

ESTUDO COMPARATIVO DOS PROCESSOS DE DESINFECÇÃO DOS PONTOS DE COLETA DE ÁGUA DISTRIBUÍDA E AVALIAÇÃO DA APLICABILIDADE DA RADIAÇÃO UV-C

Paula Yuri Nishimura⁽¹⁾

Bióloga (USP), Mestre em Ecologia de Ecossistemas Aquáticos e Terrestres (USP), Doutora em Ecologia de Ecossistemas Aquáticos (USP). Bióloga no Laboratório de Microbiologia da Divisão de Controle Sanitário da Baixada Santista da Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo (Sabesp).

Alessandra Zola Ramin⁽²⁾

Bióloga (USP), Mestre em Zoologia (USP). Bióloga do Laboratório de Microbiologia da Divisão de Controle Sanitário da Baixada Santista da Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo (Sabesp).

Juliana Dias Valitutti Romero⁽³⁾

Engenheira Química (Unisantia), MBA em Gestão e Tecnologia Ambientais (USP). Supervisora da Divisão de Controle Sanitário da Baixada Santista da Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo (Sabesp).

Reinaldo Guimarães Gomes⁽⁴⁾

Químico Industrial (UFRJ), Pós-Graduado em Gestão Ambiental (Universidade Católica de Santos).

Allan Saddi Arnesen⁽⁵⁾

Engenheiro Sanitarista e Ambiental (UFSC), Mestre em Sensoriamento Remoto (INPE), Especialista em Gerenciamento de Projetos – Práticas do PMI (SENAI). Gerente do Departamento de Acervo e Normalização Técnica da Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo (Sabesp).

Endereço⁽¹⁾: Alameda Adriano Neiva da Motta e Silva, 45 - José Menino - Santos - São Paulo - CEP: 11065-690 - Brasil - Tel: +55 (13) 3333-1113 - e-mail: pnishimura@sabesp.com.br

RESUMO

Como responsável pelo monitoramento dos Sistemas de Abastecimento de Água na Baixada Santista, a Sabesp realiza o controle microbiológico da água distribuída conforme as exigências regulatórias. Esse controle é realizado em pontos estratégicos das redes de distribuição, especificamente em cavaletes que possuem registros ou torneiras, que passam por um tratamento antes da retirada da amostra. O objetivo deste trabalho foi comparar diferentes tratamentos (água corrente, hipoclorito de sódio 1%, álcool 70° INPM e radiação UV-C) aplicados antes da amostragem quanto à eficiência na remoção de bactérias e quanto à taxa de contaminação da amostra. Paralelamente, avaliou-se a aplicabilidade de um equipamento portátil de radiação UV-C. Concluiu-se que *E. coli* é muito sensível às condições ambientais presentes nos pontos de coleta e que o risco de contaminação das amostras devido às interferências externas é baixo. Quanto aos tratamentos, todos os métodos de desinfecção testados, aliados ao enxágue com água corrente, são eficientes, cada um com suas particularidades. O tratamento com hipoclorito, seguido por enxágue com água corrente, é o que apresenta melhor custo-benefício para reduzir o risco de contaminação da amostra de água distribuída. O equipamento de radiação UV-C necessita de adequações técnicas para ter aplicabilidade na coleta de água distribuída.

PALAVRAS-CHAVE: monitoramento, contaminação de amostra, *Escherichia coli*.

INTRODUÇÃO

O controle microbiológico da água distribuída é realizado conforme exigido no Anexo XX da Portaria de Consolidação nº 5, de 28 de setembro de 2017, alterado pela Portaria GM/MS nº 888 de 04 de maio de 2021 (BRASIL, 2021). Este controle é realizado executando-se amostragens em pontos estratégicos das redes de distribuição da Região Metropolitana da Baixada Santista (RMBS), mais especificamente, em cavaletes que possuem registros ou torneiras, podendo estar protegidos em caixas UMA (Unidade de Medição de Água; Figura 1).

Figura 1 - Caixa UMA pertencente à malha amostral da Região Metropolitana da Baixada Santista.



A caixa UMA é aberta somente para a realização da amostragem, sendo que antes da retirada da amostra, o técnico realiza um tratamento no bocal por onde sai a água, com o objetivo de evitar interferências externas que possam ser fonte de contaminação. Segundo o procedimento de amostragem da Divisão de Controle Sanitário da Baixada Santista (RSOC), podem ser utilizados como agente químico na desinfecção dos pontos de coleta o hipoclorito de sódio 1% ou álcool 70° INPM. Antes da coleta da amostra é necessário realizar a desinfecção do bocal com o agente químico e posteriormente, para eliminar qualquer tipo de contaminação, enxaguar abundantemente com a água do próprio ponto de coleta, deixando escoá-la por tempo suficiente para eliminar impurezas e a água acumulada na tubulação. Após esse procedimento é iniciada a retirada da amostra.

O Guia Nacional de Coleta e Preservação de Amostras (ANA/CETESB, 2011) recomenda a metodologia de desinfecção com hipoclorito de sódio 1%. Porém, o transporte de desinfetantes químicos para os trabalhos de campo é problemático, pois estes podem volatilizar, afetando sua concentração e, conseqüentemente, a eficiência de desinfecção. Além disso, os coletores relatam que respingos de hipoclorito de sódio danificam seus uniformes facilmente.

A desinfecção física por meio de radiação ultravioleta (UV-C) seria uma alternativa frente às desvantagens dos agentes de desinfecção químicos, conforme elencado entre outras vantagens e desvantagens na Tabela 1. Atualmente, existem equipamentos portáteis de esterilização de superfícies por meio de radiação UV-C. No entanto, não há comprovação da eficiência destes equipamentos para a desinfecção dos pontos de coleta de amostras de água distribuída, sendo necessária a realização de testes para possibilitar esse tipo de uso em substituição à desinfecção por agente químico. Além disso, também é necessário avaliar a aplicabilidade desses equipamentos, de forma a garantir uma operação eficiente das unidades de controle sanitário.

Tabela 1 - Vantagens e desvantagens dos métodos de desinfecção químicos (álcool 70° INPM e hipoclorito de sódio 1%) e físico (radiação UV-C).

Agente desinfetante	Vantagens	Desvantagens
Álcool 70° INPM	<ul style="list-style-type: none"> - Baixo custo - Fácil manuseio - Pouco tóxico 	<ul style="list-style-type: none"> - Volatilização durante transporte - Necessidade de validação (não está previsto no manual da ANA/CETESB)
Hipoclorito de sódio 1%	<ul style="list-style-type: none"> - Baixo custo - Fácil manuseio - Método de desinfecção consagrado 	<ul style="list-style-type: none"> - Danifica uniformes - Volatilização durante transporte - Pode causar corrosão nos pontos de coleta - Perigoso em contato com a pele e olhos
Radiação UV-C	<ul style="list-style-type: none"> - Inovador - Evita o uso de reagentes corrosivos - Não corrói o ponto de coleta 	<ul style="list-style-type: none"> - Requer cuidados no manuseio - Necessidade de validação (não está previsto no manual da ANA/CETESB) - Processo de aquisição - Necessita manutenção periódica - Necessidade de controle periódico de eficiência de desinfecção - Perigoso em contato com a pele e olhos a curto e longo prazo

OBJETIVOS

O objetivo geral deste trabalho foi comparar diferentes tratamentos (água corrente, hipoclorito de sódio 1%, álcool 70° INPM e radiação UV-C) nos pontos de coleta de água distribuída quanto à eficiência na remoção de bactérias e quanto à redução da taxa de contaminação da amostra. Como objetivo específico, avaliou-se a aplicabilidade do equipamento portátil de radiação ultravioleta (UV-C) na desinfecção dos pontos de coleta de água distribuída.

METODOLOGIA

- Validação da metodologia

Para atingir os objetivos propostos neste estudo foi necessário validar uma metodologia de amostragem e de ensaio, uma vez que este tipo de avaliação não faz parte da rotina do Laboratório de Microbiologia da RSOC. Para isso, foram realizadas coletas-piloto para adequar a metodologia a ser utilizada neste estudo. As coletas-piloto foram realizadas em caixas UMA da malha amostral da RMBS e foram avaliados três tratamentos: (1) água corrente, (2) hipoclorito de sódio 1% e (3) álcool 70° INPM.

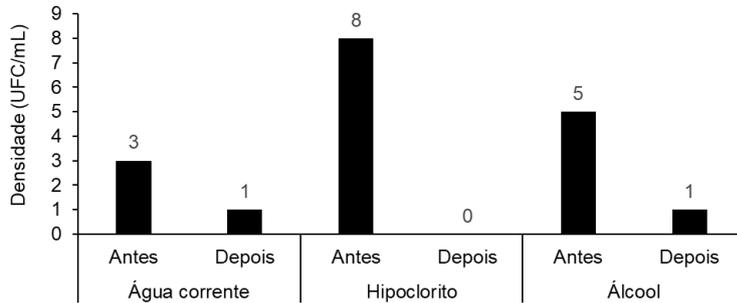
Para avaliar a eficiência de cada tratamento na redução de densidade de bactérias, foram realizadas coletas com *swabs* na parte interna do bocal antes e depois de cada tratamento. No laboratório, o material coletado em cada *swab* foi ressuspensionado em 5 mL de água estéril e analisado pela técnica de *pour plate count*, conforme método 9215B (Contagem de Bactérias Heterotróficas) do Standard Methods for Examination of Water and Wastewater (SMEWW; APHA, 2022a).

Contaminação natural

Em 11/01/2023, foram realizadas coletas-piloto em pontos de coleta com maior potencial de contaminação, ou seja, que apresentavam aspecto sujo por estarem em locais mais expostos e que não tivessem sido coletados recentemente. Foi realizada uma coleta para cada tratamento.

Os resultados desta coleta-piloto mostraram que houve redução da densidade de bactérias após os tratamentos com água corrente, hipoclorito e álcool, no entanto, a contaminação inicial foi muito baixa nos três casos, indicando que a contaminação natural do ponto de coleta é insuficiente para o estudo (Figura 2). Além disso, constatou-se ser inviável a avaliação pareada (antes e depois) do mesmo ponto de coleta, uma vez que a coleta por meio de *swab* é autodestrutiva, inviabilizando a comparação posterior.

Figura 2 - Densidade de bactérias antes e depois dos tratamentos com água corrente, hipoclorito de sódio 1% e álcool 70° INPM da coleta piloto realizada em 11/01/2023 utilizando a contaminação natural dos pontos de coleta.



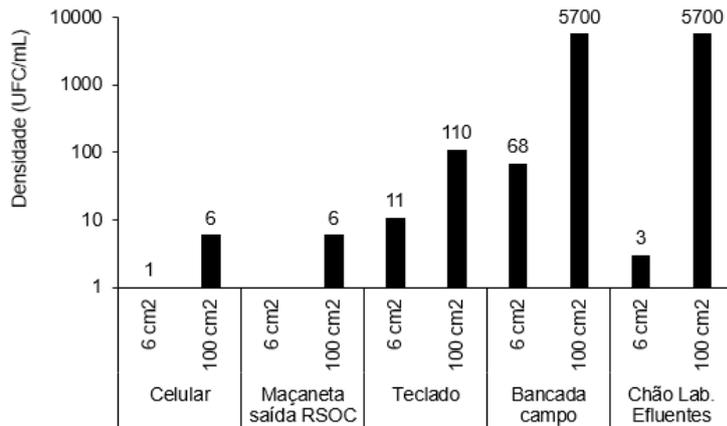
Para investigar a causa do baixo crescimento bacteriano nos pontos de coleta, em 24/01/2023, foram realizados *swabs* em diversas superfícies (tela de celular, maçaneta, teclado, bancada de recepção de amostras e chão do Laboratório de Efluentes da RSOC) em uma área de aproximadamente 100 cm² e em uma área menor (6 cm²), correspondente à área interna do bocal onde foi realizado o *swab* na primeira coleta-piloto, obtendo-se o resultado apresentado na Figura 3.

Este teste mostrou que há menor crescimento em superfícies lisas, como tela do celular e maçaneta, enquanto que superfícies porosas, como bancada e chão (ambos de material emborrachado) apresentaram elevada densidade de bactérias. Além disso, mostrou que o tamanho da área em que o *swab* é realizado também influencia a densidade bacteriana, uma vez que se observou pequena densidade de bactérias no *swab* realizado na área pequena mesmo em superfícies muito contaminadas, como ocorreu no chão e na bancada.

Diante dos resultados obtidos na coleta-piloto com contaminação natural e no teste de crescimento bacteriano em diferentes superfícies, observou-se que a pequena área do bocal e o material liso e hidrofóbico limitam o crescimento bacteriano nos pontos de coleta. Outros fatores reduzem o risco de contaminação, como a pouca manipulação, desinfecção frequente durante as amostragens e a proteção conferida pela caixa UMA.

Desta forma, concluiu-se que a contaminação natural dos pontos de coleta não é suficiente e que seria necessário contaminar artificialmente o ponto de coleta para atender os objetivos propostos neste trabalho.

Figura 3 - Densidade de bactérias presentes em diversas superfícies e em áreas de 6 e 100 cm², coleta realizada em 24/01/2023. Eixo y em escala logarítmica para melhor visualização dos resultados baixos.



Contaminação artificial com cepa de *E. coli* em água

Em 18 e 25/01/2023, foram realizadas coletas-piloto na caixa UMA do ponto 001RE046, onde o bocal foi contaminado com *swab* embebido em cepa de *E. coli* dissolvida em água, de forma padronizada (três voltas do *swab* no bocal; Figura 4). Inicialmente, foi necessário determinar a quantidade de bactérias inoculadas no bocal durante a contaminação artificial. Para isso, o bocal foi contaminado e, após um minuto, passou-se outro *swab* a fim de coletar as bactérias inoculadas, que foram quantificadas em laboratório posteriormente. Para avaliar a variabilidade do inóculo inicial, foram coletadas quatro amostras. Também foram realizados cinco testes com contaminação artificial para cada tratamento (água corrente, hipoclorito e álcool).

Os resultados do inóculo inicial foram 170, 300, 140 e 270 UFC/mL, correspondendo a um valor médio de 220 UFC/mL. Tais valores foram consistentes, porém, abaixo do esperado, uma vez que o inóculo inicial apresentava concentração na ordem de grandeza de 10⁵ UFC/mL.

Após os tratamentos, observou-se ausência de crescimento bacteriano em todas as cinco amostras coletadas em cada um dos tratamentos. Apesar da aparente eficiência, durante a realização dos procedimentos de contaminação do bocal com cepa de *E. coli* diluída em água, observou-se que esta contaminação era muito superficial. Como o material do interior do bocal é muito liso e hidrofóbico, as gotículas da solução com a cepa eram removidas facilmente pela ação da água corrente ou do jato do agente químico durante a aplicação. Portanto, a metodologia de contaminação artificial com cepa de *E. coli* diluída em água não foi considerada adequada para o estudo.

Figura 4 - Contaminação do bocal com *swab* embebido em solução de água estéril com cepa de *E. coli*.



Contaminação artificial com água residual

Testou-se a contaminação artificial com água residual (esgoto sanitário pré-oxidado), com concentração de *E. coli* na ordem de 10^5 UFC/mL (segundo histórico de ensaios do laboratório) e partículas sólidas que poderiam impregnar na superfície interna do bocal. A contaminação foi feita em laboratório, submergindo tubetes na amostra de água residual, de forma padronizada (tempo e profundidade; Figura 5A). Os tubetes contaminados foram deixados em repouso de um dia para outro para que a amostra impregnasse (Figura 5B). Os tubetes são peças de PVC de cerca de 5 cm de comprimento que formam a porção final do bocal da caixa UMA (Figura 5C).

Em 01/02/2023, foram realizadas coletas-piloto no ponto 001RE046, nas quais foram testados tubetes contaminados artificialmente com água residual. Coletou-se três amostras de inóculo inicial e duas amostras para cada tratamento. Após todos os tratamentos, observou-se redução da densidade de bactérias em comparação ao inóculo inicial (Figura 6). No entanto, a densidade do inóculo inicial apresentou grande variação entre as amostras e densidade abaixo do esperado.

Paralelamente ao teste quantitativo, realizou-se teste qualitativo do material sobressalente do ressuspensão de cada *swab* e observou-se ausência de coliformes totais e *E. coli*, indicando que as bactérias quantificadas não eram do grupo coliformes. Ou seja, as bactérias do tipo coliformes presentes na amostra de água residual não sobreviveram. Portanto, a contaminação com água residual não seria adequada para o presente estudo, uma vez que *E. coli*, que é o microrganismo-alvo, não sobreviveu até o momento do teste.

Figura 5 - A) Processo de contaminação do tubete com água residual; B) Tubetes contaminados em repouso de um dia para o outro; C) Tubete contaminado encaixado na caixa UMA para realização dos testes.

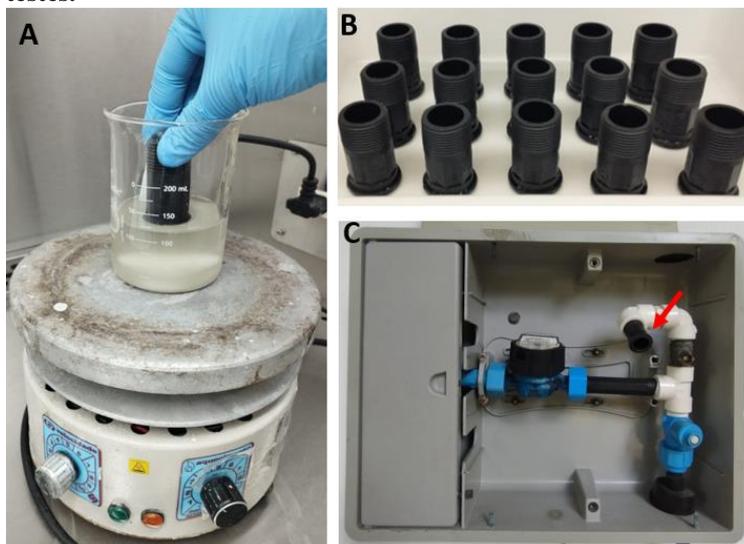
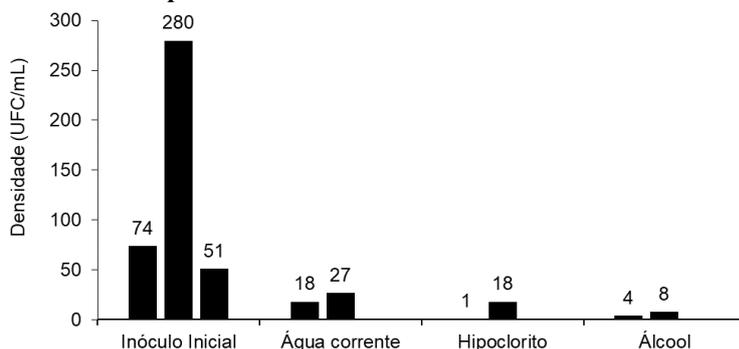


Figura 6 - Densidade de bactérias do inóculo inicial e após os tratamentos com água corrente, hipoclorito de sódio 1% e álcool 70° INPM nos testes realizados com contaminação artificial com água residual em 01/02/2023 no ponto 001RE046.

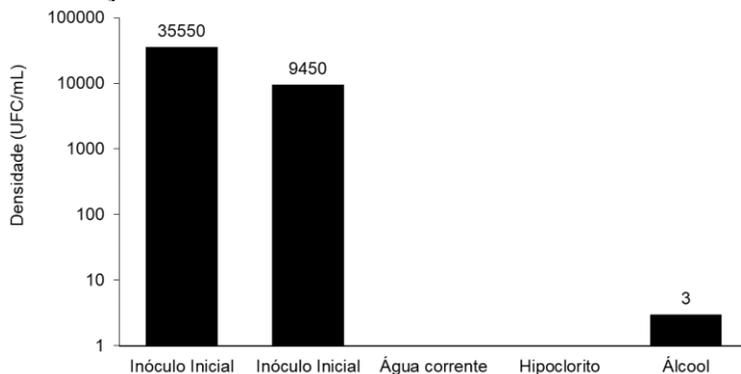


Contaminação artificial com cepa de *E. coli* em meio de cultura TSB

Testou-se a contaminação artificial com *E. coli* em meio de cultura Tryptic Soy Broth (TSB) incubada por 24h, uma vez que a composição do meio de cultura poderia aumentar a aderência à parede do tubete e a presença do alimento reduziria a morte das bactérias, que estariam em densidade ainda maior que nos testes anteriores. A contaminação dos tubetes foi feita em laboratório da mesma forma que a contaminação com água residual, descrita anteriormente.

Em 08/02/2023, foram realizadas coletas-piloto no ponto 001RE046 com tubetes contaminados com *E. coli* em meio TSB. Coletou-se duas amostras de inóculo inicial e uma amostra para cada tratamento. Observou-se redução da densidade de bactérias após os tratamentos, em comparação ao inóculo inicial (Figura 7). A densidade do inóculo inicial foi elevada. Portanto, a contaminação dos tubetes com *E. coli* em meio de cultura TSB foi a metodologia considerada mais adequada para o presente estudo.

Figura 7 - Densidade de bactérias dos inóculos iniciais e após os tratamentos com água corrente, hipoclorito de sódio 1% e álcool 70° INPM nos testes realizados com contaminação artificial com *E. coli* em meio de cultura TSB em 08/02/2023 no ponto 001RE046. Eixo y em escala logarítmica para melhor visualização dos resultados baixos.



- Aplicação da metodologia

Contaminação artificial

Conforme descrito anteriormente em “Validação da metodologia”, para contaminar artificialmente os pontos de coleta, utilizou-se uma preparação de cepa de *E. coli* em meio de cultura TSB incubada a $35 \pm 0,5$ °C por pelo menos 24 horas. Os tubetes foram submergidos de forma padronizada na preparação e deixados em repouso de um dia para o outro.

Quantificação do inóculo inicial

Para estimar a quantidade de bactérias presentes nos tubetes contaminados, amostras de inóculo inicial foram coletadas com *swab* em tubetes contaminados. O *swab* foi ressuscitado em 5 mL de água estéril e, em seguida, quantificado em laboratório pelo método *pour plate count* conforme método 9215B (Contagem de Bactérias Heterotróficas) do Standard Methods for Examination of Water and Wastewater (SMEWW; APHA, 2022a), para quantificação das bactérias coletadas com *swab*.

Amostragem

O estudo foi realizado na caixa UMA do ponto amostral 001RE046, localizado na Alameda Adriano Neiva da Motta e Silva, nº 45, em Santos (SP). As coletas foram realizadas em 01 e 08 de março de 2023 no período da manhã e as amostras foram processadas no Laboratório de Microbiologia da RSOC no período da tarde.

Tratamentos e parâmetros avaliados

As coletas foram realizadas avaliando quatro tratamentos (Figura 8): (1) água corrente - manter o fluxo de água corrente por um minuto; (2) hipoclorito de sódio 1% e (3) etanol 70° INPM - aplicação do agente químico no bocal, aguardar um minuto a ação do agente químico e ligar o fluxo de água por um minuto; e (4) radiação UV-C - aplicar a radiação UV-C no bocal em diversas direções por pelo menos dois segundos em cada direção e ligar o fluxo de água por um minuto. Para cada tratamento, foi avaliada a eficiência de desinfecção e a taxa de contaminação de amostra.

O equipamento de radiação ultravioleta utilizado foi o Soluva® Zone H da marca Heraeus, cedido pela empresa Carvalhaes.

Figura 8 - Tratamentos aplicados: água corrente, agente desinfetante líquido (hipoclorito de sódio 1% ou álcool 70° INPM) e radiação UV-C.



Coleta e processamento das amostras

Foram coletadas três amostras em cada teste realizado, sendo duas amostras para análise qualitativa de *E. coli* e uma amostra de swab. Após a instalação do tubete contaminado na caixa UMA, coletou-se a primeira amostra de análise qualitativa de *E. coli*, após a realização de cada tratamento e imediatamente após a abertura do fluxo de água, para avaliação da taxa de contaminação da amostra sem a interferência da água corrente. Após um minuto com o fluxo de água corrente, a segunda amostra qualitativa de *E. coli* foi coletada, para avaliação da taxa de contaminação da amostra após o tratamento completo. Ao fim do tratamento, coletou-se swab no interior do bocal, para avaliação da eficiência de desinfecção.

Em laboratório, as amostras qualitativas de *E. coli* foram analisadas através do método do substrato enzimático, conforme método 9223B do SMEWW (APHA, 2022b), para avaliar a contaminação da amostra por *E. coli*. As amostras coletadas com swab, foram avaliadas pelo método *pour plate count*, conforme método 9215B (APHA, 2022a)), para quantificação das bactérias coletadas pelo swab após o tratamento completo.

Análise dos resultados

Avaliou-se a taxa de contaminação da amostra antes e depois de cada tratamento. A taxa de contaminação de amostra foi considerada como a porcentagem de amostras contaminadas com *E. coli*, em relação ao número total de amostras coletadas daquele universo amostral.

Os resultados quantitativos foram transformados em logaritmo e os grupos (tratamentos e inóculo inicial) foram avaliados com base nos valores médios. A eficiência de desinfecção foi considerada como a porcentagem de redução da densidade bacteriana em cada tratamento em relação à densidade do inóculo inicial. Os grupos foram comparados através de testes t bicaudais, com nível de significância de 95%.

Equipamento de radiação UV-C: Avaliação do usuário

Dentre os agentes desinfetantes testados, o equipamento de radiação UV-C é o único inédito na RSOC. Portanto, seis técnicos da equipe de amostragem da RSOC, que são os potenciais usuários do equipamento, simularam seu uso para avaliar a aplicabilidade na rotina de coleta de amostras de água distribuída.

RESULTADOS

Eficiência de desinfecção

Os resultados de densidade de *E. coli* no inóculo inicial e após os tratamentos estão apresentados na Tabela 2. A água corrente foi o tratamento menos eficiente, com 57,7% de redução de bactérias, seguido pela radiação UV-C (91,1%), álcool 70° INPM (96,0%) e hipoclorito de sódio 1% (100%).

A densidade de *E. coli* foi menor depois de todos os tratamentos, em comparação ao inóculo inicial (Figura 9). Comparando os tratamentos, as bactérias restantes no bocal estavam em maior densidade no tratamento com água corrente (Figura 9). Não houve diferença significativa entre as densidades de *E. coli* nos tratamentos com álcool, hipoclorito e radiação UV-C (Tabela 3).

Tabela 2 - Densidade de *E. coli* em UFC/mL e transformada em log10 no inóculo inicial e nos tratamentos com água corrente, álcool 70° INPM, hipoclorito de sódio 1% e radiação UV-C e as respectivas médias, desvios padrões e eficiência de desinfecção.

Inóculo Inicial		Água corrente		Álcool		Hipoclorito		UV	
UFC/mL	Log10	UFC/mL	Log10	UFC/mL	Log10	UFC/mL	Log10	UFC/mL	Log10
4600	3,6628	3	0,4771	0	0,0000	1	0,0000	0	0,0000
3100	3,4914	1	0,0000	0	0,0000	0	0,0000	0	0,0000
1100	3,0414	1	0,0000	1	0,0000	1	0,0000	1	0,0000
500	2,6990	2900	3,4624	1	0,0000	0	0,0000	2	0,3010
400	2,6021	2	0,3010	1	0,0000	0	0,0000	0	0,0000
100	2,0000	1	0,0000	2	0,3010	1	0,0000	0	0,0000
50	1,6990	0	0,0000	3	0,4771	0	0,0000	6	0,7782
35550	4,5508	2500	3,3979	0	0,0000	0	0,0000	14	1,1461
9450	3,9754	1100	3,0414	0	0,0000	0	0,0000	10	1,0000
3300	3,5185	16	1,2041	0	0,0000	0	0,0000	1	0,0000
1000	3,0000	140	2,1461	0	0,0000	0	0,0000	1	0,0000
200	2,3010	32	1,5051	8	0,9031	0	0,0000	1	0,0000
450	2,6532	99	1,9956	0	0,0000	0	0,0000	-	-
600	2,7782	2	0,3010	0	0,0000	0	0,0000	-	-
1500	3,1761	-	-	-	-	-	-	-	-
Média	-	3,0	1,3	-	0,1	-	0,0	-	0,3
Desvio padrão	-	0,8	1,3	-	0,3	-	0,0	-	0,4
Eficiência (%)	-	-	57,7	-	96,0	-	100,0	-	91,1

Figura 9 - Média (x), mediana (-), amplitude interquartilica (□), máximo (┘), mínimo (└) e pontos de exceção (o) das densidades (transformadas em log) do inóculo inicial e tratamentos com água corrente, álcool 70° INPM, hipoclorito de sódio 1% e radiação UV-C, representados em gráfico de caixas.

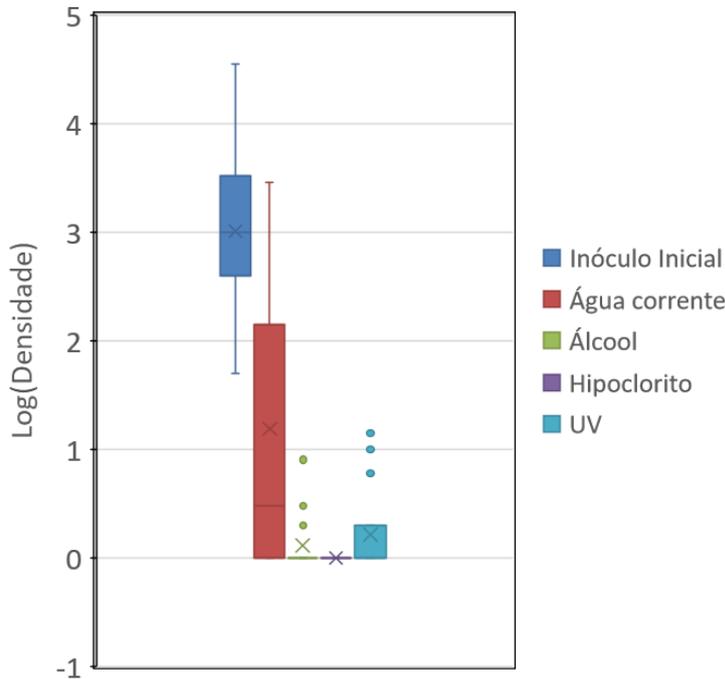


Tabela 3 - Valores de p dos testes t bicaudais entre as médias das densidades de *E. coli* do inóculo inicial e após os tratamentos com água corrente, álcool 70° INPM, hipoclorito de sódio 1% e radiação UV-C. Em **italico estão destacados os resultados com significância estatística.**

	Inóculo Inicial	Água corrente	Álcool	Hipoclorito	UV
Inóculo Inicial	*	-	-	-	-
Água corrente	<i>0,00</i>	*	-	-	-
Álcool	<i>0,00</i>	<i>0,01</i>	*	-	-
Hipoclorito	<i>0,00</i>	<i>0,00</i>	0,12	*	-
UV	<i>0,00</i>	<i>0,02</i>	0,32	0,06	*

Taxa de contaminação

Os resultados qualitativos de *E. coli* nas amostras coletadas, antes e depois da ação da água corrente, estão apresentadas na Tabela 4. Antes da ação da água corrente, a taxa de contaminação foi de 100% para o tratamento sem agente desinfetante e com radiação UV, 69,2% para o tratamento com álcool e 23,1% com hipoclorito. Após a água corrente, todos os tratamentos apresentaram 0% de taxa de contaminação de amostra.

Tabela 4 - Quantidade de amostras com ausência e presença de *E. coli* em 100 mL coletada no ponto 001RE046 contaminado artificialmente, antes e depois da ação da água corrente.

Tratamento	Antes			Depois		
	Ausência	Presença	Taxa de contaminação	Ausência	Presença	Taxa de contaminação
Água corrente	0	13	100%	13	0	0%
Álcool	4	9	69%	13	0	0%
Hipoclorito	10	3	23%	13	0	0%
UV	0	12	100%	12	0	0%

Equipamento de radiação UV-C: Avaliação do usuário

Conforme discutido nos itens anteriores, a radiação UV-C associada à água corrente foi eficiente na desinfecção e na prevenção da contaminação da amostra. No entanto, quanto à aplicabilidade na rotina de amostragem, o equipamento de radiação UV-C apresenta limitações (Tabela 5).

Tabela 5 - Pontos positivos e negativos elencados pelos técnicos da amostragem sobre a aplicabilidade do equipamento de radiação UV-C na rotina de coleta da RSOC.

Pontos positivos	Pontos negativos
Mais uma opção de método de desinfecção	Pesado
Qualidade dos EPIs	Grande
	Impossibilidade de uso na chuva
	Pouco prático
	Sensível e frágil
	Chama a atenção de assaltantes
	Impossibilidade de uso em pontos de coleta fora do padrão
	Necessidade de EPIs
	Tempo de espera para o aquecimento da lâmpada

A maioria dos técnicos da amostragem pontuaram que o equipamento de radiação UV-C é pesado e grande, tornando o manuseio incômodo e pouco prático, principalmente em situações em que a viatura estiver estacionada longe do ponto de coleta. O tamanho e a aparência do equipamento chamam a atenção e podem atrair assaltantes, expondo os técnicos a situações de perigo.

O design do equipamento impossibilita a sua utilização em pontos de coleta fora do padrão da caixa UMA. Por exemplo, alguns pontos apresentam o bocal muito fino, outros apresentam o bocal fixo, virado para dentro. O equipamento foi considerado frágil para ser transportado diariamente em viatura, junto com outros materiais perigosos como reagente químicos. Além disso, muitas coletas são realizadas em pontos de difícil acesso, com percurso turbulento que pode danificar o equipamento.

O uso de EPIs dividiu opiniões. Alguns técnicos consideram pouco funcional e trabalhoso vestir as luvas somente para o manuseio do equipamento, enquanto que outros consideram os EPIs práticos e confortáveis.

Segundo o fabricante, é preciso aguardar 90 segundos com o equipamento ligado para atingir o pico de radiação, o que, segundo os técnicos da amostragem, é inconveniente devido ao peso do equipamento (2,1 kg) e ao tempo ocioso gasto nesta atividade. Além disso, no manual do fabricante consta que o equipamento é sensível à chuva e umidade, portanto, o equipamento não poderia ser utilizado em caso de chuva, sendo esta mais uma limitação do método.

DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

Potencial de contaminação do ponto de coleta

Durante as amostragens, observou-se decaimento gradual na densidade de *E. coli* nas amostras coletadas para a quantificação do inóculo inicial, indicando que a exposição ao ambiente externo com radiação solar e oscilação de temperatura, resultaram na mortandade dos organismos. Além disso, *E. coli* (e outras bactérias do grupo coliformes) não sobreviveram na superfície dos tubetes contaminados com água residual. Estas observações no decorrer deste estudo demonstram que *E. coli*, organismo-alvo do monitoramento microbiológico na água distribuída, é muito sensível às condições naturais existentes nos pontos de coleta.

Portanto, pode-se afirmar que o risco de contaminação do ponto de coleta é muito baixo, devido à proteção conferida pela caixa UMA, pelo material de seus componentes, pela ausência de condições ideais para o crescimento bacteriano e pela sensibilidade do organismo alvo.

Comparação entre os tratamentos testados

Apesar do baixo risco de contaminação, caso haja uma contaminação do ponto de coleta, todos os métodos de desinfecção testados neste estudo (hipoclorito de sódio 1%, álcool 70° INPM e radiação UV-C), aliados à ação da

água corrente, foram eficientes na desinfecção dos pontos de coleta de água distribuída, reduzindo o risco de contaminação das amostras.

Considerando o crescimento das amostras coletadas com swab, podemos concluir que o tratamento somente com água corrente confere higienização limitada, reduzindo a quantidade de bactérias, porém, de forma menos eficiente do que com os agentes de desinfecção testados, pois algumas amostras apresentaram crescimento elevado. Isto pode ocorrer quando a contaminação está muito impregnada ou quando há ranhuras no material, que acumulam bactérias e impedem a completa remoção. No entanto, o fato de restarem bactérias aderidas no bocal por onde passa o fluxo de água não aumenta a taxa de contaminação das amostras, pois todos os tratamentos, inclusive somente a água corrente, impediram a contaminação da amostra qualitativa de *E. coli*.

Avaliando os agentes desinfetantes sem a ação da água corrente, o hipoclorito de sódio 1% foi o agente de desinfecção mais eficiente para prevenir a contaminação da amostra, seguido pelo álcool 70° INPM. A radiação UV-C, isoladamente, mostrou-se ineficiente na prevenção de contaminação das amostras, pois a ação da radiação UV-C age apenas na camada mais superficial de bactérias aderidas no material, o que pode ter sido suficiente para a redução de crescimento bacteriano observada nas amostras de swab. Além disso, por se tratar de um material em forma cilíndrica, com superfície não plana, é provável que a radiação UV-C não atinja as bactérias aderidas mais profundamente no interior do bocal, que podem ter contaminado a amostra de água coletada para análise qualitativa antes da ação da água corrente.

Na prática, os agentes desinfetantes nunca serão aplicados sem a ação posterior do fluxo da água, pois é necessário eliminar o agente químico aplicado durante a desinfecção (no caso dos desinfetantes líquidos). Desta forma, todos os agentes desinfetantes aliados ao fluxo de água foram eficientes na eliminação do risco de contaminação das amostras.

Aplicabilidade dos tratamentos

A utilização somente da água corrente seria o tratamento mais prático e barato durante as coletas. No entanto, seria somente uma higienização e não uma desinfecção, pois não é aplicado nenhum agente que elimina os microrganismos presentes na superfície do material. No presente estudo, somente a água corrente foi eficiente para evitar a contaminação da amostra, mas observou-se que em muitas amostras ainda restavam aderidas bactérias em elevada densidade. Desta forma, consideramos que para a coleta de amostras destinadas ao controle microbiológico é recomendada a aplicação de um agente desinfetante, assim como recomenda o Guia de Nacional de Coleta e Preservação de Amostras (ANA/CETESB, 2011). Portanto, apesar de apresentar o melhor custo-benefício, por apresentar baixíssimo custo, facilidade de manuseio, ausência de necessidade de manutenção, toxicidade, periculosidade e impacto ambiental, a ausência de ação desinfetante torna este tratamento não recomendado para coleta de amostras microbiológicas.

O álcool 70° INPM tende a ser preferido por alguns técnicos da amostragem devido à praticidade, pois este reagente é levado rotineiramente a campo para desinfecção das mãos antes da coleta. Além disso, apresenta baixo custo e média toxicidade/periculosidade (líquido inflamável). No entanto, apresentou maior risco de contaminação das amostras em comparação ao hipoclorito de sódio 1%, que apesar de requerer maior cuidado na manipulação, apresenta custo similar ao álcool 70° INPM.

Tanto o álcool 70° INPM quanto o hipoclorito de sódio 1% são obtidos comercialmente a baixo custo e com certificado de qualidade, minimizando a necessidade de controles de qualidade internos e manutenção, enquanto que o equipamento de radiação UV-C apresenta custo de aquisição e manutenção superior em comparação aos demais métodos de desinfecção, além da necessidade de realização de controles de qualidade periódicos.

Os técnicos da amostragem pontuaram mais pontos negativos do que positivos para a aplicabilidade do equipamento de radiação UV-C. Por ter sido projetado para uso em superfícies planas, a aplicação no bocal de coleta não foi eficiente. É necessário que o equipamento seja reprojeto especificamente para este fim, em um formato mais compacto e leve, que fosse inserido no bocal, emitindo radiação tanto no interior quanto no exterior, sem áreas sombreadas. Além disso, deve-se levar em consideração o impacto ambiental gerado na produção de equipamentos eletrônicos com componentes que levam metais pesados como lítio na bateria e mercúrio na lâmpada UV-C. Apesar de não ter sido realizado nenhum levantamento quantitativo acerca desta questão, pode-se sugerir que o impacto ambiental gerado com a utilização de um equipamento de radiação UV-C é maior em comparação ao uso do hipoclorito de sódio 1% e do álcool 70° INPM, considerando todo o ciclo de vida, desde a produção até o descarte destes materiais.

CONCLUSÕES

Após a realização do trabalho, foi possível concluir que:

- *E. coli*, organismo-alvo no monitoramento microbiológico na água distribuída, é muito sensível às condições ambientais susceptíveis nos pontos de coleta;
- O risco de contaminação por agentes externos no ponto de coleta é baixo;
- O tratamento somente com água corrente não deve ser utilizado para coleta de amostras microbiológicas (Tabela 6);
- Os métodos de desinfecção testados, aliados ao enxágue com água corrente, são eficientes, cada um com suas particularidades (Tabela 6);
- O tratamento com hipoclorito de sódio 1%, seguido por enxague com água corrente, é o que apresenta melhor custo-benefício para reduzir o risco de contaminação da amostra de água distribuída (Tabela 6);
- O equipamento de radiação UV-C precisa passar por adequações técnicas para que tenha aplicabilidade na coleta de água distribuída (Tabela 6).

Tabela 6 – Comparação entre os tratamentos avaliados.

Característica / Tratamento	Água corrente	Álcool 70° INPM	Hipoclorito de sódio 1%	Radiação UV-C
Custo	Baixíssimo	Baixo	Baixo	Alto
Manutenção	-	Baixo	Baixo	Alto
Toxicidade/Periculosidade	-	Médio	Médio	Alto
Dificuldade no manuseio	Baixíssimo	Baixo	Médio	Alto
Eficiência de desinfecção	Baixíssimo	Médio	Alto	Baixo
Impacto ambiental	-	Médio	Médio	Alto

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ANA/CETESB. *Guia Nacional de Coleta e Preservação de Amostras – Água, Sedimento, Comunidades Aquáticas e Efluentes Líquidos*. Brasília, DF. 2011. Disponível em <https://cetesb.sp.gov.br/wp-content/uploads/2021/10/Guia-nacional-de-coleta-e-preservacao-de-amostras-2012.pdf>. Acesso em: 10/04/2023.
2. BRASIL. Portaria GM/MS nº 888, de 4 de maio de 2021. *Altera o Anexo XX da Portaria de Consolidação GM/MS nº 5, de 28 de setembro de 2017, para dispor sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade*. Disponível em https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2021/prt0888_07_05_2021.html. Acesso em: 10/04/2023.
3. STANDARD METHODS COMMITTEE OF THE AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION, AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION, AND WATER ENVIRONMENT FEDERATION. 9215 Heterotrophic Plate Count In: *Standard Methods For the Examination of Water and Wastewater*. Lipps WC, Baxter TE, Braun-Howland E, editors. Washington DC: APHA Press. 2022a.
4. STANDARD METHODS COMMITTEE OF THE AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION, AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION, AND WATER ENVIRONMENT FEDERATION. 9223 Enzyme Substrate Coliform Test In: *Standard Methods For the Examination of Water and Wastewater*. Lipps WC, Baxter TE, Braun-Howland E, editors. Washington DC: APHA Press. 2022b.