	68	60	1,833	1,778
33	1203386	69	66	1,839	1,820
34	1203387	57	54	1,756	1,732
35	1203389	31	27	1,491	1,431
média			1,504	1,472	
desv.padr.			0,269	0,278	
variância			0,044	0,052	
soma					

Tabela 2: Aplicação do teste-F, para avaliar a homogeneidade das variâncias

Submetemos nossos dados ao teste do Qui-quadrado (X^2) (tabela 3) para verificar se os mesmos apresentavam distribuição normal, e verificamos que o X^2 calculado (1,25) é menor que o X^2 tabelado (aproximadamente 49,80), logo, é possível inferir que o conjunto de valores obtidos das análises, apresenta distribuição normal.

nº das amostras	esperado		observado		O-E	(O-E) ²	(O-E) ² /E	
	6h	24h	Log 6h	Log 24h				
1	1131452	18	19	1,255	1,279	0,023	0,001	0,0004
2	1131453	27	29	1,431	1,462	0,031	0,001	0,0007
3	1135454	52	45	1,716	1,653	-0,063	0,004	0,0023
4	1131456	50	53	1,699	1,724	0,025306	0,001	0,0004
5	1131457	21	25	1,322	1,398	0,075721	0,006	0,0043
6	1131556	20	17	1,301	1,230	-0,07058	0,005	0,0038
7	1131557	44	48	1,643	1,681	0,037789	0,001	0,0009
8	1131558	21	24	1,322	1,390	0,057992	0,003	0,0025
9	1131559	35	30	1,544	1,477	-0,06695	0,004	0,0029
10	1131561	24	22	1,380	1,342	-0,03779	0,001	0,0010
11	1131567	58	52	1,763	1,716	-0,04742	0,002	0,0013
12	1131568	56	51	1,748	1,708	-0,04062	0,002	0,0009
13	1131569	26	23	1,415	1,362	-0,05325	0,003	0,0020
14	1131570	29	26	1,462	1,415	-0,04742	0,002	0,0015
15	1131571	44	44	1,643	1,643	0	0,000	0,0000
16	1131572	35	31	1,544	1,491	-0,05271	0,003	0,0018
17	1201619	42	40	1,623	1,602	-0,02119	0,000	0,0003
18	1201620	20	16	1,301	1,204	-0,09691	0,009	0,0072
19	1201621	58	55	1,763	1,740	-0,023	0,001	0,0003
20	1201622	38	43	1,580	1,633	0,054	0,003	0,0018
21	1201623	28	25	1,447	1,398	-0,049	0,002	0,0017
22	1201976	20	18	1,301	1,255	-0,046	0,002	0,0016
23	1201977	18	17	1,255	1,230	-0,025	0,001	0,0005
24	1201978	21	16	1,322	1,204	-0,118	0,014	0,0105
25	1201979	23	17	1,362	1,230	-0,131	0,017	0,0127
26	1201980	56	55	1,748	1,716	-0,033	0,001	0,0004
27	1201981	70	68	1,845	1,833	-0,012	0,000	0,0001
28	1201982	19	17	1,279	1,230	-0,049	0,002	0,0016
29	1201983	19	13	1,279	1,114	-0,165	0,027	0,0212
30	1201986	16	14	1,204	1,146	-0,058	0,003	0,0028
31	1201987	16	15	1,204	1,176	-0,028	0,001	0,0007
32	1203385	68	60	1,833	1,778	-0,054	0,003	0,0016
33	1203386	69	66	1,839	1,820	-0,019	0,000	0,0002
34	1203387	57	54	1,756	1,732	-0,023	0,001	0,0003
35	1203389	31	27	1,491	1,431	-0,060	0,004	0,0024

Tabela 3: Teste do Qui-quadrado, para avaliar a distribuição das frequências. O X^2 calculado está em log e corresponde ao número natural 1,25, que é menor que o X^2 tabelado correspondente a nossas condições de ensaio: 49,80 para p igual a 0,05.

Obtidos os valores de homogeneidade e distribuição, os dados foram submetidos ao teste t-student. Conforme apresentado na tabela 4, o t calculado (0,028) foi menor que o valor de t tabelado, para as condições de nosso ensaio e nível de confiança igual a 95% (1,995). Assim, o teste t-student mostrou que os resultados encontrados nos ensaios realizados até 6 e até 24 horas não são diferentes.

nº das amostras	6h	24h	6h(log)	24h(log)	
1	1131452	18	19	1,255	1,279
2	1131453	27	29	1,431	1,462
3	1135454	52	45	1,716	1,653
4	1131456	50	53	1,699	1,724
5	1131457	21	25	1,322	1,398
6	1131556	20	17	1,301	1,230
7	1131557	44	48	1,643	1,681
8	1131558	21	24	1,322	1,390
9	1131559	35	30	1,544	1,477
10	1131561	24	22	1,380	1,342
11	1131567	58	52	1,763	1,716
12	1131568	56	51	1,748	1,708
13	1131569	26	23	1,415	1,362
14	1131570	29	26	1,462	1,415
15	1131571	44	44	1,643	1,643
16	1131572	35	31	1,544	1,491
17	1201619	42	40	1,623	1,602
18	1201620	20	16	1,301	1,204
19	1201621	58	55	1,763	1,740
20	1201622	38	43	1,580	1,633
21	1201623	28	25	1,447	1,398
22	1201976	20	18	1,301	1,255
23	1201977	18	17	1,255	1,230
24	1201978	21	16	1	