



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"  
Instituto de Biociências  
Campus do Litoral Paulista



DETECÇÃO DE *Staphylococcus* spp MULTIRRESISTENTES EM  
ÁGUA E SEDIMENTOS DA BACIA HIDROGRÁFICA DO RIO  
ITANHAÉM

São Vicente - SP, 2018



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"  
Instituto de Biociências  
Campus do Litoral Paulista



DETECÇÃO DE *Staphylococcus* spp MULTIRRESISTENTES EM  
ÁGUA E SEDIMENTOS DA BACIA HIDROGRÁFICA DO RIO  
ITANHAÉM

**DISCENTE: TADEU DANTAS DE SOUZA**

**ORIENTADORA: PROF<sup>a</sup>. DR<sup>a</sup>. ANA JULIA FERNANDES CARDOSO OLIVEIRA**

**COORDENADOR: MSc. VANESSA COSTA ANDRADE**

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências do Campus do Litoral Paulista, UNESP, para a obtenção de título de Mestre no Programa de PósGraduação em Biodiversidade de Ambientes Costeiros

**São Vicente - SP, 2018**

S729d

Souza, Tadeu Dantas de

Detecção de Staphylococcus spp multirresistentes em água e sedimentos da

Bacia Hidrográfica do Rio Itanhaém / Tadeu Dantas de Souza. -- São Vicente, 2018

66 p. : il., tabs., fotos, mapas

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Biociências, São Vicente

Orientadora: Dra. Ana Julia Fernandes Cardoso Oliveira

Coorientadora: MSc. Vanessa Costa Andrade

1. Padrão microbiológico. 2. Staphylococcus spp. 3. Resistência microbiana. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do Instituto de Biociências, São Vicente. Dados fornecidos pelo autor(a). Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

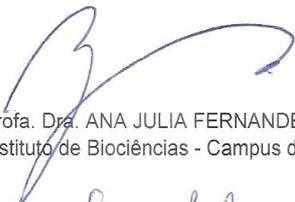
TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: DETECÇÃO DE STAPHYLOCOCCUS MULTIRESENTES EM ÁGUA E SEDIMENTOS DA BACIA HIDROGRAFICA DO RIO ITANHAÉM

**AUTOR: TADEU DANTAS DE SOUZA**

**ORIENTADORA: ANA JULIA FERNANDES**

**COORDINADORA: VANESSA DA COSTA ANDRADE**

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em BIODIVERSIDADE DE AMBIENTES COSTEIROS, área: Biodiversidade pela Comissão Examinadora:

  
Profa. Dra. ANA JULIA FERNANDES  
Instituto de Biociências - Campus do Litoral Paulista / UNESP

  
Prof. Dr. LUIZ FELIPE DOMINGUES PASSERO  
Instituto de Biociências - Campus do Litoral Paulista / UNESP

  
Prof. Dr. JOSE JUAN BARRERA ALBA  
Campus Baixada Santista / Universidade Federal de São Paulo - UNIFESP

São Vicente, 17 de dezembro de 2018

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a minha professora orientadora Dr<sup>a</sup> Ana Julia Cardoso Oliveira pela oportunidade de aprender e por acreditar no projeto.

A minha coorientadora MSc. Vanessa Costa Andrade pela paciência, atenção e apoio em todas as etapas do trabalho.

Agradeço a MSc. Roberta Merguizo Chinellato pelo carinho da recepção ao chegar pela primeira vez a instituição e pelo apoio durante a pesquisa.

Ao programa de Pós-Graduação em Ambientes Costeiros e ao Instituto de Biociências da UNESP Campus do Litoral Paulista, pela oportunidade de ampliar a formação acadêmica e profissional.

Aos estagiários que estiveram em momentos diferentes, mas que sempre colaboraram de alguma forma.

Aos professores das disciplinas do programa que contribuíram com seu conhecimento.

A minha mãe por sempre me incentivar a continuar estudando. A minha esposa por acreditar mais em mim do que eu mesmo. As minhas filhas pela torcida e incentivo constante.

A todos alunos que participaram em diferentes disciplinas. Todos que passam deixam um pouco de si e levam um pouco de nós.

A Deus pela realização de um sonho.

## RESUMO

A ocupação desordenada de áreas costeiras e os efeitos das ações antropogênicas tem causado diferentes impactos aos ambientes costeiros, com o aumento da descarga de efluentes domésticos como resultado do aumento da população local e flutuante. Para o monitoramento da qualidade da água destes ambientes é utilizado o padrão microbiológico definido pelas resoluções Conama 274/2000 e 357/2005, com as densidades de *Escherichia coli* e *Enterococcus* spp. Os efeitos do uso de antibióticos e os mecanismos de resistência microbiana ao longo dos anos são preocupações de saúde pública quanto ao risco de disseminação desta resistência além dos hospitais, sendo reportada no ambiente. Este trabalho teve como objetivo avaliar a qualidade microbiológica da água e dos sedimentos da Bacia Hidrográfica do Rio Itanhaém, isolar bactérias do gênero *Staphylococcus* spp e avaliar o perfil de resistência aos antibióticos. Foram selecionados seis pontos de coleta de amostras e identificados três espécies sendo *S. aureus*, *S. saprophyticus* e *S. schleiferi*, evidenciando-se a resistência a diferentes antibióticos, dentre os quais a vancomicina, utilizada em ambiente hospitalar. Esta resistência foi observada nos isolados da água, no ponto de coleta onde ocorre o lançamento do efluente da ETE, e no sedimento na área utilizada por banhistas.

**Palavras chave:** padrão microbiológico, *Staphylococcus* spp, resistência microbiana

## **ABSTRACT**

The disordered occupation of coastal areas and the effects of anthropogenic actions have caused different impacts to coastal environments with the increase of the discharge of domestic effluents as a result of the increase of the local population transitory. For the monitoring of the water quality of these environments the microbiological standard defined by the resolutions Conama 274/2000 and 357/2005, with the densities of *Escherichia coli* and *Enterococcus* spp. The effects of antibiotic use and the mechanisms of microbial resistance over the years are public health worry about the risk of dissemination of resistance beyond hospitals, being reported in the environment. The objective of this work was to evaluate the microbiological quality of water and sediments of the Itanhaém river hydrographic basin, isolate bacteria of the genus *Staphylococcus* spp and evaluate the antibiotic resistance profile. Six sample collection points were selected and identified three species being *S. aureus*, *S. saprophyticus* e *S. schleiferi*, evidencing the resistance to different antibiotics, in between the vancomycin, used in hospital. This resistance was observed in water isolates, at the collection point where the posting takes place of the ETE effluent, and sediment in the area used by bathers.

**KEY WORDS:** microbiological standard, *Staphylococcus* spp, microbial resistance

## Lista de siglas

AMC – Amoxicilina

APHA – American Public Health Association

CA-MRSA – *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina isolado da comunidade

CFL – Cefalotina

CFO – Cefoxitina

CIP – Ciprofloxacina

CLI – Clindamicina

ERI – Eritromicina

ETE – Estação de Tratamento de Esgoto

GEN – Gentamicina

GPS – Global Positioning System IPT – Instituto de Pesquisas Tecnológicas mecA –

Gene encontrado em células bacterianas que confere resistência a meticilina e antibióticos semelhante a penicilina

MRSA – *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina

NOV – Novobiocina

OD – Oxigênio dissolvido

PH – Potencial hidrogeniônico

POL – Polimixina

PYR – L-pyrroglutamyl-aminopeptidase

SUT - Sulfametoxazol

UFC – Unidade formadora de colônia

VAN – Vancomicina

## Lista de Tabelas

Tabela 1- Parâmetros físico-químicos por pontos de coleta referente a amostragem realizada durante a maré de quadratura a 0,4 m.....	17
Tabela 2 - Densidade de <i>E.coli</i> nas amostras de água (UFC 100/mL) e no sedimento (UFC/100g) P1 Montante, P2 Local do descarte do efluente, P3 Área de mangue, P4 Banco de sedimento próximo a ponte, P5 Boca da Barra, P6 Praiã.....	20
Tabela 3- Densidade de <i>Enterococcus</i> spp na água (UFC/100mL) e no sedimento (UFC/100g) P1 Montante, P2 Local do descarte do efluente, P3 Área de mangue, P4 Banco de sedimento próximo a ponte, P5 Boca da Barra, P6 Praiã .....	24
Tabela 4 - Densidade de <i>Staphylococcus</i> spp na água ( UFC/100 mL)e no sedimento (UFC/100g) P1 Montante, P2 Local do descarte do efluente, P3 Área de mangue, P4 Banco de sedimento próximo a ponte, P5 Boca da Barra, P6 Praiã.....	26
Tabela 5 - Percentual de resistência de <i>Staphylococcus</i> spp na água (UFC/100 mL) P1 Montante, P2 Local do descarte do efluente, P5 Boca da Barra.....	28
Tabela 6 - Percentual de resistência de <i>Staphylococcus</i> spp no sedimento (UFC/100g) P4 Banco de sedimento próximo a ponte, P5 Boca da Barra, P6 Praiã.....	29
Tabela 7 – Classificação das cepas de <i>Staphylococcus</i> spp isolados.....	31
Tabela 8 - Identificação das cepas isoladas por pontos de coleta.....	31

## Lista de figuras

Figura 1 – Imagem da região de estudo mostrando os pontos de coleta do Rio Itanhaém onde P1 Montante, P2 Local de descarte do efluente, P3 Área de mangue, P4 Banco de sedimento próximo a ponte, P5 Boca da Barra, P6 Praião (Bases cartográficas, IBGE, 2018).....	08
Figura 2 – Pontos de coleta no Rio Itanhaém – P1 Montante, P2 Descarte do efluente, P3 Área de Mangue, P4 Banco de areia P5 Boca da Barra, P6 Praião.....	09
Figura 3 - Sistema de filtragem à vácuo para determinação da densidade de bactérias em amostras de água e sedimento pela técnica de membrana filtrante.....	10
Figura 4 - Contagem e confirmação de <i>E.coli</i> por membrana filtrante em Ágar mTEC.....	11
Figura 5 – A figura a esquerda placas com colônias de <i>Enterococcus</i> spp em membrana sobre meio de cultura Ágar m-Enterococcus e a direita figura com teste de confirmação no gênero <i>Enterococcus</i> spp em meio de cultura Caldo Enterococcosel. ....	11
Figura 6 – Placas com colônias de <i>Staphylococcus</i> spp em membrana sobre meio de cultura Ágar Manitol.....	12
Figura 7 – Teste de urease por ensaio bioquímico para identificação de <i>Staphylococcus</i> spp.....	14
Figura 8 – Discos de teste PYR ensaio bioquímico, para identificação de <i>Staphylococcus</i> spp.....	14
Figura 9 – Placa com crescimento de <i>Staphylococcus</i> spp em teste de sensibilidade a novobiocina e a polimixina para identificação das espécies.....	15
Figura 10 - Teste de coagulase evidenciando aglutinação das cepas isoladas de <i>Staphylococcus</i> spp como positiva e a não aglutinação como negativa, para a identificação das espécies.....	16
Figura 11 – Placa mostrando o resultado do Teste de sensibilidade de uma cepa de <i>Staphylococcus</i> spp isolado.....	16

Figura 12 - Imagens da formação de banco de sedimentos após construção da ETE (Fonte:Google Earth).....	19
Figura 13 - Densidade de <i>E.coli</i> na água (UFC/100 mL). P1 Montante, P2 Local do descarte do efluente, P3 Área de mangue, P4 Banco de sedimento próximo a ponte, P5 Boca da Barra, P6 Praiãõ.....	21
Figura 14 - Densidade de <i>E.coli</i> no sedimento(UFC/100g) P1 Montante, P2 Local do descarte do efluente, P3 Área de mangue, P4 Banco de sedimento próximo a ponte, P5 Boca da Barra, P6 Praiãõ.....	22
Figura 15 - Densidade de <i>Enterococcus</i> spp na água (UFC/100 mL) P1 Montante, P2 Local do descarte do efluente, P3 Área de mangue, P4 Banco de sedimento próximo a ponte, P5 Boca da Barra, P6 Praiãõ.....	23
Figura 16 - Densidade de <i>Enterococcus</i> spp no sedimento (UFC/100g) P1 Montante, P2 Local do descarte do efluente, P3 Área de mangue, P4 Banco de sedimento próximo a ponte, P5 Boca da Barra, P6 Praiãõ.....	25
Figura 17 - Densidade de <i>Staphylococcus</i> spp na água (UFC/100 mL) e no sedimento (UFC/100g) P1 Montante, P2 Local do descarte do efluente, P3 Área de mangue, P4 Banco de sedimento próximo a ponte, P5 Boca da Barra, P6 Praiãõ.....	27
Figura 18 - Perfil de resistência por pontos de coleta, P1 Montante, P2 Local do descarte do efluente, P4 Banco de sedimento próximo a ponte, P6 Praiãõ.....	30
Figura 19 - Resistência dos isolados de <i>Staphylococcus</i> spp no sedimento.....	32
Figura 20 - Perfil de resistência de <i>S.aureus</i> por tipo de amostra.....	33

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	01
<b>2 OBJETIVO</b> .....	06
2.1 Objetivos Gerais.....	06
2.2 Objetivos Específicos.....	06
<b>3 METODOLOGIA</b> .....	07
3.1 Área de Estudo.....	07
3.2 Coleta de Amostras.....	08
3.3 Processamento das amostras.....	10
3.3.1. Amostras de Água.....	10
3.3.1.1 Membrana Filtrante.....	10
3.3.1.2 <i>Staphylococcus</i> spp.....	12
3.3.2 Sedimento .....	12
3.4 Isolamento e identificação dos <i>Staphylococcus</i> spp.....	13
3.4.1 Isolamento.....	13
3.4.2 Identificação. ....	13
3.4.2.1 Teste da urease. ....	13
3.4.2.2 Teste PYR.....	14
3.4.2.3 Sensibilidade a Novobiocina e Polimixina.....	14
3.4.2.4 Prova da coagulase.....	15
3.5 Teste de Sensibilidade.. ....	16
<b>4 Resultados e Discussão.</b> .....	17
<b>5 Bibliografia</b> .....	38
<b>6. Anexos</b> .....	45

## 1. Introdução

A ocupação desordenada das regiões costeiras e os efeitos das ações antropogênicas causam sérios impactos nos ecossistemas marinhos e adjacentes (IBAMA, 2002; Abessa et al., 2012; Zampieri et al., 2017) O aumento da descarga de esgotos domésticos, como resultado do aumento da população local e da população flutuante nos períodos de alta temporada é um dos principais impactos nestas áreas (Suguió, 2003; Cabianca e Souza, 2017).

No caso do litoral de São Paulo, o grande problema é a falta de infraestrutura adequada de saneamento básico, o que pode ocasionar o lançamento de efluentes nos corpos hídricos, muitas vezes sem tratamento prévio (Pinto e Oliveira, 2012; Andrade et al, 2015). Estes efluentes podem receber contribuições de diferentes naturezas tais como hospitais, águas pluviais, resíduos de estabelecimentos comerciais, os quais podem conter uma ampla diversidade de microrganismos patogênicos em sua composição (Vecchia et al., 2009; Nascimento et al., 2009; Abessa et al., 2012), as quais podem oferecer grande risco à saúde pública.

Os impactos antropogênicos em áreas costeiras, gerados pelo lançamento de efluentes domésticos, podem ser avaliados por meio da determinação da qualidade microbiológica (densidades de bactérias de origem fecal), presentes na água e nos sedimentos, (Oliveira e Pinhata, 2008; Oliveira et al., 2009; Pinto e Oliveira, 2012; Oliveira et al., 2012).

Em relação aos corpos hídricos naturais, doces, salobros e salgados, são duas as leis que estabelecem as diretrizes e padrões de qualidade, ambas definidas pelo Conselho Nacional de Meio Ambiente (CONAMA). A Resolução Conama 274/2000 (Anexo 1) define os critérios de balneabilidade das águas brasileiras tendo como bioindicadores a *Escherichia coli* e bactérias do gênero *Enterococcus* spp. classificando-as como próprias ou impróprias. O artigo 2<sup>o</sup> desta resolução considera as águas como impróprias quando, entre outros critérios, as densidades de *E.coli* na última amostragem forem superior a 2000 por 100 mililitros e *Enterococcus* spp superior a 400 por 100 mililitros. Esta classificação considera o

contato direto do usuário com os corpos de água com atividades de natação, esqui aquático e mergulho. A Resolução Conama 357/2005 (Anexo 2) dispõe sobre a classificação dos corpos de água, doce, salobra e salina, no território nacional, ampliando os critérios de qualidade para cada corpo d'água, quanto ao seu destino e uso e quanto aos critérios microbiológicos. Classifica os corpos de água doce em classes de I a IV (abastecimento para consumo humano, preservação do equilíbrio natural e das comunidades aquáticas, agricultura, irrigação, atividades de pesca e recreação), as águas salinas de I a IV (preservação de ambientes aquáticos, aquicultura e atividade de pesca, recreação de contato secundário, pesca amadora, navegação e harmonia paisagística), e as águas salobras de I a IV (preservação, proteção de comunidades aquáticas, aquicultura, atividade de pesca, pesca amadora, harmonia paisagística e navegação). Para cada classe de água são definidos valores aceitáveis de pH, oxigênio dissolvido e condições microbiológicas. No entanto, quando se trata de contato primário, esta faz referência a resolução 274/2000. Estas resoluções tem como princípios norteadores a saúde o bem estar humano, a balneabilidade, o desenvolvimento sustentável e o controle da poluição como garantia de um ambiente ecologicamente equilibrado.

A cidade de Itanhaém, localizada no litoral sudeste do Estado de São Paulo pertence à Região Metropolitana da Baixada Santista, com uma população fixa de 100.496 habitantes, sendo o maior território desta região. Este município apresenta grande atividade turística tendo como principais atrativos as atividades recreacionais em suas praias, rios e estuário.

De acordo com o relatório Resumo Executivo de Itanhaém, 51,89% do total de domicílios particulares são de uso ocasional e esta ocupação de áreas caracterizadas pela faixa de renda. A população de baixa renda ocupando áreas mais distantes da orla, em conjuntos habitacionais subsidiados pelo governo, e as de maior renda em áreas valorizadas, geralmente próximas à orla e com maior infraestrutura (INSTITUTO POLIS, 2012). O município sofre com diversos impactos antropogênicos, dentre eles o aporte de esgoto doméstico sem tratamento (Seriani et al., 2006).

Os investimentos em sistemas de tratamento de esgoto ocorrem de forma gradativa e não acompanham o crescimento populacional, crescimento este que, na maioria das vezes, ocorre sem planejamento. Em 2009 o município de Itanhaém

-  
contava com uma cobertura de apenas 9 % do sistema de tratamento de esgotos, e com estimativa que em 2012 este índice alcançasse 50 % de cobertura, subindo para 80 % em 2015 e atingindo 100% em 2018 (IPT, 2012). Em 2014, segundo o Relatório de Qualidade das Praias Litorâneas no Estado de São Paulo – CETESB, a porcentagem de coleta de esgoto nos municípios da região é de 68% e, em Itanhaém, dos 30% coletados são 100% tratados (CETESB , 2014).

Os sistemas de tratamento de esgotos implantados em Itanhaém têm como princípio o tratamento primário e secundário sendo, aeração, decantação e cloração. Utilizam como referência para descarte de efluentes a Resolução Conama 430/2011(BRASIL, 2011). Para que o efluente atenda as características ambientais da Resolução Conama 357/2005 para água classe 2, este processo de cloração deve reduzir a densidade bacteriana até 1000 UFC/100mL. Estudo de desinfecção de efluentes sanitários com o uso de cloro demonstrou que 4 mg/L de cloro, com 30 minutos de contato pode ser suficiente para esta redução(Pianowski e Janissek,2003). Desta forma não há eliminação completa de microrganismos e fatores como a presença de matéria orgânica podem interferir na cloração(Both et al, 2009). Em relação aos efluentes hospitalares a Resolução Conama 357/2005, teve seu artigo 36 modificado pela Câmara Técnica de Controle de Qualidade Ambiental em 17 de março de 2009, passando a vigorar o texto “Além dos requisitos previstos nesta Resolução e em outras normas sanitárias e ambientais aplicáveis, os efluentes provenientes de serviço de saúde podem ser lançados diretamente na rede coletora de esgotos com tratamento”. Os efluentes destes sistemas de tratamento também podem receber o descarte inadequado de medicamentos (Pinto et al., 2014), e não degradam resíduos de antibióticos e outros fármacos que são excretados, podendo assim entrar em contato com bactérias do ambiente (Bila e Dezotti, 2003).

Deste modo, os ambientes aquáticos assim contaminados podem constituir uma rota de transmissão de doenças e de disseminação bacteriana de cepas resistentes a antimicrobianos presentes em efluentes hospitalares (Fuentefria et al., 2008).

A estação de tratamento de esgoto que fica à margem esquerda do rio Itanhaém trata o efluente oriundo da rede que recebe os efluentes do Hospital Regional. Este Hospital foi administrado à partir de 2009 pelo Consórcio Intermunicipal de Saúde do Vale do Ribeira – CONSAUDE, e contava com 91 leitos sendo 10 de uti neonatal, 10 uti geral, 52 internação e 19 maternidade até 2016 quando passou a 290 leitos após sua ampliação, sendo administrado pelo Instituto Sócrates Guaianases, vencedor de concorrência em processo licitatório.

A resistência microbiana não é um fenômeno recente, mas é há muito tempo um problema crítico de saúde (Tavares, 2000). Durante várias décadas as bactérias responsáveis por infecções (e.g. infecções de vias aéreas superiores) desenvolveram resistência a cada novo antibiótico desenvolvido (WHO,2012). A importância dos antibióticos no aumento dos mecanismos de resistência está na seleção de cepas resistentes como consequência do seu emprego clínico, industrial e comercial (Arias e Carrilho, 2012; Caumo et al., 2010). A disposição inadequada de resíduos oriundos de serviços de saúde oferece risco de contaminação por diversos organismos patogênicos, dentre eles bactérias do gênero *Staphylococcus*, com cepas resistentes a oxacilina (Nascimento et al., 2009).

As bactérias do gênero *Staphylococcus* spp são cocos gram positivos, medem 0,5 a 1,5 µm de diâmetro, podendo estar aos pares ou agrupadas formando cachos, anaeróbias facultativas. As colônias podem ser brancas, opacas ou amarelas, crescem em temperatura na faixa de 30 a 37<sup>0</sup>C, sendo catalase positivas, não formadoras de esporos e com motilidade negativa (BERGEY'S, 1994). Podem ser encontradas na pele de seres humanos e de outros animais, sendo parte integrante da microbiota, porém em alguns casos podem ser agentes de infecções (Pereira, 2014; Arias e Carrilho, 2012; Koneman, 2006).

Em indivíduos saudáveis, o *Staphylococcus aureus* integra a microbiota da pele, superfície das mucosas, e frequentemente a mucosa nasal anterior, sendo esta última o sitio primário de colonização, podendo causar infecções oportunistas quando em condições apropriadas (Silveira, 2013).

A vancomicina é um glicopeptídeo muito utilizado para bactérias gram positivas e fatores como o uso inadequado de antibióticos, dificuldades e incerteza de diagnóstico aumentam o seu uso e contribuem para o aparecimento de cepas

-  
multirresistentes (Loureiro et al., 2016 , Mejeia et al., 2010). O aparecimento de cepas resistentes é um alerta para a saúde pública, uma vez que há uma redução de opções de tratamento (Teixeira, 2009, Loureiro et al., 2016).

No caso de bactérias do gênero *Staphylococcus* a resistência pode ser devida a presença do gene *mecA* e/ou pela presença da enzima  $\beta$ lactamase (Silva, 2015). Até recentemente as terapias para tratamento de infecções estafilocócicas eram feitas com penicilinas, até que cepas de *S.aureus* desenvolveram uma enzima capaz de inativar a ação deste antibiótico graças à presença do gene *mecA*. O desenvolvimento de uma penicilina semi-sintética, a meticilina (no Brasil utilizado o seu congênere oxacilina), tornou-se uma opção. Porém, em um ano após a introdução deste antibiótico ocorreu o aparecimento da resistência a meticilina (MRSA) caracterizando resistência a todos os antibióticos  $\beta$ lactâmicos. Embora as infecções causadas por MRSA estivessem restritas a ambientes hospitalares, nos últimos anos tem sido documentada a presença de cepas associadas à comunidade ou adquiridas na comunidade (CA-MRSA) em pacientes que não foram hospitalizados (Lopes, 2005).

Considerando que, tanto na água como no sedimento tem sido encontradas bactérias oriundas de contaminação ambiental, patogênicas e com elevados graus de resistência a antimicrobianos, os impactos antropogênicos causados aos recursos hídricos, especialmente em regiões costeiras, tornam a resistência bacteriana um dos grandes problemas de saúde pública (Oliveira et al., 2009, Zampieri et al., 2017) tornando-se evidente a importância de se avaliar a qualidade microbiológica de águas e sedimentos e a presença de bactérias resistentes.

## 2. Objetivos

### 2.1 Objetivos gerais

O objetivo do presente trabalho foi avaliar a qualidade microbiológica da água e dos sedimentos da Bacia Hidrográfica do Rio Itanhaém, em um trecho com pontos determinados, no sentido montante-jusante.

### 2.2 Objetivos específicos

Identificar bactérias do gênero *Staphylococcus* e avaliar sua resistência a diferentes grupos de antibióticos mais utilizados em pacientes internados ou atendidos em ambulatórios.

### 3. Metodologia

#### 3.1. Área de estudo

O município de Itanhaém localiza-se no litoral sul do Estado de São Paulo, sendo um dos municípios integrantes da Região Metropolitana da Baixada Santista, faz divisa com os municípios de São Paulo e Juquitiba ao norte, São Vicente e Mongaguá a leste, Pedro de Toledo a oeste, Peruíbe a sudoeste e o oceano Atlântico a sudeste. Possui uma população estimada de 100.496 pessoas segundo o IBGE e uma população flutuante que pode chegar a 450.000 segundo dados do poder Executivo local. Entre os municípios que compõem a Região Metropolitana da Baixada Santista, a cidade apresenta o maior percentual de área ocupada por floresta nativa, sendo esta 84,80% de sua superfície (IPT, 2012).

Esta cobertura vegetal se distribui ao longo do território evidenciando um gradiente de formações vegetais com a área mais preservada de mata Atlântica no planalto. Na planície costeira encontramos a mata de restinga e na parte mais inferior as áreas de mangue (Camargo, 2016).

A Bacia Hidrográfica do Rio Itanhaém é a segunda maior bacia litorânea do Estado de São Paulo, sendo seus principais rios: Itanhaém, Preto, Branco, Aguapeú, Piaçaguera, Aguapeu, Ipanema, do Poço, Tambotica, Camburi, Macacos e Castro.

Em áreas mais urbanizadas, rios que drenam estas áreas e desaguam no Rio Itanhaém, são mais impactados pela ação antrópica como o Rio do Poço, Campininha. O mapeamento do uso e ocupação das Áreas de Proteção Permanente (APP) apresenta como fatores de degradação, a erosão, o lançamento de efluentes, a disposição de resíduos, a extração de areia, a presença de aterros, rampas e trapiches (Kury, 2012 )

Com o desenvolvimento da cidade nos últimos anos, houve um aumento da pressão sobre o rio Itanhaém e seus afluentes. Assim ocupação desordenada tem resultado um impacto bastante significativo, como risco de enchentes (Alves e Quiñones, 2013) a falta de condições sanitárias, fragilidade dos ecossistemas e o maior fluxo de população pelo aumento do turismo (Marandola Jr. et al. 2013). Estes

impactos contribuem para ampliar os efeitos da disposição inadequada de resíduos domésticos e esgoto sem tratamento (Seriani et al., 2006).

### 3.2. Coleta de Amostras

As amostras de água e de sedimento foram coletadas em seis pontos ao longo do Rio Itanhaém e gerorreferenciados com o auxílio de equipamento GPS Garmin modelo eTrex 10. Os pontos foram distribuídos compreendendo um ponto mais a montante do local de descarte do efluente da estação de tratamento de esgoto (ETE Anchieta), ponto P1 e mais 5 pontos ao longo do rio a jusante (Figura 1 e Figura 2).

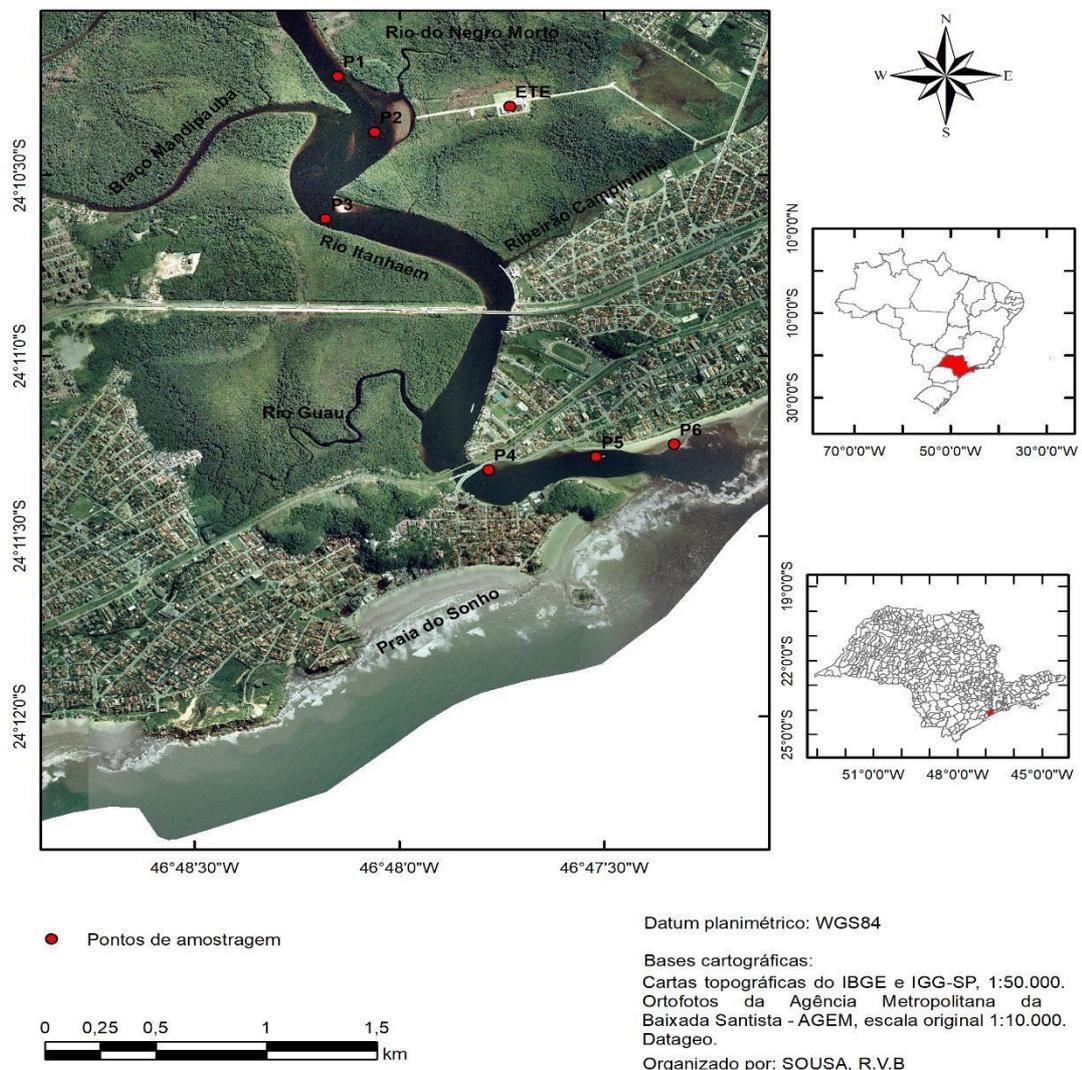


Figura 1 – Imagem da região de estudo mostrando os pontos de coleta do Rio Itanhaém onde P1 Montante, P2 Local de descarte do efluente, P3 Área de mangue, P4 Banco de sedimento próximo a ponte, P5 Boca da Barra, P6 Praião (Bases cartográficas, IBGE, 2018)

-

As amostras de água foram coletadas em frascos estéreis e as amostras de sedimentos coletadas com o auxílio de uma espátula estéril e acondicionadas em sacos plásticos estéreis. Foram mantidas sob-refrigeração até seu processamento no Laboratório de Microbiologia Marinha (Micromar) localizado na UNESP (Universidade Estadual Paulista “Júlio Mesquita Filho”), Campus do Litoral Paulista. Foram mensurados com o uso da sonda Horiba Multi Water Quality Checker U-50 os seguintes parâmetros físico-químicos: salinidade, oxigênio dissolvido, pH e temperatura.

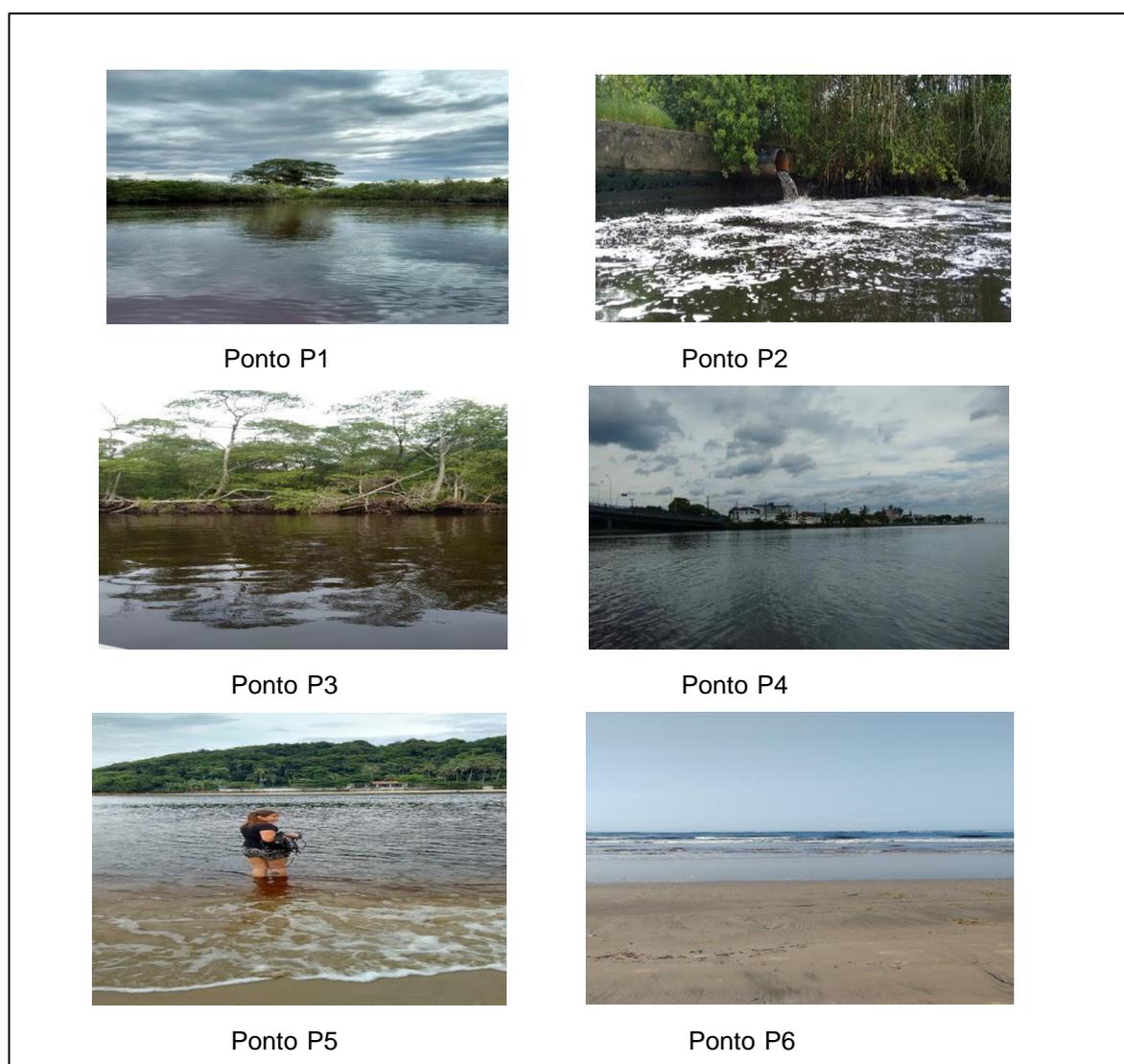


Figura 2 – Pontos de coleta no Rio Itanhaém – P1 Montante, P2 Descarte do efluente, P3 Área de Mangue, P4 Banco de areia P5 Boca da Barra, P6 Praião.

### 3.3. Processamento das amostras

#### 3.3.1. Amostras de Água

Para avaliar a qualidade microbiológica da água foram utilizadas como bioindicadores as densidades de *Escherichia coli* e de *Enterococcus* spp como determinam as Resoluções CONAMA 274/2000 e 357/2005(BRASIL, 2000; BRASIL, 2005).

##### 3.3.1.1 Membrana Filtrante

As amostras de água foram analisadas por meio da técnica Membrana Filtrante (APHA, 2012), utilizando membranas de nitrato celulose com 0,45 µm de porosidade

(Figura 3). Foram filtrados os volumes 10, 25 e 50 mL colocados nos meios ágar mTec (marca Acumedia, lote 10688B) para determinar as densidades e *Escherichia coli*, incubados em estufa bacteriológica a 36 °C (+/- 1°C) por 2 horas e em banho-maria a 44,5 °C por 22 horas. Foram consideradas positivas as colônias que apresentaram coloração amarela, marrom amarelada, e foram submetidas a teste confirmatório em substrato de uréia.

Para a avaliação das densidades de *Enterococcus* spp. foi utilizado ágar mEnterococcus (marca Acumedia, lote 107287A) e incubados a 36°C (+/-1°C) por 24/28 h .As colônias de coloração vermelho foram consideradas positivas, e foram submetidas a confirmação em Caldo Enterococosele (marca Difco).



Figura 3 - Sistema de filtração à vácuo para determinação da densidade de bactérias em amostras de água e sedimento pela técnica de membrana filtrante.

-

Como teste confirmativo para *E. coli* foi realizado o teste de urease. Depois de saturar um papel de filtro com um substrato de uréia, as membranas foram colocadas sobre este e após quinze minutos, as colônias que mantiveram a coloração ou modificaram para amarelo, foram confirmadas como positivas para *E. coli*. Seus valores foram expressos em Unidades Formadoras de Colônia em 100 mililitros (UFC/100mL).(Figura 4)

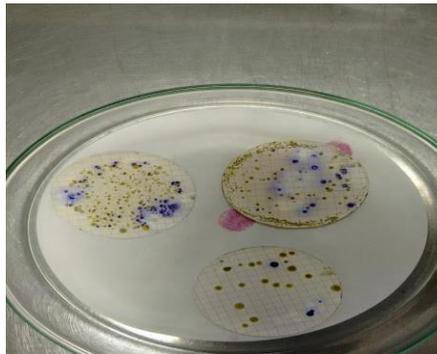


Figura 4 – Teste confirmatória de colônias de *E.coli*, cultivadas em membrana sobre Ágar mTEC.

Para as bactérias do gênero *Enterococcus* spp foi utilizado como confirmatório do crescimento em Enterococcosel onde é possível verificar a ocorrência da hidrolização de sais biliares presentes no meio (Figura 5).



Figura 5 – A figura a esquerda placas com colônias de *Enterococcus* spp em membrana sobre meio de cultura Ágar m-Enterococcus e a direita figura com teste de confirmação no gênero *Enterococcus* spp em meio de cultura Caldo Enterococcosel.

### 3.3.1.2 *Staphylococcus* spp

Para a determinação das densidades de *Staphylococcus* spp. foram filtrados 25 mL e 1 mL e utilizado o meio Ágar Manitol Salt (marca Kasvi, lote 041117501), incubados a 36,5 °C por 24/48 horas (Figura 6). Colônias brancas, amarelas ou rosas foram verificadas pela coloração de gram.

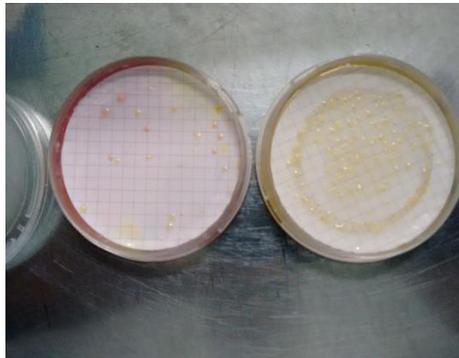


Figura 6 – Placas com colônias de *Staphylococcus* spp em membrana sobre meio de cultura Ágar Manitol.

### 3.3.2 Sedimento

Para a remoção de microrganismos aderidos aos grãos, 20g de sedimento foram adicionadas a 180 mL de água destilada estéril, e agitadas em agitador tipo vórtex por 10 minutos, duas vezes (Andrade et al., 2015). Após a desagregação dos grãos e deposição do sedimento, foram filtrados volumes de 1 e 5 mL do sobrenadante em membranas de Milipore de 0,45 µm de porosidade, as quais foram colocadas em placas contendo meios específicos.

Conforme procedimento realizado com as amostras de água, as densidades de *E. coli* foram obtidas por meio da Técnica de Membrana Filtrante, utilizado o Ágar mTec (marca Acumedia, lote 10688B), e incubados a 36,5 °C por 2 horas em estufa bacteriológica, e a 44,5 °C por 22 horas em banho-maria. Os resultados

-  
foram expressos em Unidades Formadoras de Colônia por grama (UFC/100g). Para determinação das densidade de *Enterococcus* spp foi utilizado o meio ágar mEnterococcus (marca Acumedia, lote 107287) incubados a 36,5 °C por 24/48 h. Para a determinação das densidades de *Staphylococcus* spp foi utilizado o meio Manitol Salt Ágar (marca Kasvi, lote 041117501), incubados a 36,5°C por 24/48 h. Os resultados obtidos para *Enterococcus* spp e *Staphylococcus* spp foram expressos em Unidade Formadora de Colônia (UFC/100g).

### 3.4 Isolamento e Identificação dos *Staphylococcus* spp

#### 3.4.1 Isolamento

Por se tratar de amostras ambientais, diferentes bactérias podem crescer no meio Ágar manitol. Sendo assim, a caracterização morfológica dos *Staphylococcus* spp isolados foi feita através da coloração de Gram, selecionando-se os cocos e diplococos gram positivos, isolados ou agrupados, que foram repicados para purificar as cepas. Os testes bioquímicos complementares realizados foram o teste da catalase, degradação da uréia (presença de urease), atividade da pyr (enzima Lpyrroglutamyl-aminopeptidase), sensibilidade a novobiocina e a polimixina e prova de coagulase.

#### 3.4.2 Identificação de *Staphylococcus* spp

##### 3.4.2.1 Teste da urease

A urease é uma enzima encontrada em muitas espécies de microrganismos que pode hidrolisar a uréia produzindo uma cor vermelha em meio de Stuart o que indica alcalinização. Na ausência de hidrólise da uréia o meio permanece com a cor amarela original (Figura 7). Neste teste foi utilizado o meio de urease da Probac lote 110817.

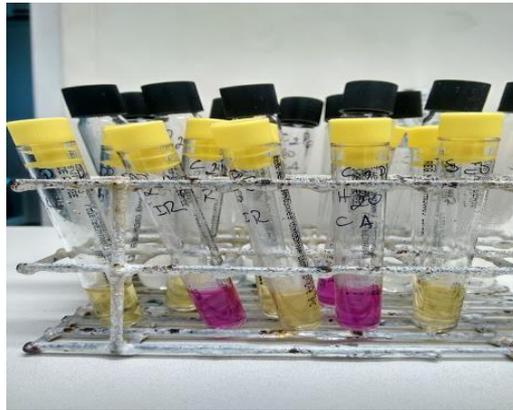


Figura 7 – Teste de urease por ensaio bioquímico para identificação de *Staphylococcus* spp.

#### 3.4.2.2 Teste PYR

O teste tem como base a detecção de hidrólise enzimática da L-pyrrolidonyl-beta-naphthylamide através da enzima L-pyrroglutamyl-aminopeptidase. A presença da PYR é identificada com a adição de reagente resultando em uma coloração vermelho-cereja como positivo e a cor amarela ou laranja evidenciando resultado negativo. O reagente utilizado foi o PYR TEST (Probac, lote PYR110817) (Figura 8).



Figura 8 – Discos de teste PYR ensaio bioquímico, para identificação de *Staphylococcus* spp.

#### 3.4.2.3 Sensibilidade a Novobiocina e Polimixina

A detecção da existência de sensibilidade a novobiocina e a polimixina (Figura 9) foi utilizada para diferenciar espécies de *Staphylococcus coagulase*

negativos. O teste foi realizado ressuspendendo a cepa a ser testada em uma solução salina com turvação 0,5 da escala de McFarland e em seguida, inoculando a amostra em placa contendo ágar Mueller Hinton (marca, Kasvi, lote 11714213), com o teste de difusão em disco segundo normas do Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI,2011). Após incubação por 24 horas a 36 °C, foi medido os halos de inibição considerando para polimixina a sensibilidade com halos > 10 mm e novobiocina halos > 15 mm (Koneman, 2008).



Figura 9 – Placa com crescimento de *Staphylococcus* spp em teste de sensibilidade a novobiocina e a polimixina para identificação das espécies.

#### 3.4.2.4 Prova da coagulase

A identificação da presença de *Staphylococcus aureus* é feita através do teste de coagulase o qual evidencia a presença ou a ausência do fator clumping e/ou proteína A. O teste utilizado foi o Staphclin Látex da Laborclin, lote 80131024, com partículas de látex sensibilizadas com antígenos específicos que produzem aglutinação quando em contato com colônias características (Figura 10).

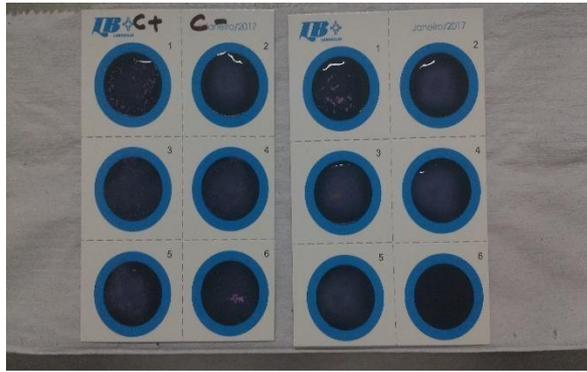


Figura 10 - Teste de coagulase evidenciando aglutinação das cepas isoladas de *Staphylococcus* spp como positiva e a não aglutinação como negativa, para a identificação das espécies.

### 3.5 Testes de sensibilidade

As cepas isoladas e identificadas foram testadas quanto a sua sensibilidade aos antibióticos, pela método Disco Difusão (Kirby-Bauer) em Ágar Mueller Hinton (CLSI, 2011). As colônias foram ressuspensas em solução salina 0,6 % até atingir a turvação 0,5 da escala de Mac Farland (CLSI, 2011) e inoculadas com swab estéril em no ágar. Após 10 minutos foram colocados os discos impregnados com os antibióticos, sendo cefalotina 30 µg (CFL) Cefar, ciprofloxacina 5 µg (CIP) Cefar, clindamicina 15 µg (CLI) Cefar, gentamicina 10 µg (GEN) Cefar, ceftiofona 30 µg (CFO) Cefar, amoxicilina/ac. Clavulânico 10 µg (AMC) Cefar , eritromicina, 15 µg (ERI)Cefar e vancomicina 30 µg (VAN) Cefar, sulfametoxazol +trimetopim 23,75/1,25 µg (SUT) Cefar. Após incubação em estufa a 36°C por 18 horas foram medidos os halos de inibição em milímetros e comparados com a tabela padrão do expressando os resultados como sensível, intermediário ou resistente.



Figura 11 – Placa mostrando o resultado do Teste de sensibilidade de uma cepa de *Staphylococcus* spp isolado.

#### 4. Resultados e Discussão

##### 4.1 Parâmetros físico-químicos

Os dados dos parâmetro físico-químicos são apresentados na tabela 1. Considerando os valores obtidos durante o período de estudo, a média das temperaturas obtidas no verão foi de 26,08°C, enquanto que no inverno a média observada foi de 19,2°C. Em relação ao pH no verão o valor médio foi de 6,41 e no inverno 5,55.

Tabela 1 - Parâmetros físico-químicos por pontos de coleta referente a amostragem realizada durante a maré de quadratura a 0,4 m.

	Verão				Inverno			
	Temperatura (°C)	pH	OD(mg/L)	Salinidade	Temperatura (°C)	pH	OD (mg/L)	Salinidade
P1	25,2	5,6	5,3	0	17,8	5,4	9,6	0
P2	26,7	6,5	4,1	0,5	22,3	5,4	8,7	0
P3	26,3	6,0	4,9	1,6	18,2	5,6	9,4	0
P4	26,1	6,1	9,3	3,9	19,1	5,6	9,2	0,1
P5	26,1	6,2	5,3	3,4	18,8	5,6	9,8	0,1
P6	28,4	7,7	6,8	23,1	19,9	5,7	9	0,1

Analisando os valores obtidos nos pontos de coleta e considerando as resoluções Conama nº 274/2000 e nº 357/2005 para água doce, é possível observar (Tabela 1) que apenas o valor obtido para o verão (6,5) se encontra dentro dos limites estabelecidos para águas classe 2, entre 6 e 9, e que nos demais os valores foram inferiores aos limites indicando uma tendência de acidificação da água. Esta acidificação pode estar relacionada a presença de microrganismos, matéria orgânica e impactos ambientais poluidores (Moura et al., 2009, Pereira-Silva et al., 2011). Os pontos P3, P4 e P5, todos de águas salobras, no inverno, nenhum dos valores de pH obtidos atendeu aos limites estabelecidos para águas classe 1, os quais deveriam apresentar pH entre 6,5 e 8,5. Os valores obtidos no verão indicaram uma menor acidificação da água comparados àqueles obtidos no inverno.

Em relação ao oxigênio dissolvido, de maneira geral os valores obtidos nas coletas de inverno foram superiores aos obtidos no verão o que pode indicar um maior consumo de oxigênio relacionado ao aumento de disponibilidade de nutrientes devido ao aumento da carga orgânica lançada na água (Martinelli et al., 2002, Cunha e Calijuri, 2010). Na sua maioria os valores obtidos estavam dentro do estabelecido pela Resolução Conama 357/2005 (5mg/L) para águas doces Classe 2 e para águas salobras Classe 2 (acima de 4 mg/L) à exceção dos pontos P2 e P3 provavelmente devido à influência da deposição do efluente e retenção parcial da água no local, com formação de um banco de sedimentos no ponto P2, efeito semelhante aos impactos no córrego Cachoeirinha no Município de Cárceres-MT (Santos et al., 2013). Os bancos de sedimentos se formam por diminuição da velocidade de transporte e da característica granulométrica (Couceiro e Schettini, 2010) e podemos observar por meio de imagens as alterações ocorridas durante os anos após a construção da ETE ( Figura 12).

Os valores obtidos para a salinidade mostraram diferentes tendências nos períodos de verão e inverno. No verão os valores indicaram que nos pontos P1 e P2 a ocorrência foi de água doce enquanto que nos demais pontos a água foi classificada como salina. Já no inverno todos os valores indicaram presença de água doce podendo ter como causa a ocorrência de precipitação nos dias que se antecederam ao trabalho e ao aumento de vazão. Segundo a base de dados do Cemadem (Centro Nacional de Monitoramento e Alertas de Desastres Naturais),

entre os dias 18 e o dia 22 de agosto de 2017, somando-se os valores diários apurados temos 47,27 mm de chuva e entre os dias 18 e 22 de janeiro de 2017 37,75 mm de chuva. Apesar da dinâmica temporal do estuário, o aumento da precipitação podem interferir na salinidade e na densidade bacteriana (Pereira, 2004; Farias et al., 2010).

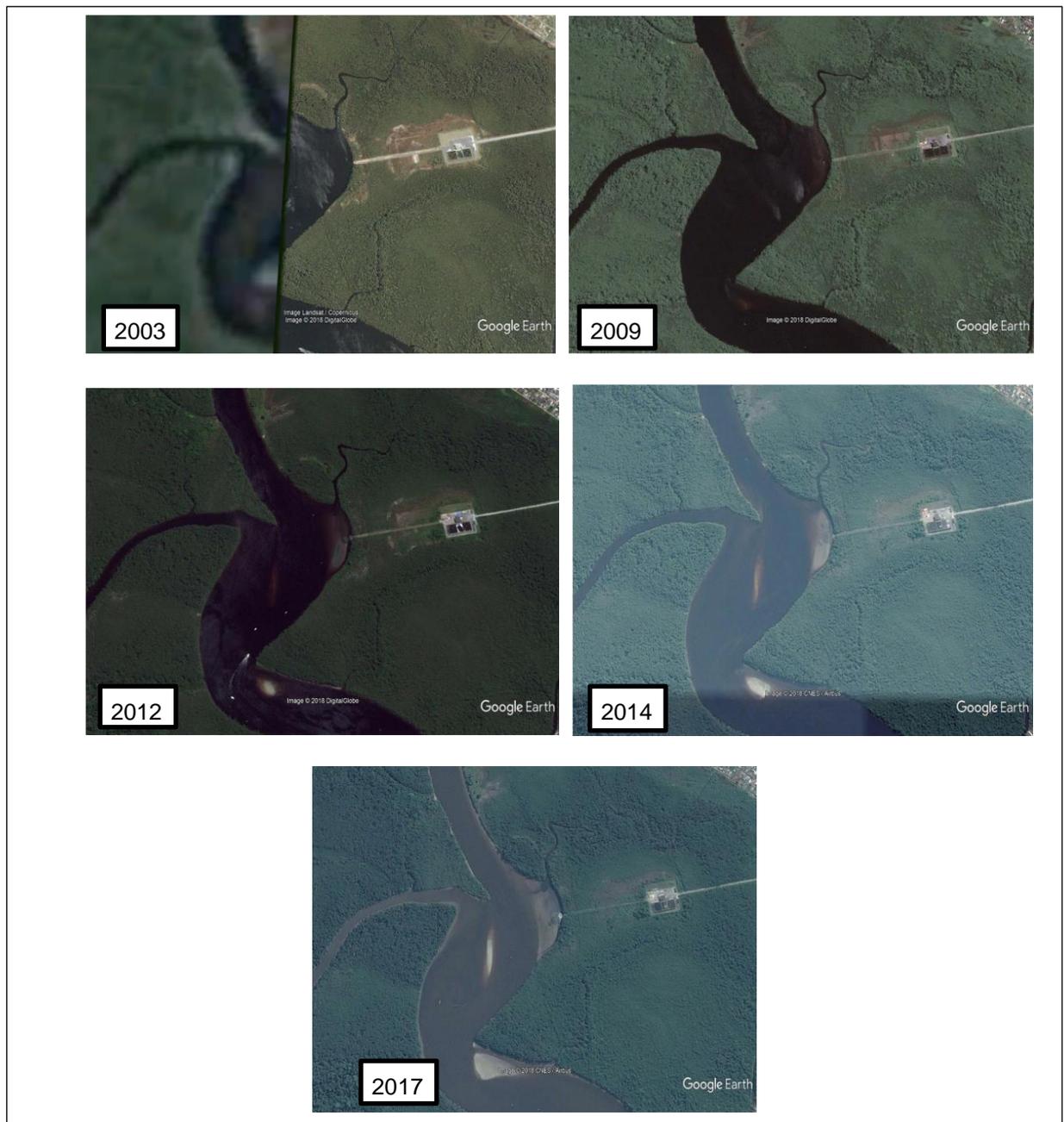


Figura 12 - Imagens da formação de banco de sedimentos após construção da ETE, no rio Itanhaém (Fonte: Google Earth).

## 4.2 Parâmetros microbiológicos

### 4.2.1 *Escherichia coli*

Os resultados das densidades de *E.coli* obtidos no verão e no inverno, na água e no sedimento, estão apresentados na tabela 2. De maneira geral os valores de densidade obtidos para as amostras de água foram superiores aos obtidos para o sedimento, à exceção do ponto P2 no verão e do ponto P3 no inverno. As densidades de *E.coli* em um efluente de ETE lançados em corpos de água interferem na qualidade da água no local e em pontos a jusante do rio (Marçal e Silva, 2017).

Tabela 2 - Densidade de *E.coli* nas amostras de água (UFC/100mL) e no sedimento (UFC/100g) P1 Montante, P2 Local do descarte do efluente, P3 Área de mangue, P4 Banco de sedimento próximo a ponte, P5 Boca da Barra, P6 Praiã

	P1	P2	P3	P4	P5	P6
Água						
Verão	220	8000	2200	3300	1600	600
Inverno	633	504	1783	1337	2350	1343
Sedimento						
Verão	80	8000	320	120	1000	180
Inverno	16	250	9800	1150	80	0

No verão as maiores densidade de *E.coli* na água foram obtidas nos pontos P2 (8000 UFC/100 mL), P3 (2200 UFC/100 mL) e P4 (3300 UFC/100 mL) estando todos em desacordo com a resolução Conama 274/2000 que estabelece como limite o valor de 2000 UFC/100 mL e com a Conama 357/2005 onde o limite para águas salobras é 200 UFC/100 mL (Figura 13). As menores densidades na coleta de verão foram obtidas no ponto P1 (220 UFC/100 mL) e P6 (600 UFC/100 mL).

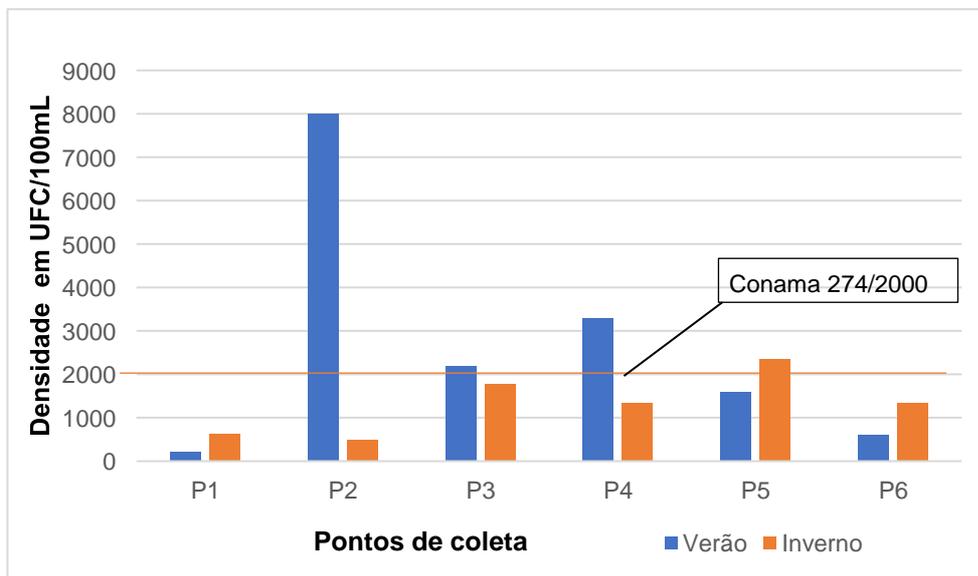


Figura 13 - Densidade de *E.coli* na água (UFC/100 mL). P1 Montante, P2 Local do descarte do efluente, P3 Área de mangue, P4 Banco de sedimento próximo a ponte, P5 Boca da Barra, P6 Praião.

Estudo realizado na mesma região com amostras de água e brânquias de *Eugerres brasilianus* (Melo, 2015), também encontrou uma alteração na qualidade da água, no verão em local próximo ao ponto P3 com densidade superior a 800 UFC/100 mL. No presente trabalho o ponto P3 também apresentou valores elevados na coleta de verão (2200 UFC/100 mL) e na de inverno (1783 UFC/100 mL).

Em relação ao sedimento, embora não exista uma legislação específica que permita a análise de sua qualidade, foram obtidos, em alguns pontos, valores de densidades de *E.coli* bastante elevados (considerando os valores estipulados para a água) como nos pontos P2 (8000 UFC/100g) e P3 (9800 UFC/100g) demonstrado na Figura 14.

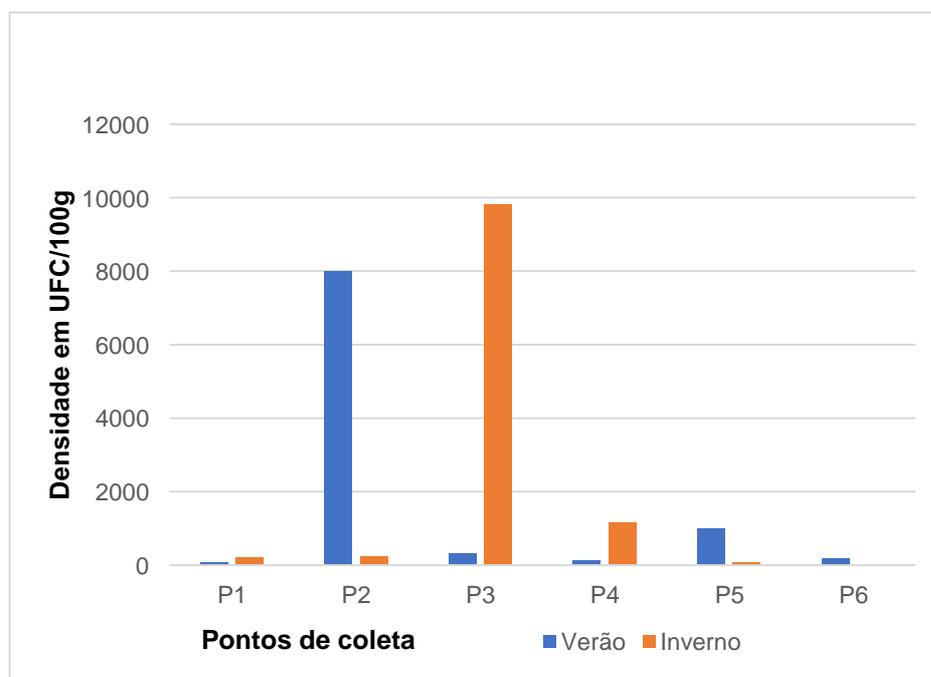


Figura 14 - Densidade de *E.coli* no sedimento(UFC/100g) P1 Montante, P2 Local do descarte do efluente, P3 Área de mangue, P4 Banco de sedimento próximo a ponte, P5 Boca da Barra, P6 Praião.

De acordo com as densidade de *E.coli* é possível afirmar que os pontos P2 e P3 foram críticos em relação a contaminação tanto para o sedimento quando para a água. O aumento de vazão dos efluentes de uma ETE pode ser afetado pelo aumento da população gerando maior demanda e pelo aumento das águas pluviais forçando o sistema a tratar mais rápido(Vieira et al, 2015). O constante lançamento do efluente no ponto P2 aumenta o contato com o sedimento, que se deposita de forma gradativa ao longo dos anos formando um banco de sedimentos que retêm parte do efluente. (Santos et al., 2013).

No inverno as densidade de *E.coli* na água (considerando uma única coleta) estiveram dentro do padrão estabelecido pelas resoluções Conama 274/2000 e 357/2005 em todos os pontos, à exceção do ponto P5. No sedimento densidades obtidas foram menores que 1000 UFC/100g em todos os pontos à exceção dos pontos P4 (1150 UFC/100g) e P3 (9800 UFC/100g).

#### 4.2.2 *Enterococcus* spp

As densidades de *Enterococcus* spp no verão e no inverno estão apresentados na tabela 3. As densidades de *Enterococcus* spp na água foram maiores do que no sedimento e na maioria dos pontos apresentaram-se dentro dos limites estabelecidos para a resolução Conama 274/2000 (400 UFC/100 mL na última coleta) . Apenas o ponto P2 apresentou valores acima do estabelecido (6000 UCF/100 mL), tanto no verão quanto no inverno, provavelmente pelo lançamento do efluente da ETE, da mesma forma como este interfere para as densidades de *E.coli*.

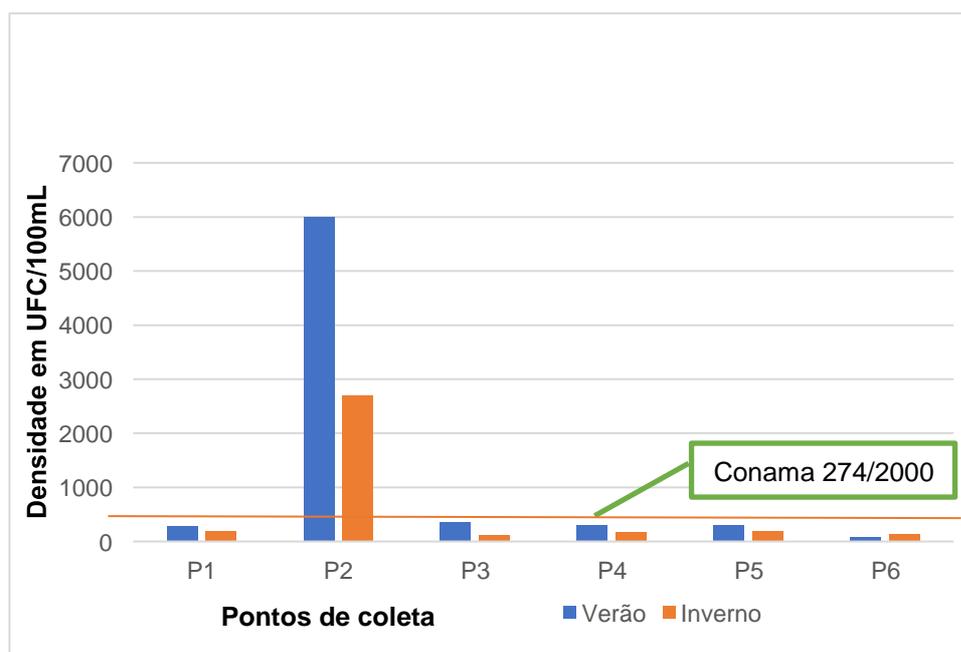


Figura 15 - Densidade de *Enterococcus* spp na água (UFC/100 mL) P1 Montante, P2 Local do descarte do efluente, P3 Área de mangue, P4 Banco de sedimento próximo a ponte, P5 Boca da Barra, P6 Praião.

No sedimento, as densidades de *Enterococcus* spp foram maiores no ponto P3 sendo 680 UFC/100g no verão e 1933 UFC/100g no inverno. Estas densidades no ponto P3 podem ter como fatores o aporte de resíduos das áreas de drenagem

próximas, ou como resultado da sedimentação em momentos baixa mar facilitando a deposição. Este ponto está em uma área de mangue o que pode influenciar nas densidades encontradas. Esta área ainda tem como variáveis outros fatores da margem direita do rio como cursos d'água que desaguam próximo ao local. As menores densidades foram encontradas no ponto P6, no verão e no inverno.

Tabela 3- Densidade de *Enterococcus* spp na água (UFC/100mL) e no sedimento (UFC/100g) P1 Montante, P2 Local do descarte do efluente, P3 Área de mangue, P4 Banco de sedimento próximo a ponte, P5 Boca da Barra, P6 Praião.

	P1	P2	P3	P4	P5	P6
Água						
Verão	280	6000	352	296	296	84
Inverno	186	2700	129	182	183	141
Sedimento						
Verão	120	460	680	160	200	40
Inverno	750	400	1933	166	50	20

As concentrações de *Enterococcus* spp presentes na água e no sedimento apresentaram diferenças, sendo maior em relação a água. Porém no inverno as concentrações se mantiveram próximas à média. Estas concentrações no sedimento estão abaixo de locais com maior concentração urbana como por exemplo a cidade de São Vicente no litoral de São Paulo, e ainda não há padrões definidos para estas concentrações em sedimentos (Lesreck et al., 2016). Estudo realizado nas praias do Gonzaguinha e Ilha Porchat demonstraram que as densidades na areia seca foram em média 4000 UFC/100g e na areia úmida em média 2000 UFC/100g. A presença de bactérias bioindicadoras em sedimentos como resultado de contaminação por descarga de efluentes pode ainda atuar na recontaminação da água pela movimentação causada por diferentes fatores

(Oliveira et al., 2012). Considerando-se os valores de *Enterococcus sp* no sedimento, nos 6 pontos de coleta, a média no verão é 276 UFC/100g e no inverno 553 UFC/100g demonstrando uma tendência de deposição no sedimento.

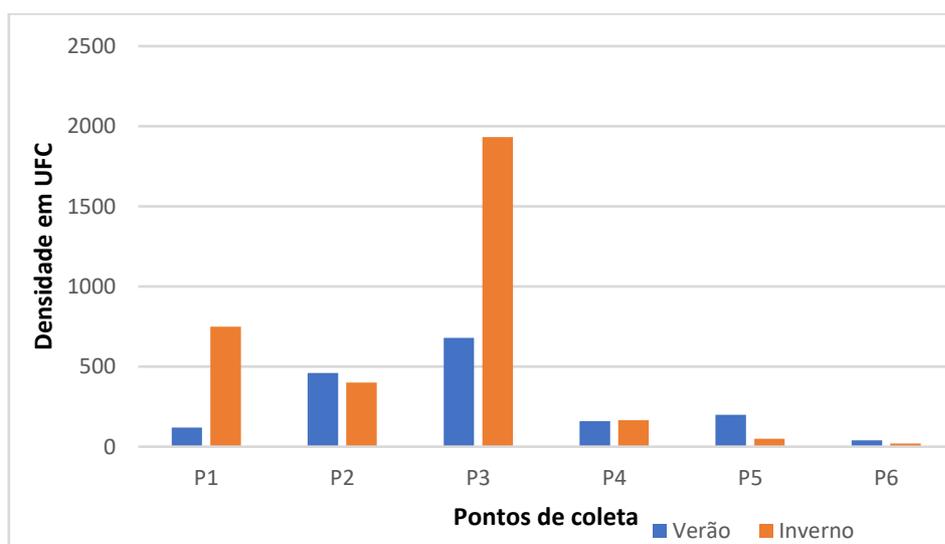


Figura 16 - Densidade de *Enterococcus spp* no sedimento (UFC/100g) P1 Montante, P2 Local do descarte do efluente, P3 Área de mangue, P4 Banco de sedimento próximo a ponte, P5 Boca da Barra, P6 Praião.

#### 4.2.3 *Staphylococcus spp*

As densidades de *Staphylococcus spp* na água e no sedimento são apresentadas na tabela 4. Não foram recuperados *Staphylococcus spp* da água e do sedimento em todos os pontos analisados. No verão, nas amostras de água, as densidades observadas foram: pontos P1(80 UFC/100 mL), ponto P2 (670 UFC/100mL) e ponto P5 (20 UFC/100 mL) e no inverno apenas o ponto P1 (256 UFC/100mL). Nas amostras de sedimento, no verão, apenas no ponto P4 (120

UFC/100g). No inverno, apenas nos pontos P5 (3700 UFC/100g) e P6 (7800 UFC/100g). No demais pontos, foram considerados valores < 4 segundo a norma técnica L5.206 da CETESB (CETESB, 1993).

Tabela 4 - Densidade de *Staphylococcus* spp na água (UFC/100 mL) e no sedimento (UFC/100g) P1 Montante, P2 Local do descarte do efluente, P3 Área de mangue, P4 Banco de sedimento próximo a ponte, P5 Boca da Barra, P6 Praião.

	P1	P2	P3	P4	P5	P6
Água						
Verão	80	670	< 4	< 4	20	< 4
Inverno	256	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4
Sedimento						
Verão	< 4	< 4	< 4	120	< 4	< 4
Inverno	< 4	< 4	< 4	< 4	3700	7800

A recuperação de *Staphylococcus* spp da água e do sedimento não mostrou uma relação direta com a concentração de *E.coli* e *Enterococcus* spp, sendo a maior concentração no sedimento em relação a água. Por se tratar de um estuário, diferentes fatores interferem na dinâmica do ambiente como, alterações ambientais (Sato e Cunha, 2013), predação das bactérias por protozoários (Barnes, 1990) diminuição de temperatura durante o inverno e salinidade. Os pontos onde foram isolados do sedimento, ponto P4, ponto P5 e ponto P6 estão próximos à barra e portanto sujeitos a interferências como impacto antrópico por acesso ao estuários(movimentação de equipamentos náuticos), contaminação difusa por escoamento de águas superficiais, drenagem natural no período de maré baixa. É possível que estes *Staphylococcus* spp que estejam no sedimento da mesma forma que estes servem de reservatório para *E.coli*. (Pinto, 2012). A presença de *Staphylococcus aureus* foi descrita em peixes na região próxima a boca da barra

evidenciando vias tróficas que alteram a qualidade de peixes na região (Melo, 2015).

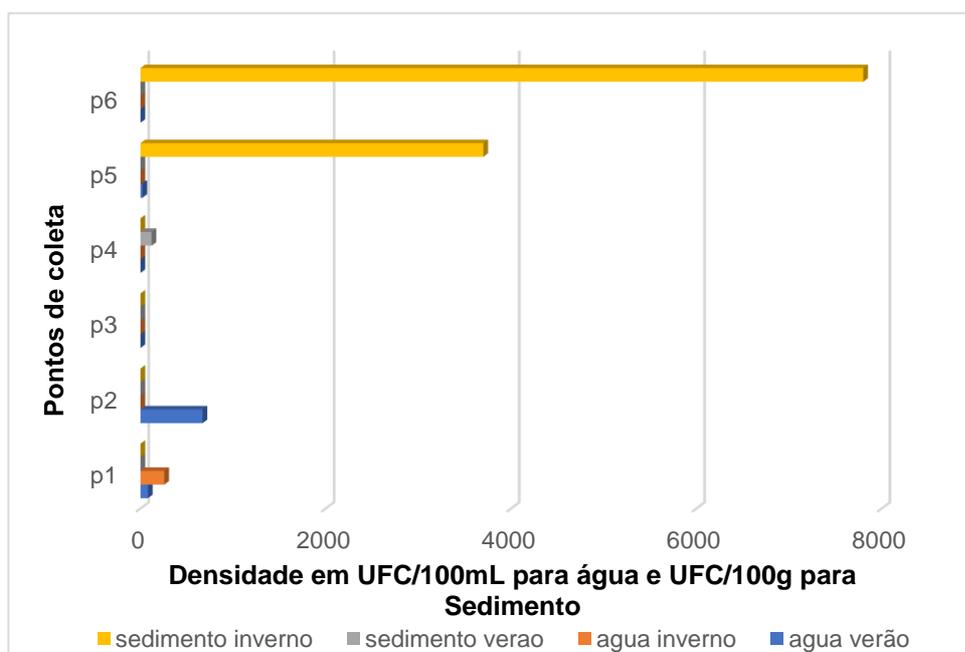


Figura 17 - Densidade de *Staphylococcus* spp na água (UFC/100 mL) e no sedimento (UFC/100g) P1 Montante, P2 Local do descarte do efluente, P3 Área de mangue, P4 Banco de sedimento próximo a ponte, P5 Boca da Barra, P6 Praião.

#### 4.2.4 Perfil de resistência

A resistência aos antibióticos testados dos isolados da água foi encontrada apenas em P2 (Figura 5) com o maior percentual entre os isolados de amostras de água, 95,4%, para os antibióticos gentamicina, sulfametaxazol, ciprofloxacina, clindamicina e vancomicina. No sedimento foi observada a resistência a eritromicina no ponto P4. No ponto P5 duas cepas apresentaram padrões de resistência diferentes sendo uma a cefalotina, eritromicina, clindamicina, eritromicina e vancomicina, e outra não apresentou padrões de resistência. No ponto P6 3 cepas diferentes sendo uma sem resistência, uma com resistência a clindamicina, e outra com resistência a clindamicina e vancomicina. A presença de fármacos em águas

naturais e efluentes de ETEs tem sido descrita por diferentes pesquisadores (Bila e Dezotti, 2003) e a presença de antibióticos em águas, mesmo que em pequenas proporções, podem provocar um impacto adverso na diversidade microbiana aumentando a resistência (Morris e Cormican, 2016). A resistência à vancomicina (Figura 6) utilizada em ambiente hospitalar, aparece na água no ponto P2 e no sedimento nos pontos P5 e P6. Estudo de bactérias potencialmente resistentes a antibióticos em esgoto hospitalar e esgoto sanitário encontrou uma resistência à vancomicina em 40% dos isolados de *Staphylococcus aureus* na saída do sistema (Ferreira, 2015).

Tabela 5 - Percentual de resistência de *Staphylococcus spp* na água (UFC/100mL) P1 Montante, P2 Local do descarte do efluente, P5 Boca da Barra.

% de cepas resistentes na água

	P1 verão	P 1 inverno	P2 verão	P5 verão
	n= 8	n= 256	n= 670	n=20
Antibióticos	%	%	%	%
CFL	0,0	0,0	0,0	0,0
GEN	0,0	0,0	95,4	0,0
SUT	0,0	0,0	95,4	0,0
CIP	0,0	0,0	95,4	0,0
AMC	0,0	0,0	0,0	0,0
CLI	0,0	0,0	100	0,0
ERI	0,0	0,0	0,0	0,0
VAN	0,0	0,0	95,4	0,0

CFL: cefalotina; GEN: gentamicina; SUT: sulfametaxozol/timetropim; CIP: ciprofloxacina; AMC: amoxicilina/ac.clavulânico; CLI: clidamicina; ERI: eritromicina; VAN: vancomicina

Tabela 6 - Percentual de resistência de *Staphylococcus* spp no sedimento (UFC/100g) P4 Banco de sedimento próximo a ponte, P5 Boca da Barra, P6 Praião .

Antibióticos	% de cepas resistentes no sedimento					
	P4 verão		P5 inverno		P6 inverno	
	n= 120	n= 3000	n= 700	n=1700	n= 100	n=6000
	%	%	%	%	%	%
CFL	0	0	100	0	0	0
GEN	0	0	0	0	0	0
SUT	0	0	0	0	0	0
CIP	0	0	0	0	0	0
AMC	0	0	100	0	0	0
CLI	0	0	100	100	0	100
ERI	100	0	100	0	0	0
VAN	0	0	100	0	0	100

CFL: cefalotina; GEN: gentamicina; SUT: sulfametaxozol/timetropim; CIP: ciprofloxacina; AMC: amoxicilina/ac.clavulânico; CLI: clidamicina; ERI: eritromicina; VAN: vancomicina

Analisando o perfil de resistência por pontos de coleta, considerando-se a água e o sedimento (Figura 18), nota-se uma maior resistência no ponto P2 na água, e no sedimento destaca-se a resistência no ponto P5 e no ponto P6. Os sistemas de tratamento de esgoto não degradam resíduos de antibióticos e outros fármacos (Bila e Dezotti, 2003) e a carga de antimicrobianos utilizados nos sistemas de saúde gera efluentes com presença de organismos resistentes (Nascimento et al., 2009). O descarte inadequado de medicamentos entre os quais podemos destacar os antibióticos (Pinto et al., 2014) pode favorecer o aparecimento de resistência em organismos pelo contato com ambiente aquático ao longo do estuário. Estes impactos causados aos ambientes costeiros podem levar a problemas de saúde pública (Moura et al, 2016).

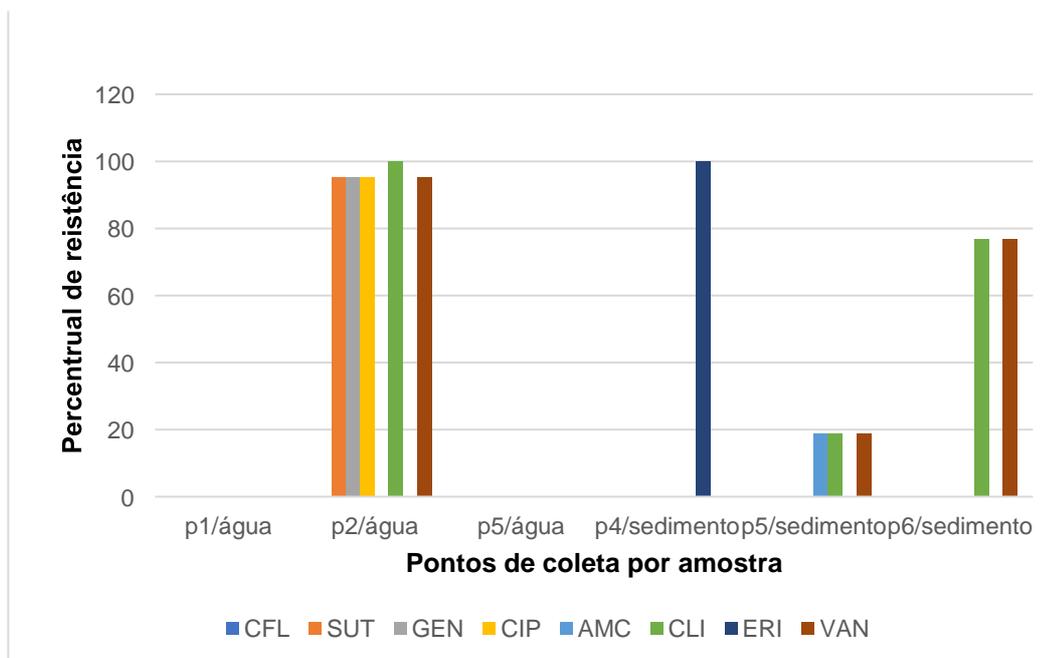


Figura 18 - Perfil de resistência por pontos de coleta, P1 Montante, P2 Local do descarte do efluente, P4 Banco de sedimento próximo a ponte, P6 Praião. CFL: cefalotina; GEN: gentamicina; SUT: sulfametaxozol/timetropim; CIP: ciprofloxacina; AMC: amoxicilina/ac.clavulânico; CLI: clidamicina; ERI: eritromicina; VAN: vancomicina

#### 4.2.5. Identificação dos *Staphylococcus* spp

Para a identificação das cepas de *Staphylococcus* spp isoladas, foram utilizados os testes indicados pelo Manual de Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção relacionada a assistência à Saúde, Módulo 6 (ANVISA, 2010) e como apoio o Manual of Determinative Bacteriology (BERGEY'S, 1994) e Diagnóstico Microbiológico (Koneman, 2008). Na tabela 7 está representado a classificação taxonômica dos *Staphylococcus* spp. Foram considerados os microrganismos com morfologia em formato de cocos, dispostos aos pares, isolados ou agrupados que apresentaram reação positiva ao teste de catalase diferenciando os isolados do grupo dos estreptococos.

Tabela 7 – Classificação das cepas de *Staphylococcus* spp isolados.

Domínio	Bactéria
Filo	Firmicutes
Classe	Bacilli
Ordem	Bacillales
Família	Staphylococcaceae
Gênero	<i>Staphylococcus</i>
Espécie	<i>S. aureus</i> , <i>S. saprophyticus</i> , <i>S.schleiferi</i>

Os resultados dos testes que permitiram a identificação, coagulase, PYR, uréia, sensibilidade a novobiocina e polimixina estão apresentados na tabela 8.

Tabela 8 - Identificação das cepas de *Staphylococcus* spp isoladas por pontos de coleta.

ISOLAMENTO	COAGULASE	PYR	NOV	UREIA	POL	IDENTIFICAÇÃO
C1P1 água	Reagente	-	Sensível	-	Resistente	<i>S.aureus</i>
C1P4 sed	Reagente	-	Sensível	-	Resistente	<i>S.aureus</i>
C1P2 água	Reagente	-	Sensível	+	Resistente	<i>S.aureus</i>
C1P5 água	Reagente	-	Sensível	-	Resistente	<i>S.aureus</i>
C2P1 água	Reagente	-	Sensível	+	Resistente	<i>S.aureus</i>
C2P5 sed	Reagente	-	Sensível	-	Resistente	<i>S.aureus</i>
C2P5 sed	Não reagente	-	Resistente	+	Sensível	<i>S.saprophyticus</i>
C2P6 sed	Não reagente	+	Sensível	-	Sensível	<i>S.schleiferi</i>
C2P6 sed	Não reagente	+	Sensível	-	Sensível	<i>S.schleiferi</i>
C2P6 sed	Reagente	-	Sensível	-	Resistente	<i>S.aureus</i>

C1: primeira coleta; C2: segunda coleta; P1, P2, P5, P6: pontos de coleta; reação negativa (-) : reação positiva (+).

Observando os estafilococos isolados no sedimento, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus saprophyticus* e *Staphylococcus scheifleri* e seu perfil de resistência, destaca-se a resistência do *S.saprophyticus* para a maioria dos antibióticos testados. Considerando-se a maré de quadratura nos dias de coleta há

a necessidade de pesquisar a presença de resíduos de antibióticos na água como a vancomicina para estabelecer a correlação quanto a resistência a este antibiótico para estas espécie no ponto P5.

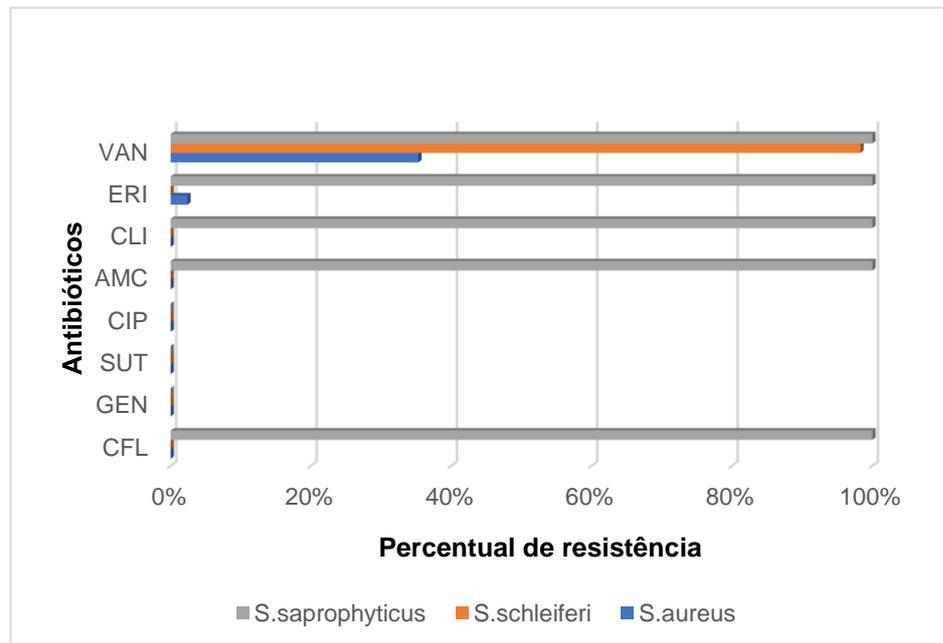


Figura 19 - Resistência dos isolados de *Staphylococcus* spp no sedimento.

O percentual de resistência dos *S.aureus*, considerando-se todas as cepas isoladas, é maior na água em relação ao sedimento, influenciado pelo ponto P2 que pode atuar como um ponto de dispersão ao longo do estuário.

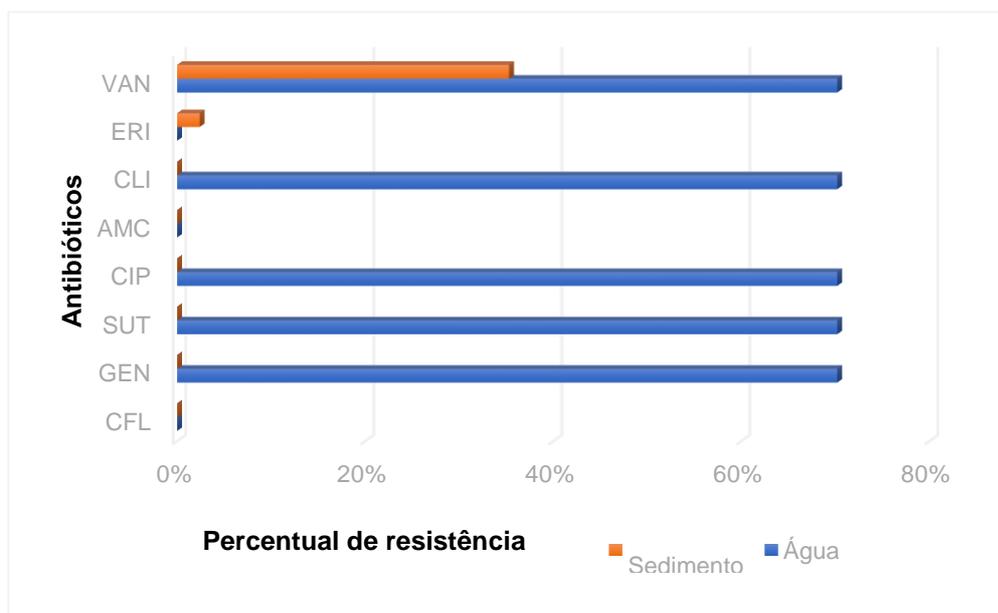


Figura 20 - Perfil de resistência de *S.aureus* por tipo de amostra.

## 5. Mecanismos de Resistência

Os mecanismos de resistência bacteriana são complexos e variados envolvendo a fisiologia das bactérias, a farmacologia dos antimicrobianos e a biologia molecular dos agentes infecciosos. Um dos mecanismos mais frequentes é a degradação do agente microbiano pela ação de enzimas  $\beta$ lactamases capaz de hidrolisar agentes beta lactâmicos em gram negativos e gram positivos. Podem ser codificadas em cromossomos, plasmídios, transposon (Vieira e Vieira, 2017), alterações no sitio alvo e bombas de efluxo (Koneman, 2008). Mecanismos naturais de adaptação e resistência bacteriana, desde o advento da penicilina, limitam o tempo de vida útil dos antibióticos (WHO, 2012). Grandes modificações na sensibilidade aos antimicrobianos ocorreram ao longo do tempo entre as enterobactérias, bactérias não fermentadoras e no gênero *Staphylococcus* spp(Tavares, 2000). Os estafilococos coagulase negativa apresentam resistência intrínseca a oxacilina, determinada pelo gene *mecA* e, os mecanismos regulatórios da ação deste gene levam a cepas como patógenos importantes em ambientes hospitalares além de favorecer a transferência horizontal entre bactérias (Pereira e

Cunha, 2013). Esta resistência não está restrita aos ambientes hospitalares mas também pode ser observada em outros ambientes aquáticos podendo ser consequência do uso inadequado de antibióticos (Loureiro et al., 2016), utilização na medicina veterinária (Nascimento et al., 2009) descarte inadequado de medicamentos (Seriani et al., 2006; Pinto et al., 2014), utilização na alimentação animal (Mota et al., 2005) e pela não degradação total de antibióticos nas estações de tratamento de esgotos (Bila e Dezotti, 2003).

Pesquisas sobre a presença de bactérias resistentes em águas de recreação evidenciaram resistência à penicilina, amoxicilina, eritromicina e vancomicina em bactérias heterotróficas (França e Melloni, 2014). A resistência à ampicilina e amoxicilina também foi demonstrada em bactérias isoladas de água e sedimento nas praias de Santos e São Vicente (Andrade et al., 2015).

### 5.1. *Staphylococcus aureus*

O *Staphylococcus aureus* é o patógeno humano de maior importância entre os estafilococos que pode ser encontrado nas narinas, pele, perineo, axilas, e apesar de constituir a microbiota normal, pode produzir infecções oportunistas por apresentar diferentes fatores de virulência como polissacarídeos capsulares, enzimas, hemolisinas e toxinas (Koneman, 2008). Após o advento das penicilinas surgiram as primeiras cepas de estafilococos resistentes como resultado de uma pressão seletiva pelo uso de antibióticos. No Brasil 70 % das cepas isoladas de ambiente hospitalar ou na comunidade são resistentes a penicilina, ampicilina e amoxicilina (Tavares, 2000). Dois anos após a introdução da meticilina, foram isolados *S.aureus* resistentes (MRSA), cujo mecanismo de resistência é determinado pelo complexo gênico *mecA*, ficando como opção de tratamento os glicopeptídeos como a vancomicina e teicoplanina (Oliveira et al., 2014). Cepas isoladas de pacientes não internados em sistemas de saúde apresentaram resistência a meticilina (CA-MRSA) sendo uma preocupação quanto ao risco de disseminação na comunidade. O monitoramento dos isolados (MRSA, CA-MRSA) é um desafio para o controle de resistência, padronização de medidas terapêuticas e levantamento de dados epidemiológicos para a América Latina (Mejeia et al., 2010).

-

A dependência da vancomicina como opção de tratamento contribui no desenvolvimento de cepas de *Staphylococcus aureus* com sensibilidade intermediária à vancomicina (Santos et al., 2007 ; Manfredini et al., 2011).

### 5.2. *Staphylococcus saprophyticus*

Os *Staphylococcus saprophyticus* são organismos anaeróbios facultativos, encontrado na pele, trato gastrointestinal e uretral, sendo um patógeno associado a infecção urinária, como a segunda causa de infecção urinária em mulheres (Carvalho et al., 2014). Sousa et al., 2014 demonstraram a presença de *S. saprophyticus* resistentes no meio ambiente alertando para a possibilidade de transmissão desta resistência para seres humanos. Esta resistência também foi detectada em dispositivos médicos, como estetoscópios, catéteres, além de superfície de jalecos e maçanetas de portas em ambientes hospitalares (Costa Noel et al., 2017). Entre os mecanismos de resistência, a formação de biofilmes (aglomerações celulares de organismos em superfícies) é um dos mecanismos utilizados para sobreviver a ação do sistema imunológico do hospedeiro além de favorecer a troca genética entre bactérias (Pereira et al., 2014)

### 5.3. *Staphylococcus schleiferi*

Entre os *Staphylococcus* spp coagulase negativa(SCN), os *Staphylococcus schleiferi* podem causar infecções de pele e otite em cães (Scherer et al., 2014), colonizar superfícies de equipamentos e utensílios em hospitais como estetoscópios, almofadas, podendo causar infecções oportunistas devido a traumas cutâneos como agulhas e implantes médicos (Moraes et al., 2013). Assim como outros SCN o desenvolvimento de resistência aos antibióticos em *S.schleiferi*, aumenta o risco de transmissão desta resistência para outras bactérias e para o

homem, com o uso não controlado de antibioticoterapia em clínicas veterinárias (Rios et al., 2015).

*Staphylococcus* spp isolados de brinquedos utilizados por crianças hospitalizadas, apresentaram resistência a oxacilina (Borreti et al., 2014) e a resistência induzida à vancomicina é atualmente um dos desafios para a saúde pública (Morey, 2014).

## 6. Conclusão

As condições de balneabilidade e saúde Pública são fundamentais para a qualidade de vida e manutenção de um ambiente equilibrado. Desta forma se faz necessário intervenções ambientais como coleta e tratamento de esgoto.

A fim de estabelecer padrões de balneabilidade e qualidade dos corpos d'água, o Conselho Nacional do Meio Ambiente estabelece parâmetros para controle e monitoramento. No entanto enquanto as resoluções 274/2000 e 357/2005 mencionam bioindicadores e sua densidade, a resolução 430/2011 que trata dos efluentes, faz referencia apenas a parâmetros físico-químicos.

O lançamento do efluente pode contribuir com o aumento de *Staphylococcus* resistentes que podem se disseminar pelo estuário, oferecendo risco à saúde pública, seja por meio de contato direto ou por via alimentar.

A presença de resistência à vancomicina no ponto de lançamento da ETE ( ponto P2) e no sedimento distante deste (ponto P5 e ponto P6), mostra uma influência deste efluente no padrão de resistência pelo fato deste antibiótico ser utilizado apenas em ambiente Hospitalar, que tem seu esgoto conectado à rede que leva à estação de tratamento. Os *Staphylococcus* spp resistentes isolados nestes sedimentos oferecem risco à saúde Pública, pois estes locais são frequentados por moradores e turistas durante o ano.

## 7. Bibliografia

- Abessa, D.M.S., Rachid, B.R.F., Moser, G.A.O., Oliveira, A.J.F.C., 2012. Efeitos Ambientais da disposição oceânica de esgotos por meio de emissários submarinos: uma revisão. *O mundo da Saúde* 36, (4), 643-661;
- American Public Health Association. 2012. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. Apha, Apha, Awwa, Wef. 22 Edition.
- Andrade, C.A., Zampieri, B.D.B., Ballesteros, E.R., Pinto, A.B., Oliveira, A.J.F.C., 2015. Densities and antimicrobial resistance of *Escherichia coli* isolated from marine Waters and beaches sands. *Environmental Monitoring and Assessment*, 187342.
- Arias, M.V.B., Carrilho, C.M.D.M., 2012. Resistência antimicrobiana nos animais e no ser humano. Há motivo para preocupação? *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina, 33, (2), 775-790.
- Barnes, R.D., 1990. *Zoologia de Invertebrados*. ed. Roca, 1143p
- Bila, D. M.; Dezotti, M., 2003. Farmacos no Meio Ambiente. *Química Nova*, Rio de Janeiro, 26, (4), 523-530.
- Both, J.M.R., Longaray, S.M., Avancini, C.A.M., 2009, O desinfetante hipoclorito de sódio como Barreira Sanitária: condições de atividade frente a *Staphylococcus aureus* isolados em alimentos envolvidos em surtos de toxinfecções alimentares, *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, 68 (2) 254-258.
- BRASIL, CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE-CONAMA, Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para seu enquadramento bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. Conama n 357, de 17 de março de 2005. *Diário Oficial da União, República Federativa do Brasil, DF.*, 7 mar.2005.
- Cabianca, M. A. de A., Souza, L. H., *A Cultura de Veraneio e a produção do espaço da Região Metropolitana da Baixada Santista (São Paulo, Brasil)*, 2017 *Turismo & Sociedade*, v. 10, n. 1, p. 1-22.
- Camargo, A.F.M., Cancian, L.F., 2016, *Ecologia da Bacia do Rio Itanhaém*:

- características limnológicas e uso do solo In: MORAES, M.E.B, and LORANDI, R., orgs. Métodos e técnicas de pesquisa em bacias hidrográficas [online]. Ilhéus, BA: Editus, 2016, pp. 197-218. ISBN 978-85- 7455-443-3.
- Carvalho, F.A., Rodrigues, M.A., Bottega, A., Horner, R., 2016, Prevalência e perfil de sensibilidade de bactérias isoladas da urina de gestantes atendidas no serviço de obstetrícia de um hospital terciário, *Scientia Medica*, v 26 (4)
- Caumo, K.; Duarte, M.; Cargnin, S., Ribeiro, V., Tasca, T., Macedo, O.A., 2010. Resistência Bacteriana no Meio Ambiente e implicações na Clínica Hospitalar. *Revista Liberato, Novo Hamburgo*, 11,(16), 183-190.
- CETESB – COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL. 2014. Qualidade das Praias Litorâneas no Estado de São Paulo. São Paulo, Brasil.
- CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. How to define and determine reference intervals in the clinical laboratory. 2011.
- Costa, N.L. C., Silvério, M. F., Francisco, N. L.S.G., Almeida, N.R., Soares, L.C., 2017, Suscetibilidade Antimicrobiana e Fatores de Virulência de *Staphylococcus* em Fômites do Hospital Universitário Sul Fluminense, *Revista Brasileira de Ciências da Saúde*, v 21 (3) 245-254.
- Couceiro, M.A.A., Schettini, C.A.F., 2010, Estudo da dinâmica dos sedimentos em suspensão do Estuário do Rio Araranguá (SC): Possíveis efeitos da drenagem ácida da atividade de mineração de carvão, *Unesp, Geociências*, v 29 (2), 251-266.
- Cunha, D.G.F., Calijuri, M.C., 2010, Análise probabilística de ocorrência de incompatibilidade da qualidade da água com o enquadramento legal de sistemas aquáticos – estudo de caso do Rio Pariqueira-Açu – SP, *Engenharia Sanitária e Ambiental*, 15 (4) 337-346.
- Farias, M.F., Barreira, C.A., Carvalho, F.C.T., Silva, C.M., Falavina, E.M., Costa, R.A.,  
Vieira, R.H.S.F., 2010 Condições Microbiológicas de *Tagelus pleibeius*

(Lightfoot, 1786)( Mollusca : Bivalvia: Solecurtidade) e da água no estuário do Rio Ceará, em Fortaleza – CE, Boletim do Instituto de Pesca, São Paulo, 36 (2) 135-142.

Ferreira, J.C., 2015, Bactérias Potencialmente Resistentes a Antibióticos, desinfetantes e radiação ultravioleta isoladas de esgoto Hospitalar e esgoto Sanitário, 162 fl, dissertação (Mestrado) Engenharia Ambiental, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, 2015.

Fuentefria, D.B.; Ferreira, A.E.; Graf, T.; Corção, G., 2008. Pseudomonas aeruginosa: disseminação de resistência antimicrobiana em efluente hospitalar e água superficial. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, Porto Alegre, RS, 41, (5), 470-473.

IBAMA. INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E RECURSOS RENOVÁVEIS. 2002 Geo Brasil 2002: Perspectivas do Meio Ambiente no Brasil. Brasília, 2002. 476 p.

INSTITUTO DE PESQUISAS TECNOLOGICAS DO ESTADO DE SÃO PAULO-IPT, PREFEITURA MUNICIPAL DE ITANHAÉM-PMI. 2012 Atlas Ambiental do município de Itanhaém. São Paulo, SP.

INSTITUTO POLIS. 2011. Diagnóstico Urbano Socioambiental e Programa de Desenvolvimento Sustentável em Municípios da Baixada Santista-Resumo Executivo de Itanhaém, São Paulo, SP.

KONEMAN, 2008. Diagnóstico Microbiológico, Rio de Janeiro, ed. Guanabara Koogan, 1563 p.

Lesreck M.C., Petroni, R.G.G., Cortez, F.C, Santos, A.R., Coutinho, P.O., Pusceddu, F.H., 2016, Análise da qualidade sanitária da areia das praias de Santos, litoral do Estado de São Paulo, Revista Engenharia Sanitária, v 21, (4) p 777-782.

Lopes, H.V., 2005. CA-MRSA: um novo problema para o infectologista. Revista Panamericana de Infectologia, 7, (3), 34-36.

Loureiro, R.J., Roque, F., Rodrigues, A.T., Herdeiro, M.T., Ramalheira, E. 2016. O uso de antibióticos e as resistências bacterianas: breves notas sobre sua evolução. Revista Portuguesa de Saúde Pública, 34 (1) 77-84.

- 
- Marçal, D.A., Silva, C.E., 2017 Avaliação do impacto do efluente da estação de tratamento de esgoto ETE – Pirajá sobre o Rio Parnaíba, Teresinha (PI), Engenharia Sanitária e Ambiental, 22 (4) 761-772.
- Marques, L.T.P., Mandarola, E.J., Marques, L.T.P., Cassaneli, L.B., 2013 Crescimento urbano e áreas de risco no norte de São Paulo, Revista Brasileira de Estudos de População, v 30 (1), 35-56.
- Martinelli, L.A., Silva, M.A., Camargo, P.B., Moretti, A., Tomazelli, C., Silva, D.M.L., Fischer, E. G.F., Sonoda, K.C., Salomão, M.S.B.M., 2002, Levantamento das cargas orgânicas lançadas nos Rios do Estado de São Paulo, Biota Neotropica, disponível em [www.biotaneotropica.org.br](http://www.biotaneotropica.org.br) acessado em 23/10/2018.
- Mejeia, C., Zurita, J., Blanco, M.G., 2010 Epidemiology and surveillance of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in America Latina, Brazilian Journal of Infections Diseases, 14 (S) 79-86.
- Moraes, C.L., Ribeiro, N.F.G., Costa, D.M., Furlan, V.G., Palos, M.A.P., Vasconcelos, O.L.S.N., 2013, Contaminação de equipamentos e superfícies de Unidades de Terapia Intensiva e da Maternidade Pública por *Staphylococcus coagulase negativa*, Revista de Patologia Tropical, 42 (4) 387-394.
- Morris, D., Cormican, M., 2018. What Lies Beneath: Antimicrobials and Antimicrobials Resistant Bacteria In Wastewater. Water on-line, disponível em [www.wateronline.com](http://www.wateronline.com) Acessado em 21/04/2018.
- Mota, R.A., Silva, K.P.C., Freitas, M.F.L., Porto, W.J.N., Silva, L.B.G., 2005, Utilização indiscriminada de antimicrobianos e sua contribuição a multirresistência bacteriana, Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science, 42 (6), 465-470.
- Moura, A.C., Assumpção, R.A.B., Bischoff, J., 2009, Monitoramento Físico-Químico e Microbiológico da Água do Rio Cascavel durante o período de 2003 a 2006, Arquivo do Instituto Biológico, São Paulo, v 76, (1), 17 – 22.

- Moura, J.F., Cardozo, M., Belo, M.S.S.P., Hacon, S., Siciliano, S., 2011, A interface da Saúde Pública com a Saúde dos Oceanos: produção de doenças, impactos socioeconômicos e relações benéficas, *Ciência & Saúde Coletiva*, v 16 (8) 3469 – 3480.
- Nascimento, T.C., Januzzi, W.A., Leonel, M., Silva, V.L., Diniz, C.G.2009. Ocorrência de bactérias clinicamente relevante de serviços de saúde em um aterro sanitário brasileiro e perfil de suscetibilidade a antimicrobianos. *Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 42, (4), 415-419.
- Oliveira, A.J.; França, P.T.; Pinto, A. B.,2009 Antimicrobial resistance of heterotrophic marine bacteria isolated from seawater and sands recreational beaches with different organic pollution levels in southeastern Brazil: evidences of resistance dissemination, *Water Reserch*, 42,(8), 2242-2250.
- Oliveira, K.W., Gomes, F.C.O., Moraes, P.B. 2012. Ocorrência de *Escherichia coli* multirresistentes a antimicrobianos nas principais praias do reservatório de Lajeado- TO. *Engenharia Ambiental-Espirito Santo do Pinhal*, 9, (3),338-351.
- Oliveira, C.F., Morey, A.T.,Garbin, R.B.P., Perugini, M.R.E., Yamaguchi,L.M., Ogatas,S.F.I.,2014, Emergência de *Staphylococcus aureus* resistentes aos antimicrobianos: um desafio contínuo, *Revista de Ciências Médicas e Biológicas*, 13 (2), 242-247.
- Pereira, S. E.F. L., Pires, J.S.R., Hardt, E., Santos, J.E.S., Ferreira, W.A., 2011, Avaliação da qualidade da água em microbacias de uma Unidade de Conservação do Nordeste do Estado de São Paulo, *Revista Brasileira de Biociências*, Porto Alegre, v 9 (3) 371-381.
- Pianowski, E.H., Janissek, P.R., 2003, Desinfecção de efluentes sanitários com o uso de Cloro: Avaliação da formação de trihalometanos. *Revista técnica da Sanepar*, Curitiba, v 20 (20) 6-17
- Pinto, A.B., Pereria, C.R., Oliveira, A.J.F.C. 2012. Densidade de *Enterococcus sp* em águas recreacionais e areias de praias do município de São Vicente-SP, Brasil e sua relação com parâmetros abióticos. *O mundo da Saúde*, 36, (4), 587-593.

- 
- Pinto, G.M.F., Silva, K.R., Pereira, R.F.A.B, Sampaio, S.I., 2014 Estudo do descarte residencial de medicamentos vencidos na região de Paulínia(SP) Brasil, *Engenharia Sanitária Ambiental*, 19 (13), 219-224.
- Rios, A.M., Baqueiro, M.R., Ortiz, G., Aylon, T., Dominguez, M.R., Diaz, S.A., 2015, *Staphylococcus* multirresistentes a los antibióticos y su importância em medicina veterinária, *Clinica Veterinária de pequenos animais*, 35 (3) 149 - 161.
- Santos, M., Souza, C.A., Sousa, J.B., Filho, A.R., Santos, R.P.S., 2013, Dinâmica fluvial da bacia hidrográfica do córrego cachoeirinha no município de Cárceres MT – Brasil, *Enciclopédia Biosfera*, 9 (17) 3160-3187.
- Santos, A.L., Santos, D.O., Freitas, C.C., Ferreira, B.L.A., Afonso, I.F., Rodrigues, R.V., Castro, H.C. 2007. *Staphylococcus aureus*: visitando uma cepa de importância hospitalar. *Jornal Brasileiro de Patologia*, 43,(6),413-423.
- Sato, S.E., Cunha, C.M.I., 2013. Carta de unidades geoambientais do município de Itanhaém, São Paulo, Brasil. *Revista de Gestão Costeira Integrada*, 13 (3), 329 -342.
- Scherer, C.B., Bicalho, A.P.C.V., 2014, Resistência à metilina em otite externa canina – do diagnóstico ao tratamento, *Revista de Educação Continuada em Dermatologia e Alergologia Veterinária*, 3 (9) 224 – 233.
- Seriani, R.; Silveira, F.L.; Roamano, P.; Pinna, F.V.; Abessa, D.M.S. 2006. Toxicidade de Águas e Sedimentos e comunidade Bentonica do Estuário do Rio Itanhaem: bases para a educação ambiental. *O Mundo da Saúde*, São Paulo, 30(4).628633.
- Silveira, M., 2013. Prevalência e fatores de risco para carreamento de *Staphylococcus aureus* resistente à metilina em idosos institucionalizados na cidade de BauruSP. 2013. 91 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho” Faculdade de Medicina de Botucatu, Botucatu, 2013.
- Sousa, V.S., Silva, A.P.S., Sorenson, L., Paschoal, R.P., Rabello, R.F., Campanha,

E.H., Pinheiro, M.S., Santos, L.O.F., Martins, N., Botelho, A.C.N., Picão, R.C.,

Fracalanza, E.L., Riley, L.W., Sensabaugh, G., Moreira, B, M, 2017, Staphylococcus saprophyticus Recovered from Humans, Food, and Recreational Waters in Rio de Janeiro, Brazil, International Journal of Microbiology, 8 (5) 1-11.

Suguió, K. 2013, Tópicos de Geociências para o Desenvolvimento Sustentável: as regiões litorâneas. Revista do Instituto de Geociências, Usp, Série Didática, 40.

Tavares, W. 2000. Bactérias gram positivas problemas: resistência do estafilococo, do enterococo e do pneumococo aos antimicrobianos. Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 33,(3), 281-301.

Teixeira, C. F. 2009 Estafilococos coagulase negativa: Um risco para a saúde pública.

2009. 94 f. TCC (Graduação) - Curso de Graduação em Vigilância Sanitária, Fiocruz, Rio de Janeiro, 2009.

Vecchia, A. D. ; Thewes, M. R. ; Harb N. R.; Spilki, F. R..2009 Diagnóstico sobre a situação do tratamento do esgoto hospitalar no Brasil. Revista Saúde e Ambiente, 10 (2), 65-70.

Vieira, P.N., Vieira, S.L.V., 2017, Uso irracional e resistência a antimicrobianos em Hospitais, Arquivos de Ciências da Saúde, Unipar, 21 (3), 209-212

WORLD HEALTH ORGANIZATION, The Evolving threat of antimicrobial resistance. Options for action, 2012, 125 p.

## ANEXO 1

### **RESOLUÇÃO CONAMA nº 274, de 29 de novembro de 2000 Publicada no DOU no 18, de 25 de janeiro de 2001, Seção 1, páginas 70-71 Correlações:**

Revoga os artigos 26 a 34 da Resolução no 20/86 (revogada pela Resolução no 357/05)

Define os critérios de balneabilidade em águas brasileiras.

O CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE-CONAMA, no uso das competências que lhe são conferidas pela Lei no 6938, de 31 de agosto de 1981, regulamentada pelo Decreto no 99.274, de 6 de junho de 1990, e tendo em vista o disposto na Resolução CONAMA no 20, de 18 de junho de 198659 e em seu Regimento Interno, e

Considerando que a saúde e o bem-estar humano podem ser afetados pelas condições de balneabilidade;

Considerando ser a classificação das águas doces, salobras e salinas essencial à defesa dos níveis de qualidade, avaliados por parâmetros e indicadores específicos, de modo a assegurar as condições de balneabilidade;

Considerando a necessidade de serem criados instrumentos para avaliar a evolução da qualidade das águas, em relação aos níveis estabelecidos para a balneabilidade, de forma a assegurar as condições necessárias à recreação de contato primário;

Considerando que a Política Nacional do Meio Ambiente, a Política Nacional de Recursos Hídricos e o Plano Nacional de Gerenciamento Costeiro (PNGC) recomendam a adoção de sistemáticas de avaliação da qualidade ambiental das águas, resolve:

Art. 1º Para efeito desta Resolução são adotadas as seguintes definições:

- a) águas doces: águas com salinidade igual ou inferior a 0,50‰;
- b) águas salobras: águas com salinidade compreendida entre 0,50‰ e 30‰;
- c) águas salinas: águas com salinidade igual ou superior a 30‰;
- d) coliformes fecais (termotolerantes): bactérias pertencentes ao grupo dos coliformes totais caracterizadas pela presença da enzima  $\beta$ -galactosidase e pela capacidade de fermentar a lactose com produção de gás em 24 horas à temperatura de 44-45°C em meios contendo sais biliares ou outros agentes tensoativos com propriedades inibidoras semelhantes. Além de presentes em fezes

humanas e de animais podem, também, ser encontradas em solos, plantas ou quaisquer efluentes contendo matéria orgânica;

e) *Escherichia coli*: bactéria pertencente à família Enterobacteriaceae, caracterizada pela presença das enzimas  $\beta$ -galactosidase e  $\beta$ -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;

f) Enterococos: bactérias do grupo dos estreptococos fecais, pertencentes ao gênero *Enterococcus* (previamente considerado estreptococos do grupo D), o qual se caracteriza pela alta tolerância às condições adversas de crescimento, tais como: capacidade de crescer na presença de 6,5% de cloreto de sódio, a pH 9,6 e nas temperaturas de 10° e 45°C. A maioria das espécies dos *Enterococcus* são de origem fecal humana, embora possam ser isolados de fezes de animais;

g) floração: proliferação excessiva de microrganismo aquáticos, principalmente algas, com predominância de uma espécie, decorrente do aparecimento de condições ambientais favoráveis, podendo causar mudança na coloração da água e/ou formação de uma camada espessa na superfície;

h) isóbata: linha que une pontos de igual profundidade;

i) recreação de contato primário: quando existir o contato direto do usuário com os corpos de água como, por exemplo, as atividades de natação, esqui aquático e mergulho.

Art. 2o As águas doces, salobras e salinas destinadas à balneabilidade (recreação de contato primário) terão sua condição avaliada nas categorias própria e imprópria.

§ 1o As águas consideradas próprias poderão ser subdivididas nas seguintes categorias:

a) Excelente: quando em 80% ou mais de um conjunto de amostras obtidas em cada uma das cinco semanas anteriores, colhidas no mesmo local, houver, no máximo, 25 coliformes fecais (termotolerantes) ou 200 *Escherichia coli* ou 25 enterococos por 100 mililitros;

b) Muito Boa: quando em 80% ou mais de um conjunto de amostras obtidas em cada uma das cinco semanas anteriores, colhidas no mesmo local, houver, no máximo, 500 coliformes fecais (termotolerantes) ou 400 *Escherichia coli* ou 50 enterococos por 100 mililitros;

c) Satisfatória: quando em 80% ou mais de um conjunto de amostras obtidas em cada uma das cinco semanas anteriores, colhidas no mesmo local,

-  
houver, no máximo 1.000 coliformes fecais (termotolerantes) ou 800 Escherichia coli ou 100 enterococos por 100 mililitros.

§ 2o Quando for utilizado mais de um indicador microbiológico, as águas terão as suas condições avaliadas, de acordo com o critério mais restritivo.

§ 3o Os padrões referentes aos enterococos aplicam-se, somente, às águas marinhas.

§ 4o As águas serão consideradas impróprias quando no trecho avaliado, for verificada uma das seguintes ocorrências:

- a) não atendimento aos critérios estabelecidos para as águas próprias;
- b) valor obtido na última amostragem for superior a 2500 coliformes fecais (termotolerantes) ou 2000 Escherichia coli ou 400 Enterococos por 100 mililitros;
- c) incidência elevada ou anormal, na Região, de enfermidades transmissíveis por via hídrica, indicada pelas autoridades sanitárias;
- d) presença de resíduos ou despejos, sólidos ou líquidos, inclusive esgotos sanitários, óleos, graxas e outras substâncias, capazes de oferecer riscos à saúde ou tornar desagradável a recreação;
- e) pH < 6,0 ou pH > 9,0 (águas doces), à exceção das condições naturais;
- f) floração de algas ou outros organismos, até que se comprove que não oferecem riscos à saúde humana;
- g) outros fatores que contra-indiquem, temporária ou permanentemente, o exercício da recreação de contato primário.

§ 5o Nas praias ou balneários sistematicamente impróprios, recomenda-se a pesquisa de organismos patogênicos.

Art. 3o Os trechos das praias e dos balneários serão interditados se o órgão de controle ambiental, em quaisquer das suas instâncias (municipal, estadual ou

federal), constatar que a má qualidade das águas de recreação de contato primário justifica a medida.

§ 1o Consideram-se como passíveis de interdição os trechos em que ocorram acidentes de médio e grande porte, tais como: derramamento de óleo e extravasamento de esgoto, a ocorrência de toxicidade ou formação de nata decorrente de floração de algas ou outros organismos e, no caso de águas doces, a presença de moluscos transmissores potenciais de esquistossomose e outras doenças de veiculação hídrica.

§ 2o A interdição e a sinalização, por qualquer um dos motivos mencionados no caput e no § 1o deste artigo, devem ser efetivadas, pelo órgão de controle ambiental competente.

Art. 4o Quando a deterioração da qualidade das praias ou balneários fi car caracterizada como decorrência da lavagem de vias públicas pelas águas da chuva, ou em conseqüência de outra causa qualquer, essa circunstância deverá ser mencionada no boletim de condição das praias e balneários, assim como qualquer outra que o órgão de controle ambiental julgar relevante.

Art. 5o A amostragem será feita, preferencialmente, nos dias de maior afl uência do público às praias ou balneários, a critério do órgão de controle ambiental competente.

Parágrafo único. A amostragem deverá ser efetuada em local que apresentar a isóbata de um metro e onde houver maior concentração de banhistas.

Art. 6o Os resultados dos exames poderão, também, abranger períodos menores que cinco semanas, desde que cada um desses períodos seja especificado e tenham sido colhidas e examinadas, pelo menos, cinco amostras durante o tempo mencionado, com intervalo mínimo de 24 horas entre as amostragens.

Art. 7o Os métodos de amostragem e análise das águas devem ser os especificados nas normas aprovadas pelo Instituto Nacional de Metrologia, Normatização e Qualidade Industrial-INMETRO ou, na ausência destas, no Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater-APHA-AWWA-WPCF, última edição.

Art. 8o Recomenda-se aos órgãos ambientais a avaliação das condições parasitológicas e microbiológicas da areia, para futuras padronizações.

Art. 9o Aos órgãos de controle ambiental compete a aplicação desta Resolução, cabendo-lhes a divulgação das condições de balneabilidade das praias e dos balneários e a fiscalização para o cumprimento da legislação pertinente.

-

Art. 10. Na ausência ou omissão do órgão de controle ambiental, o Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis-IBAMA atuará, diretamente, em caráter supletivo.

Art. 11. Os órgãos de controle ambiental manterão o IBAMA informado sobre as condições de balneabilidade dos corpos de água.

Art. 12. A União, os Estados, o Distrito Federal e os Municípios articular-se-ão entre si e com a sociedade, para definir e implementar as ações decorrentes desta Resolução.

Art. 13. O não cumprimento do disposto nesta Resolução sujeitará os infratores às sanções previstas nas Leis nos 6.938, de 31 de agosto de 1981; 9.605, de 12 de fevereiro de 1998 e no Decreto no 3.179, de 21 de setembro de 1999.

Art. 14. Esta Resolução entra em vigor na data de sua publicação.

Art. 15. Ficam revogados os arts. nos 26 a 34, da Resolução do CONAMA no 20, de 18 de junho de 1986.

JOSÉ SARNEY FILHO - Presidente do Conama  
JOSÉ CARLOS CARVALHO - Secretário-Executivo

NOTA: Republicada por trazer incorreções (versão original no DOU no 5, de 08/01/01, pág. 23).

*Este texto não substitui o publicado no DOU, de 25 de janeiro de 2001.*

## ANEXO 2

Considerando-se o objetivo do trabalho voltado para a parte microbiológica, neste anexo não consta as tabelas com os parâmetros inorgânicos.

### **RESOLUÇÃO Nº 357, DE 17 DE MARÇO DE 2005 Publicada no DOU nº 053, de 18/03/2005, págs. 58-63**

- Alterada pela Resolução 410/2009 e pela 430/2011

*Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências.*

O **CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE-CONAMA**, no uso das competências que lhe são conferidas pelos arts. 6º, inciso II e 8º, inciso VII, da Lei nº 6.938, de 31 de agosto de 1981, regulamentada pelo Decreto nº 99.274, de 6 de junho de 1990 e suas alterações, tendo em vista o disposto em seu Regimento Interno, e

Considerando a vigência da Resolução CONAMA nº 274, de 29 de novembro de 2000, que dispõe sobre a balneabilidade;

Considerando o art. 9º, inciso I, da Lei nº 9.433, de 8 de janeiro de 1997, que instituiu a Política Nacional dos Recursos Hídricos, e demais normas aplicáveis à matéria; Considerando que a água integra as preocupações do desenvolvimento sustentável, baseado nos princípios da função ecológica da propriedade, da prevenção, da precaução, do poluidor-pagador, do usuáripagador e da integração, bem como no reconhecimento de valor intrínseco à natureza;

Considerando que a Constituição Federal e a Lei nº 6.938, de 31 de agosto de 1981, visam controlar o lançamento no meio ambiente de poluentes, proibindo o lançamento em níveis nocivos ou perigosos para os seres humanos e outras formas de vida;

Considerando que o enquadramento expressa metas finais a serem alcançadas, podendo ser fixadas metas progressivas intermediárias, obrigatórias, visando a sua efetivação;

-  
Considerando os termos da Convenção de Estocolmo, que trata dos Poluentes Orgânicos Persistentes POPs, ratificada pelo Decreto Legislativo nº 204, de 7 de maio de 2004;

Considerando ser a classificação das águas doces, salobras e salinas essencial à defesa de seus níveis de qualidade, avaliados por condições e padrões específicos, de modo a assegurar seus usos preponderantes; Considerando que o enquadramento dos corpos de água deve estar baseado não necessariamente no seu estado atual, mas nos níveis de qualidade que deveriam possuir para atender às necessidades da comunidade;

Considerando que a saúde e o bem-estar humano, bem como o equilíbrio ecológico aquático, não devem ser afetados pela deterioração da qualidade das águas;

Considerando a necessidade de se criar instrumentos para avaliar a evolução da qualidade das águas, em relação às classes estabelecidas no enquadramento, de forma a facilitar a fixação e controle de metas visando atingir gradativamente os objetivos propostos;

Considerando a necessidade de se reformular a classificação existente, para melhor distribuir os usos das águas, melhor especificar as condições e padrões de qualidade requeridos, sem prejuízo de posterior aperfeiçoamento; e

Considerando que o controle da poluição está diretamente relacionado com a proteção da saúde, garantia do meio ambiente ecologicamente equilibrado e a melhoria da qualidade de vida, levando em conta os usos prioritários e classes de qualidade ambiental exigidos para um determinado corpo de água; resolve:

Art. 1º Esta Resolução dispõe sobre a classificação e diretrizes ambientais para o enquadramento dos corpos de água superficiais, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes CAPÍTULO I

## DAS DEFINIÇÕES

Art. 2º Para efeito desta Resolução são adotadas as seguintes definições:

- I - águas doces: águas com salinidade igual ou inferior a 0,5 ‰;
- II - águas salobras: águas com salinidade superior a 0,5 ‰ e inferior a 30 ‰;
- III - águas salinas: águas com salinidade igual ou superior a 30 ‰;
- IV - ambiente lântico: ambiente que se refere à água parada, com movimento lento ou estagnado;
- V - ambiente lótico: ambiente relativo a águas continentais moventes;
- VI - aquíicultura: o cultivo ou a criação de organismos cujo ciclo de vida, em condições naturais, ocorre total ou parcialmente em meio aquático;

- VII - carga poluidora: quantidade de determinado poluente transportado ou lançado em um corpo de água receptor, expressa em unidade de massa por tempo;
- VIII - cianobactérias: microorganismos procarióticos autotróficos, também denominados como cianofíceas (algas azuis) capazes de ocorrer em qualquer manancial superficial especialmente naqueles com elevados níveis de nutrientes (nitrogênio e fósforo), podendo produzir toxinas com efeitos adversos a saúde;
- IX Classe de qualidade: conjunto de condições e padrões de qualidade de água necessários ao atendimento dos usos preponderantes, atuais ou futuros;
- X - classificação: qualificação das águas doces, salobras e salinas em função dos usos preponderantes (sistema de classes de qualidade) atuais e futuros;
- XI - coliformes termotolerantes: bactérias gram-negativas, em forma de bacilos, oxidase-negativas, caracterizadas pela atividade da enzima  $\beta$ -galactosidase. Podem crescer em meios contendo agentes tenso-ativos e fermentar a lactose nas temperaturas de 44° - 45°C, com produção de ácido, gás e aldeído. Além de estarem presentes em fezes humanas e de animais homeotérmicos, ocorrem em solos, plantas ou outras matrizes ambientais que não tenham sido contaminados por material fecal;
- XII - condição de qualidade: qualidade apresentada por um segmento de corpo d'água, num determinado momento, em termos dos usos possíveis com segurança adequada, frente às Classes de Qualidade;
- XIII - condições de lançamento: condições e padrões de emissão adotados para o controle de lançamentos de efluentes no corpo receptor;
- XIV - controle de qualidade da água: conjunto de medidas operacionais que visa avaliar a melhoria e a conservação da qualidade da água estabelecida para o corpo de água;
- XV - corpo receptor: corpo hídrico superficial que recebe o lançamento de um efluente;
- XVI - desinfecção: remoção ou inativação de organismos potencialmente patogênicos;
- XVII - efeito tóxico agudo: efeito deletério aos organismos vivos causado por agentes físicos ou químicos, usualmente letalidade ou alguma outra manifestação que a antecede, em um curto período de exposição;
- XVIII - efeito tóxico crônico: efeito deletério aos organismos vivos causado por agentes físicos ou químicos que afetam uma ou várias funções biológicas dos organismos, tais como a reprodução, o crescimento e o comportamento, em um período de exposição que pode abranger a totalidade de seu ciclo de vida ou parte dele;

- 
- XIX - efetivação do enquadramento: alcance da meta final do enquadramento;
- XX - enquadramento: estabelecimento da meta ou objetivo de qualidade da água (classe) a ser, obrigatoriamente, alcançado ou mantido em um segmento de corpo de água, de acordo com os usos preponderantes pretendidos, ao longo do tempo;
- XXI - ensaios ecotoxicológicos: ensaios realizados para determinar o efeito deletério de agentes físicos ou químicos a diversos organismos aquáticos;
- XXII - ensaios toxicológicos: ensaios realizados para determinar o efeito deletério de agentes físicos ou químicos a diversos organismos visando avaliar o potencial de risco à saúde humana;
- XXIII - *Escherichia coli (E. Coli)*: bactéria pertencente à família Enterobacteriaceae caracterizada pela atividade da enzima  $\beta$ -glicuronidase. Produz indol a partir do aminoácido triptofano. É a única espécie do grupo dos coliformes termotolerantes cujo habitat exclusivo é o intestino humano e de animais homeotérmicos, onde ocorre em densidades elevadas;
- XXIV - metas: é o desdobramento do objeto em realizações físicas e atividades de gestão, de acordo com unidades de medida e cronograma preestabelecidos, de caráter obrigatório;
- XXV - monitoramento: medição ou verificação de parâmetros de qualidade e quantidade de água, que pode ser contínua ou periódica, utilizada para acompanhamento da condição e controle da qualidade do corpo de água;
- XXVI - padrão: valor limite adotado como requisito normativo de um parâmetro de qualidade de água ou efluente;
- XXVII - parâmetro de qualidade da água: substâncias ou outros indicadores representativos da qualidade da água;
- XXVIII - pesca amadora: exploração de recursos pesqueiros com fins de lazer ou desporto;
- XXIX - programa para efetivação do enquadramento: conjunto de medidas ou ações progressivas e obrigatórias, necessárias ao atendimento das metas intermediárias e final de qualidade de água estabelecidas para o enquadramento do corpo hídrico;
- XXX - recreação de contato primário: contato direto e prolongado com a água (tais como natação, mergulho, esqui-aquático) na qual a possibilidade do banhista ingerir água é elevada;
- XXXI - recreação de contato secundário: refere-se àquela associada a atividades em que o contato com a água é esporádico ou acidental e a possibilidade de ingerir água é pequena, como na pesca e na navegação (tais como iatismo);

- XXXII - tratamento avançado: técnicas de remoção e/ou inativação de constituintes refratários aos processos convencionais de tratamento, os quais podem conferir à água características, tais como: cor, odor, sabor, atividade tóxica ou patogênica;
- XXXIII - tratamento convencional: clarificação com utilização de coagulação e floculação, seguida de desinfecção e correção de pH;
- XXXIV - tratamento simplificado: clarificação por meio de filtração e desinfecção e correção de pH quando necessário;
- XXXV tributário (ou curso de água afluyente): corpo de água que flui para um rio maior ou para um lago ou reservatório;
- XXXVI - vazão de referência: vazão do corpo hídrico utilizada como base para o processo de gestão, tendo em vista o uso múltiplo das águas e a necessária articulação das instâncias do Sistema Nacional de Meio Ambiente-SISNAMA e do Sistema Nacional de Gerenciamento de Recursos Hídricos-SINGRH;
- XXXVII - virtualmente ausentes: que não é perceptível pela visão, olfato ou paladar;  
e
- XXXVIII (Revogado pela Resolução 430/2011)

## CAPÍTULO II

### DA CLASSIFICAÇÃO DOS CORPOS DE ÁGUA

Art.3º As águas doces, salobras e salinas do Território Nacional são classificadas, segundo a qualidade requerida para os seus usos preponderantes, em treze classes de qualidade.

Parágrafo único. As águas de melhor qualidade podem ser aproveitadas em uso menos exigente, desde que este não prejudique a qualidade da água, atendidos outros requisitos pertinentes.

#### **Seção I Das Águas Doces**

Art. 4º As águas doces são classificadas em:

I - classe especial: águas destinadas:

- a) ao abastecimento para consumo humano, com desinfecção;
- b) à preservação do equilíbrio natural das comunidades aquáticas; e,
- c) à preservação dos ambientes aquáticos em unidades de conservação de proteção integral.

II - classe 1: águas que podem ser destinadas:

- a) ao abastecimento para consumo humano, após tratamento simplificado;
- b) à proteção das comunidades aquáticas;
- c) à recreação de contato primário, tais como natação, esqui aquático e mergulho, conforme Resolução CONAMA nº 274, de 2000;
- d) à irrigação de hortaliças que são consumidas cruas e de frutas que se desenvolvam rentes ao solo e que sejam ingeridas cruas sem remoção de película;
- e

- 
- e) à proteção das comunidades aquáticas em Terras Indígenas. III - classe 2: águas que podem ser destinadas:
- a) ao abastecimento para consumo humano, após tratamento convencional;
  - b) à proteção das comunidades aquáticas;
  - c) à recreação de contato primário, tais como natação, esqui aquático e mergulho, conforme Resolução CONAMA nº 274, de 2000;

d) à irrigação de hortaliças, plantas frutíferas e de parques, jardins, campos de esporte e lazer, com os quais o público possa vir a ter contato direto; e e) à aqüicultura e à atividade de pesca. IV - classe 3: águas que podem ser destinadas:

a) ao abastecimento para consumo humano, após tratamento convencional ou avançado;

b) à irrigação de culturas arbóreas, cerealíferas e forrageiras;

c) à pesca amadora;

d) à recreação de contato secundário; e

e) à dessedentação de animais. III classe 4: águas que podem ser destinadas: a) à navegação; e

b) à harmonia paisagística.

### **Seção II Das Águas Salinas**

Art. 5º As águas salinas são assim classificadas:

I - classe especial: águas destinadas:

a) à preservação dos ambientes aquáticos em unidades de conservação de proteção integral; e

b) à preservação do equilíbrio natural das comunidades aquáticas.

II - classe 1: águas que podem ser destinadas:

a) à recreação de contato primário, conforme Resolução CONAMA nº 274, de 2000;

b) à proteção das comunidades aquáticas; e

c) à aqüicultura e à atividade de pesca. III - classe 2: águas que podem ser destinadas:

a) à pesca amadora; e

b) à recreação de contato secundário. IV -

classe 3: águas que podem ser destinadas:

a) à navegação; e

b) à harmonia paisagística.

### **Seção II Das Águas Salobras Art.**

6º As águas salobras são assim classificadas:

I - classe especial: águas destinadas:

a) à preservação dos ambientes aquáticos em unidades de conservação de proteção integral; e,

b) à preservação do equilíbrio natural das comunidades aquáticas. II - classe 1: águas que podem ser destinadas:

a) à recreação de contato primário, conforme Resolução CONAMA nº 274, de 2000;

b) à proteção das comunidades aquáticas;

c) à aqüicultura e à atividade de pesca;

d) ao abastecimento para consumo humano após tratamento convencional ou avançado; e

e) à irrigação de hortaliças que são consumidas cruas e de frutas que se desenvolvam rentes ao solo e que sejam ingeridas cruas sem remoção de película, e à irrigação de parques, jardins, campos de esporte e lazer, com os quais o público possa vir a ter contato direto.

III - classe 2: águas que podem ser destinadas: a) à pesca amadora; e

b) à recreação de contato secundário.

IV - classe 3: águas que podem ser destinadas: a) à navegação; e

b) à harmonia paisagística.

### CAPÍTULO III

## DAS CONDIÇÕES E PADRÕES DE QUALIDADE DAS ÁGUAS

### Seção I Das Disposições Gerais

Art. 7º Os padrões de qualidade das águas determinados nesta Resolução estabelecem limites individuais para cada substância em cada classe.

Parágrafo único. Eventuais interações entre substâncias, especificadas ou não nesta Resolução, não poderão conferir às águas características capazes de causar efeitos letais ou alteração de comportamento, reprodução ou fisiologia da vida, bem como de restringir os usos preponderantes previstos, ressalvado o disposto no § 3º do art. 34, desta Resolução.

Art. 8º O conjunto de parâmetros de qualidade de água selecionado para subsidiar a proposta de enquadramento deverá ser monitorado periodicamente pelo Poder Público.

§ 1º Também deverão ser monitorados os parâmetros para os quais haja suspeita da sua presença ou não conformidade.

§ 2º Os resultados do monitoramento deverão ser analisados estatisticamente e as incertezas de medição consideradas.

§ 3º A qualidade dos ambientes aquáticos poderá ser avaliada por indicadores biológicos, quando apropriado, utilizando-se organismos e/ou comunidades aquáticas.

§ 4º As possíveis interações entre as substâncias e a presença de contaminantes não listados nesta Resolução, passíveis de causar danos aos seres vivos, deverão ser investigadas utilizando-se ensaios ecotoxicológicos, toxicológicos, ou outros métodos cientificamente reconhecidos.

§ 5º Na hipótese dos estudos referidos no parágrafo anterior tornarem-se necessários em decorrência da atuação de empreendedores identificados, as despesas da investigação correrão as suas expensas.

§ 6º Para corpos de água salobras continentais, onde a salinidade não se dê por influência direta marinha, os valores dos grupos químicos de nitrogênio e fósforo serão os estabelecidos nas classes correspondentes de água doce.

Art. 9º A análise e avaliação dos valores dos parâmetros de qualidade de água de que trata esta Resolução serão realizadas pelo Poder Público, podendo ser utilizado laboratório próprio, conveniado ou contratado, que deverá adotar os procedimentos

de controle de qualidade analítica necessários ao atendimento das condições exigíveis.

§ 1º Os laboratórios dos órgãos competentes deverão estruturar-se para atenderem ao disposto nesta Resolução.

§ 2º Nos casos onde a metodologia analítica disponível for insuficiente para quantificar as concentrações dessas substâncias nas águas, os sedimentos e/ou biota aquática poderão ser investigados quanto à presença eventual dessas substâncias.

Art. 10. Os valores máximos estabelecidos para os parâmetros relacionados em cada uma das classes de enquadramento deverão ser obedecidos nas condições de vazão de referência.

§ 1º Os limites de Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO), estabelecidos para as águas doces de classes 2 e 3, poderão ser elevados, caso o estudo da capacidade de autodepuração do corpo receptor demonstre que as concentrações mínimas de oxigênio dissolvido (OD) previstas não serão desobedecidas, nas condições de vazão de referência, com exceção da zona de mistura.

§ 2º Os valores máximos admissíveis dos parâmetros relativos às formas químicas de nitrogênio e fósforo, nas condições de vazão de referência, poderão ser alterados em decorrência de condições naturais, ou quando estudos ambientais específicos, que considerem também a poluição difusa, comprovem que esses novos limites não acarretarão prejuízos para os usos previstos no enquadramento do corpo de água.

§ 3º Para águas doces de classes 1 e 2, quando o nitrogênio for fator limitante para eutrofização, nas condições estabelecidas pelo órgão ambiental competente, o valor de nitrogênio total (após oxidação) não deverá ultrapassar 1,27 mg/L para ambientes lenticos e 2,18 mg/L para ambientes lóticos, na vazão de referência.

§ 4º O disposto nos §§ 2º e 3º não se aplica às baías de águas salinas ou salobras, ou outros corpos de água em que não seja aplicável a vazão de referência, para os quais deverão ser elaborados estudos específicos sobre a dispersão e assimilação de poluentes no meio hídrico.

Art. 11. O Poder Público poderá, a qualquer momento, acrescentar outras condições e padrões de qualidade, para um determinado corpo de água, ou torná-los mais restritivos, tendo em vista as condições locais, mediante fundamentação técnica.

Art. 12. O Poder Público poderá estabelecer restrições e medidas adicionais, de caráter excepcional e temporário, quando a vazão do corpo de água estiver abaixo da vazão de referência.

Art. 13. Nas águas de classe especial deverão ser mantidas as condições naturais do corpo de água.

## **Seção II Das Águas Doces**

Art. 14. As águas doces de classe 1 observarão as seguintes condições e padrões:

I - condições de qualidade de água:

a) não verificação de efeito tóxico crônico a organismos, de acordo com os critérios estabelecidos pelo órgão ambiental competente, ou, na sua ausência, por

instituições nacionais ou internacionais renomadas, comprovado pela realização de ensaio ecotoxicológico padronizado ou outro método cientificamente reconhecido.

- b) materiais flutuantes, inclusive espumas não naturais: virtualmente ausentes;
- c) óleos e graxas: virtualmente ausentes;
- d) substâncias que comuniquem gosto ou odor: virtualmente ausentes;
- e) corantes provenientes de fontes antrópicas: virtualmente ausentes;
- f) resíduos sólidos objetáveis: virtualmente ausentes;
- g) coliformes termotolerantes: para o uso de recreação de contato primário deverão ser obedecidos os padrões de qualidade de balneabilidade, previstos na Resolução CONAMA nº 274, de 2000. Para os demais usos, não deverá ser excedido um limite de 200 coliformes termotolerantes por 100 mililitros em 80% ou mais, de pelo menos 6 amostras, coletadas durante o período de um ano, com frequência bimestral. A *E. Coli* poderá ser determinada em substituição ao parâmetro coliformes termotolerantes de acordo com limites estabelecidos pelo órgão ambiental competente; h) DBO 5 dias a 20°C até 3 mg/L O<sub>2</sub>;
- i) OD, em qualquer amostra, não inferior a 6 mg/L O<sub>2</sub>;
- j) turbidez até 40 unidades nefelométrica de turbidez (UNT);
- l) cor verdadeira: nível de cor natural do corpo de água em mg Pt/L; e m) pH: 6,0 a 9,0. II - Padrões de qualidade de água:

III - Nas águas doces onde ocorrer pesca ou cultivo de organismos, para fins de consumo intensivo, além dos padrões estabelecidos no inciso II deste artigo, aplicam-se os seguintes padrões em substituição ou adicionalmente:

Art 15. Aplicam-se às águas doces de classe 2 as condições e padrões da classe 1 previstos no artigo anterior, à exceção do seguinte:

- I - não será permitida a presença de corantes provenientes de fontes antrópicas que não sejam removíveis por processo de coagulação, sedimentação e filtração convencionais;
- II - coliformes termotolerantes: para uso de recreação de contato primário deverá ser obedecida a Resolução CONAMA nº 274, de 2000. Para os demais usos, não deverá ser excedido um limite de 1.000 coliformes termotolerantes por 100 mililitros em 80% ou mais de pelo menos 6 (seis) amostras coletadas durante o período de um ano, com frequência bimestral. A *E. coli* poderá ser determinada em substituição ao parâmetro coliformes termotolerantes de acordo com limites estabelecidos pelo órgão ambiental competente;
- III - cor verdadeira: até 75 mg Pt/L;
- IV - turbidez: até 100 UNT;
- V - DBO 5 dias a 20°C até 5 mg/L O<sub>2</sub>;
- VI - OD, em qualquer amostra, não inferior a 5 mg/L O<sub>2</sub>;
- VII - clorofila *a*: até 30 µg/L;
- VIII - densidade de cianobactérias: até 50000 cel/mL ou 5 mm<sup>3</sup>/L; e, IX - fósforo total:

- a) até 0,030 mg/L, em ambientes lênticos; e,
- b) até 0,050 mg/L, em ambientes intermediários, com tempo de residência entre 2 e 40 dias, e tributários diretos de ambiente lêntico.

Art. 16. As águas doces de classe 3 observarão as seguintes condições e padrões:

I - condições de qualidade de água:

- a) não verificação de efeito tóxico agudo a organismos, de acordo com os critérios estabelecidos pelo órgão ambiental competente, ou, na sua ausência, por instituições nacionais ou internacionais renomadas, comprovado pela realização de ensaio ecotoxicológico padronizado ou outro método cientificamente reconhecido;
- b) materiais flutuantes, inclusive espumas não naturais: virtualmente ausentes;
- c) óleos e graxas: virtualmente ausentes;
- d) substâncias que comuniquem gosto ou odor: virtualmente ausentes;
- e) não será permitida a presença de corantes provenientes de fontes antrópicas que não sejam removíveis por processo de coagulação, sedimentação e filtração convencionais; f) resíduos sólidos objetáveis: virtualmente ausentes;
- g) coliformes termotolerantes: para o uso de recreação de contato secundário não deverá ser excedido um limite de 2500 coliformes termotolerantes por 100 mililitros em 80% ou mais de pelo menos 6 amostras, coletadas durante o período de um ano, com frequência bimestral. Para dessedentação de animais criados confinados não deverá ser excedido o limite de 1000 coliformes termotolerantes por 100 mililitros em 80% ou mais de pelo menos 6 amostras, coletadas durante o período de um ano, com frequência bimestral. Para os demais usos, não deverá ser excedido um limite de 4000 coliformes termotolerantes por 100 mililitros em 80% ou mais de pelo menos 6 amostras coletadas durante o período de um ano, com periodicidade bimestral. A *E. Coli* poderá ser determinada em substituição ao parâmetro coliformes termotolerantes de acordo com limites estabelecidos pelo órgão ambiental competente;
- h) cianobactérias para dessedentação de animais: os valores de densidade de cianobactérias não deverão exceder 50.000 cel/ml, ou 5mm<sup>3</sup>/L;
- i) DBO 5 dias a 20°C até 10 mg/L O<sub>2</sub>;
- j) OD, em qualquer amostra, não inferior a 4 mg/L O<sub>2</sub>;
- l) turbidez até 100 UNT;
- m) cor verdadeira: até 75 mg Pt/L; e,
- n) pH: 6,0 a 9,0.

II - Padrões de qualidade de água:

Art. 17. As águas doces de classe 4 observarão as seguintes condições e padrões:

I - materiais flutuantes, inclusive espumas não naturais: virtualmente ausentes; II - odor e aspecto: não objetáveis;

III - óleos e graxas: toleram-se iridescências;

IV - substâncias facilmente sedimentáveis que contribuam para o assoreamento de canais de navegação: virtualmente ausentes;

V - fenóis totais (substâncias que reagem com 4 - aminoantipirina) até 1,0 mg/L de C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>OH;

VI - OD, superior a 2,0 mg/L O<sub>2</sub> em qualquer amostra; e, VII - pH: 6,0 a 9,0.

### **Seção III Das Águas Salinas**

Art. 18. As águas salinas de classe 1 observarão as seguintes condições e padrões:

I - condições de qualidade de água:

- a) não verificação de efeito tóxico crônico a organismos, de acordo com os critérios estabelecidos pelo órgão ambiental competente, ou, na sua ausência, por instituições nacionais ou internacionais renomadas, comprovado pela realização de ensaio ecotoxicológico padronizado ou outro método cientificamente reconhecido;
- b) materiais flutuantes virtualmente ausentes;
- c) óleos e graxas: virtualmente ausentes;
- d) substâncias que produzem odor e turbidez: virtualmente ausentes;
- e) corantes provenientes de fontes antrópicas: virtualmente ausentes;
- f) resíduos sólidos objetáveis: virtualmente ausentes;
- g) coliformes termotolerantes: para o uso de recreação de contato primário deverá ser obedecida a Resolução CONAMA nº 274, de 2000. Para o cultivo de moluscos bivalves destinados à alimentação humana, a média geométrica da densidade de coliformes termotolerantes, de um mínimo de 15 amostras coletadas no mesmo local, não deverá exceder 43 por 100 mililitros, e o percentil 90% não deverá ultrapassar 88 coliformes termotolerantes por 100 mililitros. Esses índices deverão ser mantidos em monitoramento anual com um mínimo de 5 amostras. Para os demais usos não deverá ser excedido um limite de 1.000 coliformes termotolerantes por 100 mililitros em 80% ou mais de pelo menos 6 amostras coletadas durante o período de um ano, com periodicidade bimestral. A *E. Coli* poderá ser determinada em substituição ao parâmetro coliformes termotolerantes de acordo com limites estabelecidos pelo órgão ambiental competente;
- h) carbono orgânico total até 3 mg/L, como C;
- i) OD, em qualquer amostra, não inferior a 6 mg/L O<sub>2</sub>; e
- j) pH: 6,5 a 8,5, não devendo haver uma mudança do pH natural maior do que 0,2 unidade.

II - Padrões de qualidade de água:

III - Nas águas salinas onde ocorrer pesca ou cultivo de organismos, para fins de consumo intensivo, além dos padrões estabelecidos no inciso II deste artigo, aplicam-se os seguintes padrões em substituição ou adicionalmente:

Art 19. Aplicam-se às águas salinas de classe 2 as condições e padrões de qualidade da classe 1, previstos no artigo anterior, à exceção dos seguintes:

I - condições de qualidade de água:

- a) não verificação de efeito tóxico agudo a organismos, de acordo com os critérios estabelecidos pelo órgão ambiental competente, ou, na sua ausência, por instituições nacionais ou internacionais renomadas, comprovado pela realização de ensaio ecotoxicológico padronizado ou outro método cientificamente reconhecido;

b) coliformes termotolerantes: não deverá ser excedido um limite de 2500 por 100 mililitros em 80% ou mais de pelo menos 6 amostras coletadas durante o período de um ano, com frequência bimestral. A *E. Coli* poderá ser determinada em substituição ao parâmetro coliformes termotolerantes de acordo com limites estabelecidos pelo órgão ambiental competente; c) carbono orgânico total: até 5,00 mg/L, como C; e d) OD, em qualquer amostra, não inferior a 5,0 mg/L O<sub>2</sub>.

II - Padrões de qualidade de água:

Art. 20. As águas salinas de classe 3 observarão as seguintes condições e padrões:

- I - materiais flutuantes, inclusive espumas não naturais: virtualmente ausentes;
- II - óleos e graxas: toleram-se iridescências;
- III - substâncias que produzem odor e turbidez: virtualmente ausentes;
- IV - corantes provenientes de fontes antrópicas: virtualmente ausentes;
- V - resíduos sólidos objetáveis: virtualmente ausentes;
- VI - coliformes termotolerantes: não deverá ser excedido um limite de 4.000 coliformes termotolerantes por 100 mililitros em 80% ou mais de pelo menos 6 amostras coletadas durante o período de um ano, com frequência bimestral. A *E. Coli* poderá ser determinada em substituição ao parâmetro coliformes termotolerantes de acordo com limites estabelecidos pelo órgão ambiental competente;
- VII - carbono orgânico total: até 10 mg/L, como C;
- VIII - OD, em qualquer amostra, não inferior a 4 mg/ L O<sub>2</sub>; e
- IX - pH: 6,5 a 8,5 não devendo haver uma mudança do pH natural maior do que 0,2 unidades.

#### **Seção IV Das Águas Salobras**

Art. 21. As águas salobras de classe 1 observarão as seguintes condições e padrões:

I - condições de qualidade de água:

- a) não verificação de efeito tóxico crônico a organismos, de acordo com os critérios estabelecidos pelo órgão ambiental competente, ou, na sua ausência, por instituições nacionais ou internacionais renomadas, comprovado pela realização de ensaio ecotoxicológico padronizado ou outro método cientificamente reconhecido;
- b) carbono orgânico total: até 3 mg/L, como C;
- c) OD, em qualquer amostra, não inferior a 5 mg/ L O<sub>2</sub>;
- d) pH: 6,5 a 8,5;
- e) óleos e graxas: virtualmente ausentes;
- f) materiais flutuantes: virtualmente ausentes;
- g) substâncias que produzem cor, odor e turbidez: virtualmente ausentes;
- h) resíduos sólidos objetáveis: virtualmente ausentes; e

i) coliformes termotolerantes: para o uso de recreação de contato primário deverá ser obedecida a Resolução CONAMA nº 274, de 2000. Para o cultivo de moluscos bivalves destinados à alimentação humana, a média geométrica da densidade de coliformes termotolerantes, de um mínimo de 15 amostras coletadas no mesmo local, não deverá exceder 43 por 100 mililitros, e o percentil 90% não deverá ultrapassar 88 coliformes termotolerantes por 100 mililitros. Esses índices deverão ser mantidos em monitoramento anual com um mínimo de 5 amostras. Para a irrigação de hortaliças que são consumidas cruas e de frutas que se desenvolvam rentes ao solo e que sejam ingeridas cruas sem remoção de película, bem como para a irrigação de parques, jardins, campos de esporte e lazer, com os quais o público possa vir a ter contato direto, não deverá ser excedido o valor de 200 coliformes termotolerantes por 100mL. Para os demais usos não deverá ser excedido um limite de 1.000 coliformes termotolerantes por 100 mililitros em 80% ou mais de pelo menos 6 amostras coletadas durante o período de um ano, com frequência bimestral. A *E. coli* poderá ser determinada em substituição ao parâmetro coliformes termotolerantes de acordo com limites estabelecidos pelo órgão ambiental competente.

II - Padrões de qualidade de água:

III - Nas águas salobras onde ocorrer pesca ou cultivo de organismos, para fins de consumo intensivo, além dos padrões estabelecidos no inciso II deste artigo, aplicam-se os seguintes padrões em substituição ou adicionalmente:

Art. 22. Aplicam-se às águas salobras de classe 2 as condições e padrões de qualidade da classe 1, previstos no artigo anterior, à exceção dos seguintes:

I - condições de qualidade de água:

- a) não verificação de efeito tóxico agudo a organismos, de acordo com os critérios estabelecidos pelo órgão ambiental competente, ou, na sua ausência, por instituições nacionais ou internacionais renomadas, comprovado pela realização de ensaio ecotoxicológico padronizado ou outro método cientificamente reconhecido;
- b) carbono orgânico total: até 5,00 mg/L, como C;
- c) OD, em qualquer amostra, não inferior a 4 mg/L O<sub>2</sub>; e
- d) coliformes termotolerantes: não deverá ser excedido um limite de 2500 por 100 mililitros em 80% ou mais de pelo menos 6 amostras coletadas durante o período de um ano, com frequência bimestral. A *E. coli* poderá ser determinada em substituição ao parâmetro coliformes termotolerantes de acordo com limites estabelecidos pelo órgão ambiental competente.

II - Padrões de qualidade de água:

Art. 23. As águas salobras de classe 3 observarão as seguintes condições e padrões:

- I - pH: 5 a 9;
- II - OD, em qualquer amostra, não inferior a 3 mg/L O<sub>2</sub>;
- III - óleos e graxas: toleram-se iridescências;
- IV - materiais flutuantes: virtualmente ausentes;

- V - substâncias que produzem cor, odor e turbidez: virtualmente ausentes;
- VI - substâncias facilmente sedimentáveis que contribuam para o assoreamento de canais de navegação: virtualmente ausentes;
- VII - coliformes termotolerantes: não deverá ser excedido um limite de 4.000 coliformes termotolerantes por 100 mL em 80% ou mais de pelo menos 6 amostras coletadas durante o período de um ano, com frequência bimestral. A *E. Coli* poderá ser determinada em substituição ao parâmetro coliformes termotolerantes de acordo com limites estabelecidos pelo órgão ambiental competente; e
- VIII - carbono orgânico total até 10,0 mg/L, como C.

#### CAPÍTULO IV

#### DAS CONDIÇÕES E PADRÕES DE LANÇAMENTO DE EFLUENTES

(Revogado pela Resolução 430/2011)

#### CAPÍTULO V

#### DIRETRIZES AMBIENTAIS PARA O ENQUADRAMENTO

Art. 38. O enquadramento dos corpos de água dar-se-á de acordo com as normas e procedimentos definidos pelo Conselho Nacional de Recursos Hídricos-CNRH e Conselhos Estaduais de Recursos Hídricos.

§ 1º O enquadramento do corpo hídrico será definido pelos usos preponderantes mais restritivos da água, atuais ou pretendidos.

§ 2º Nas bacias hidrográficas em que a condição de qualidade dos corpos de água esteja em desacordo com os usos preponderantes pretendidos, deverão ser estabelecidas metas obrigatórias, intermediárias e final, de melhoria da qualidade da água para efetivação dos respectivos enquadramentos, excetuados nos parâmetros que excedam aos limites devido às condições naturais.

§ 3º As ações de gestão referentes ao uso dos recursos hídricos, tais como a outorga e cobrança pelo uso da água, ou referentes à gestão ambiental, como o licenciamento, termos de ajustamento de conduta e o controle da poluição, deverão basear-se nas

metas progressivas intermediárias e final aprovadas pelo órgão competente para a respectiva bacia hidrográfica ou corpo hídrico específico.

§ 4º As metas progressivas obrigatórias, intermediárias e final, deverão ser atingidas em regime de vazão de referência, excetuados os casos de baías de águas salinas ou salobras, ou outros corpos hídricos onde não seja aplicável a vazão de referência, para os quais deverão ser elaborados estudos específicos sobre a dispersão e assimilação de poluentes no meio hídrico.

§ 5º Em corpos de água intermitentes ou com regime de vazão que apresente diferença sazonal significativa, as metas progressivas obrigatórias poderão variar ao longo do ano.

§ 6º Em corpos de água utilizados por populações para seu abastecimento, o enquadramento e o licenciamento ambiental de atividades a montante preservarão, obrigatoriamente, as condições de consumo.

## CAPÍTULO VI

### DISPOSIÇÕES FINAIS E TRANSITÓRIAS

*-(Revogado pela Resolução 430/2011)*

Art. 40. No caso de abastecimento para consumo humano, sem prejuízo do disposto nesta Resolução, deverão ser observadas, as normas específicas sobre qualidade da água e padrões de potabilidade.

Art. 41. Os métodos de coleta e de análises de águas são os especificados em normas técnicas cientificamente reconhecidas.

Art. 42. Enquanto não aprovados os respectivos enquadramentos, as águas doces serão consideradas classe 2, as salinas e salobras classe 1, exceto se as condições de qualidade atuais forem melhores, o que determinará a aplicação da classe mais rigorosa correspondente.

*(Revogado pela Resolução 430/2011)*

*(Revogado pela Resolução 430/2011)*

Art. 45. O não cumprimento ao disposto nesta Resolução acarretará aos infratores as sanções previstas pela legislação vigente.

§ 1º Os órgãos ambientais e gestores de recursos hídricos, no âmbito de suas respectivas competências, fiscalizarão o cumprimento desta Resolução, bem como quando pertinente, a aplicação das penalidades administrativas previstas nas legislações específicas, sem prejuízo do sancionamento penal e da responsabilidade civil objetiva do poluidor.

§ 2º As exigências e deveres previstos nesta Resolução caracterizam obrigação de relevante interesse ambiental.

Art. 47. Equiparam-se a perito, os responsáveis técnicos que elaborem estudos e pareceres apresentados aos órgãos ambientais.

Art. 48. O não cumprimento ao disposto nesta Resolução sujeitará os infratores, entre outras, às sanções previstas na Lei nº 9.605, de 12 de fevereiro de 1998 e respectiva regulamentação.

Art. 49. Esta Resolução entra em vigor na data de sua publicação.

Art. 50. Revoga-se a Resolução CONAMA nº 020, de 18 de junho de 1986.

**MARINA SILVA**  
**Presidente do CONAMA**

*Este texto não substitui o publicado no DOU de 18/03/2005*