



QF-COLI

ANÁLISE VISUAL DE COLIFORMES TOTAIS E ESCHERICHIA COLI EM ÁGUA



quimaflex.com.br

(16) 3461-1691



Benefícios

- ✓ Por ser em pó, oferece uma estabilidade superior aos métodos tradicionais em caldo ou ágar;
- ✓ Resultados obtidos em apenas 24 horas;
- ✓ Detecta no mesmo teste Coliformes totais e Escherichia coli;
- ✓ Sensibilidade de 1 UFC / 100 mL;
- ✓ Inibe microrganismos não alvo, tais como: Aeromonas, Enterococcus e Pseudomonas;
- ✓ As análises podem ser realizadas em Tubos ou no sistema Quanti-Tray / 2000¹.

Método ONPG

O reagente ONPG é metabolizado quando em contato com os coliformes, devido a presença da enzima β -galactosidase, resultando em uma coloração amarela.



Método MUG

O reagente MUG é metabolizado quando em contato com a E. coli, devido a presença da enzima β -glucuronidase, resultando em uma fluorescência ao ser exposto a luz UV 366nm.



Presença ou Ausência

O QF-coli deve ser despejado em 100 mL de amostra e a mistura deve ser agitada suavemente até ficar homogênea. Então deve-se incubar em uma estufa a 35°C por um período entre 18h e 24h.



Quantitativo

O QF-coli deve ser despejado em 100 mL de amostra e a mistura deve ser agitada suavemente até ficar homogênea. Em seguida a amostra deve ser despejada no Quanti-Tray / 2000¹. Então a placa deve ser selada e incubada em uma estufa a 35°C por um período entre 18h e 24h. Os resultados devem ser lidos conforme tabela apropriada.





CERTIFICADO DE ANÁLISE

N° do certificado de análise: 179/2021
Produto: QF-COLI (SUBSTRATO CROMOGENICO ONPG/MUG)
Lote: 210618032/2021
Fabricação: 22/06/2021
Validade: 22/06/2022

Informações.

Esta solução foi preparada pela dissolução de onpg/mug.
 Reagente utilizado para contagem e ausência e presença de coliformes.
 O preparo foi realizado conforme Standard methods For The Examination of Water and Wastewater 23ª edition 9223B.
 Armazenar em temperatura ambiente (4°C a 30°C).
 Matrizes a ser utilizada: Água Potável, Água Subterrânea, Efluente. Água Salobra, Água Salgada.

Rastreabilidade.

Os equipamentos que foram utilizadas para a fabricação do reagente, foram calibradas por laboratório da Rede Brasileira de Calibração (RBC) e os reagentes utilizado para realizar o teste são reagente (MRC)

RESULTADO DO ENSAIO

DESCRIÇÃO	ACEITÇÃO	RESULTADO
Solubilidade	Solúvel em água	Conforme
Aparência	Pó Granulado Amarelado	Conforme
pH	7,0 a 7,6	Conforme
E.coli ATCC 25922	Presente	Conforme
K.Pneumoniae ATCC 13883	Presente	Conforme
P. Aeruginosa ATCC 27853	Ausente	Conforme
E. Faecalis ATCC 29212	Presente	Conforme

EQUIPAMENTOS E PADRÕES

DESCRIÇÃO	LOTE / IDENTIFICAÇÃO	VALIDADE
E.coli ATCC 25922	335-507	28/02/2022
K.Pneumoniae ATCC 13883	351-70	30/06/2022
P. Aeruginosa ATCC 27853	353-445	30/04/2022
E. Faecalis ATCC 29212	366-367	31/07/2021

E.coli / K..Pneumoniae e E. faecalis Teve um resultado de 95% do limite de confiança do Quanti-Tray MPN 20.000UFC/100ml.

Certificado aprovado por:

Signatário Autorizado:


 Sidinei Tacão Junior
 CRQ: 04486061
 Responsável Técnico

Este certificado restringe-se apenas ao lote referenciado.

Página 1/1





RELATÓRIO TÉCNICO

Assunto: Desempenho de frascos de coleta microbiológica com tiosulfato produzidos pela Quimaflex.

Local dos Testes: Laboratório São Geraldo – Rua José Fernandes Braz, 60 A, Centro, CEP: 16290-000, Braúna-SP.

1. OBJETIVO

Comparar e validar o desempenho dos frascos frente à determinação de presença ou ausência de Coliformes totais e *Escherichia coli* em amostras de água e também testar o tiosulfato como inibidor de cloro residual livre nas amostras quando comparado com outros frascos disponíveis comercialmente que também atendem aos critérios estabelecidos na 23ª Edição do *Standard Methods for the Examination of Water and Wasterwater*.

2. DOCUMENTOS DE REFERÊNCIA

- Standard Methods for the Examination of Water and Wasterwater – Ed. 23th 2017

3. METODOLOGIA

3.1. Equipamentos, Materiais e Reagentes:

- Estufa ($35 \pm 0,5$) °C
- Frasco estéril, transparente e não fluorescente
- Cabine de Segurança Biológica
- Mesa Agitadora Q225M
- Frasco estéril e Substrato Enzimático QF-Coli – QUIMAFLEX – código fornecedor 4850
- DPD – QUIMAFLEX – código fornecedor 2648
- Água Estéril
- Camara Escura Com Transluminador UV
- Comparador colorimétrico
- Álcool 70%
- Papel Toalha

3.2. Limpeza prévia e Descontaminação de Superfícies

- 3.2.1. Desinfetar todas as superfícies de bancadas e capelas com ácido peracético 0,2%.
- 3.2.2. No caso de contaminação com material de cultura (derramamento, quebra de frascos), usar ácido peracético 0,2%.
- 3.2.3. Na capela de fluxo laminar deixar a luz UV ligada no mínimo 15 minutos antes de iniciar o trabalho e após o término.

3.3. Amostras utilizadas

- 3.3.1. Foram utilizadas amostras de matriz água coletadas em cliente.
- 3.3.2. Foram coletados 5 pontos de água tratada de reservatórios e 5 pontos de água tratada de redes de distribuição, com as seguintes nomenclaturas:
S1, S2, S3, S4, S5, R1, R2, R3, R4 e R5.
- 3.3.3. Foram utilizados 10 flaconetes de meio de cultura testado.
- 3.3.4. Foram utilizados 10 sachês de DPD testado.



3.4. Resultados

- 3.4.1. Foram utilizadas amostras de água tratada.
- 3.4.2. Os testes microbiológicos foram realizados no dia 02/02/2022, utilizando meio de cultura QF-Coli do fornecedor QUIMAFLEX.
- 3.4.3. Os testes de inibição do cloro foram realizados utilizando DPD do fornecedor QUIMAFLEX.
- 3.4.4. Os quadros a seguir mostram os resultados obtidos por meio da utilização de água estéril + substrato enzimático e também de análise de cloro residual livre após a coleta.

SUBSTRATO ENZIMÁTICO – QF-Coli – QUIMAFLEX			
Alvo	Branco da Amostra	Água Estéril + Substrato Enzimático	Análise de Cloro Residual Livre
Resultado Esperado	Negativo – Sem Crescimento	Não Amarelar e Não Fluorescer	Resultado menor que o L.Q. do método
S1	SATISFATÓRIO	SATISFATÓRIO	<L.Q.
S2	SATISFATÓRIO	SATISFATÓRIO	<L.Q.
S3	SATISFATÓRIO	SATISFATÓRIO	<L.Q.
S4	SATISFATÓRIO	SATISFATÓRIO	<L.Q.
S5	SATISFATÓRIO	SATISFATÓRIO	<L.Q.
R1	SATISFATÓRIO	SATISFATÓRIO	<L.Q.
R2	SATISFATÓRIO	SATISFATÓRIO	<L.Q.
R3	SATISFATÓRIO	SATISFATÓRIO	<L.Q.
R4	SATISFATÓRIO	SATISFATÓRIO	<L.Q.
R5	SATISFATÓRIO	SATISFATÓRIO	<L.Q.

4. Comentários e Conclusões

- 4.1.1. Os ensaios e as amostragens foram realizados pelo Laboratório São Geraldo, com procedimento acreditado pela CGCRE com base nos critérios estabelecidos pela *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* 23ª Edição, metodologia 9223 B – Teste Substrato Enzimático.
- 4.1.2. As atividades de ensaios foram realizadas por pessoal habilitado, de forma imparcial, isenta, confidencial e sem qualquer pressão comercial ou administrativa.
- 4.1.3. A conclusão dos resultados teve como referência as amostras sendo testadas com os dois substratos de diferentes fabricantes
- 4.1.4. A conclusão dos resultados teve como referência 40 amostras (10 amostras analisadas com 4 padrões de contaminação), sendo eles:

- Controle da amostra = (Amostra apenas)



- Amostra Contaminada = (Amostra + *Escherichia coli* + Interferente)
- Amostra Contaminada = (Amostra + *Klebsiella aerogenes* + Interferente)
- Amostra Contaminada = (Amostra + *Pseudomonas aeruginosa*)

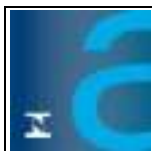
4.1.5. O meio fornecido pela QUIMAFLEX foi o QF-Coli – lote 200722051.

4.1.6. O meio fornecido pela IDEXX foi o Colilert – lote FS608.

4.1.7. Com base nos resultados obtidos, pode-se concluir que os dois meios avaliados se mostraram equivalentes e validados para a aplicação no ensaio definido na metodologia 9223 B do Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater – 23ª edição – 2017.

Braúna, 14 de junho de 2021.


Salissa Perosa Caldeira Diaris
Biomédica Responsável Técnica
CRBM 28604
Gerente da Qualidade – Laboratório São Geraldo



ESCOPO DA ACREDITAÇÃO – ABNT NBR ISO/IEC 17025 – ENSAIO



Norma de Origem: NIT-DICLA-016	Folha: 1	Total de Folhas: 3
--------------------------------	----------	--------------------

RAZÃO SOCIAL/DESIGNAÇÃO DO LABORATÓRIO

LABORATORIO SAO GERALDO EIRELI / LABORATÓRIO SÃO GERALDO - TECNOLOGIAS AMBIENTAIS

ACREDITAÇÃO Nº TIPO DE INSTALAÇÃO

CRL 1563

INSTALAÇÃO PERMANENTE

ÁREA DE ATIVIDADE / PRODUTO CLASSE DE ENSAIO / DESCRIÇÃO DO ENSAIO NORMA E /OU PROCEDIMENTO

MEIO AMBIENTE **ENSAIOS QUÍMICOS**

ÁGUA PARA CONSUMO HUMANO, ÁGUA TRATADA, ÁGUA BRUTA, ÁGUA RESIDUAL	Determinação da cor aparente pelo método da comparação visual LQ: 2,5 (CU ou uH)	Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (SMWW), 23ª Edição – Seção 2120 B
	Determinação da turbidez pelo método nefelométrico LQ: 1 NTU	SMWW, 23ª Edição – Seção 2130 B
	Determinação de pH pelo método eletrométrico Faixa: 2 a 12	PE.020
ÁGUA PARA CONSUMO HUMANO, ÁGUA TRATADA, ÁGUA BRUTA	Determinação de fluoreto pelo método colorimétrico LQ: 0,13 mg/L	SMWW, 23ª Edição – Seção 4500 – F- D
ÁGUA PARA CONSUMO HUMANO, ÁGUA TRATADA	Determinação de Cloro Residual Livre, Cloro Total e Cloraminas Totais pelo método colorimétrico com N,N dietil-p-fenilenodiamina (DPD) LQ: 0,05 mg/L	HACH 8021 HACH 8167
	Determinação semi-quantitativa de Cloro Residual Livre, Cloro Total e Cloraminas Totais pelo método de comparação visual com N,N dietil-p-fenilenodiamina (DPD) LQ: 0,20 mg/L	HACH 8021 HACH 8167

“Este Escopo cancela e substitui a revisão emitida anteriormente”

Em, 01/07/2022

ESCOPO DA ACREDITAÇÃO – ABNT NBR ISO/IEC 17025 - ENSAIO



Norma de Origem: NIT-DICLA-016

Folha: 2

ACREDITAÇÃO Nº	TIPO DE INSTALAÇÃO	
CRL 1563	INSTALAÇÃO PERMANENTE	
ÁREA DE ATIVIDADE / PRODUTO	CLASSE DE ENSAIO / DESCRIÇÃO DO ENSAIO	NORMA E /OU PROCEDIMENTO
MEIO AMBIENTE	ENSAIOS BIOLÓGICOS	
ÁGUA PARA CONSUMO HUMANO, ÁGUA TRATADA	Coliformes totais e <i>Escherichia coli</i> - Determinação pela técnica de Presença/Ausência (substrato enzimático)	SMWW, 23ª Edição – Seções 9223 A e B
ÁGUA PARA CONSUMO HUMANO, ÁGUA TRATADA, ÁGUA BRUTA	Bactérias heterotróficas - Determinação quantitativa pela técnica de inoculação em superfície LQ: 1 UFC/mL	SMWW, 23ª Edição – Seções 9215 A, B e C

ESCOPO DA ACREDITAÇÃO – ABNT NBR ISO/IEC 17025 - ENSAIO



Norma de Origem: NIT-DICLA-016

Folha: 3

ACREDITAÇÃO Nº	TIPO DE INSTALAÇÃO	
	INSTALAÇÃO DE CLIENTE	
ÁREA DE ATIVIDADE / PRODUTO	CLASSE DE ENSAIO / DESCRIÇÃO DO ENSAIO	NORMA E /OU PROCEDIMENTO
MEIO AMBIENTE	ENSAIOS QUÍMICOS	
ÁGUA PARA CONSUMO HUMANO, ÁGUA TRATADA, ÁGUA BRUTA, ÁGUA RESIDUAL	Determinação de pH pelo método eletrométrico Faixa: 2 a 12	SMWW, 23ª Edição – Seção 4500H+-B
	Determinação de oxigênio dissolvido pelo método com eletrodo de membrana Faixa: 0 a 50 mg/L (0 a 600% saturação)	SMWW, 23ª Edição – Seção 4500 - O G
	Determinação da temperatura Faixa: 1 °C a 50 °C	SMWW, 23ª Edição – Seção 2550
ÁGUA BRUTA, ÁGUA RESIDUAL	Avaliação qualitativa da aparência e substâncias virtualmente ausentes (SVA): turbidez, óleos e graxas, materiais flutuantes, corantes provenientes de fontes antrópicas e resíduos sólidos objetáveis pelo método de observação visual ou percepção	SMWW, 23ª Edição – Seção 2110 PE-016
ÁGUA PARA CONSUMO HUMANO ÁGUA TRATADA	Determinação de Cloro Residual Livre, Cloro Total e Cloraminas Totais pelo método colorimétrico com N,N dietil-p-fenilenodiamina (DPD) LQ: 0,05 mg/L	SMWW, 23ª Edição – Seção 4500-CI G
	Determinação semi-quantitativa de Cloro Residual Livre, Cloro Total e Cloraminas Totais pelo método de comparação visual com N,N dietil-p-fenilenodiamina (DPD) LQ: 0,20 mg/L	SMWW, 23ª Edição – Seção 4500-CI G
MEIO AMBIENTE	AMOSTRAGEM	
ÁGUA BRUTA	Amostragem em rios, lagos e represas	SMWW, 23ª Edição – Seção 1060 e 9060
ÁGUA PARA CONSUMO HUMANO, ÁGUA TRATADA	Amostragem em Estação de Tratamento de Água (ETA), Rede de Distribuição, Sistemas Alternativos de Abastecimento Público ou Particular	SMWW, 23ª Edição – Seção 1060 e 9060
ÁGUA RESIDUAL	Amostragem em Estação de Tratamento de Efluentes (ETE)	SMWW, 23ª Edição – Seção 1060 e 9060
X X X	X X X X X	X X X



Relatório Técnico

Assunto: **DESEMPENHO DO MEIO DE CULTURA PRODUZIDO PELA QUIMAFLEX**

Solicitante: **QUIMAFLEX PRODUTOS QUÍMICOS LTDA** – CNPJ 13.224.500/0001-59, por meio de seu representante Sr. Sidinei Tação, instalada na Av. Luiz Desparati, 264 – 8º Distrito Industrial, Araraquara/SP.

1 OBJETIVO

Comparar e validar o desempenho do meio de cultura QF-Coli frente à determinação de presença ou ausência de Coliformes totais e *Escherichia coli* em amostras de água quando comparado com outros meios comerciais que também atendem aos critérios estabelecidos na Introdução do **método 9223** da 23ª Edição do *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. Trata-se de um substrato cromogênico que tem como base a seguinte composição:

- a) Para identificação de presença ou ausência de **coliformes totais**, são usados meios com substratos cromogênicos orto-nitrofenil β -D-galactopiranosídeo (**ONPG**) e clorofenol vermelho-Dgalactopiranosídeo (**CPRG**), respectivamente, para detectar a enzima β -D-galactosidase, produzida pela bactéria coliforme total. A enzima β -D-galactosidase hidrolisa o substrato cromogênico, que produz uma mudança de cor, indicando a presença dos coliformes totais sem procedimentos adicionais.
- b) Para identificação de *Escherichia coli*, é utilizado meios com substrato fluorogênico 4-metil-umbelliferil-D-glucuronido (**MUG**) detectar a enzima β -D- uclucuronidase, que é produzido pela maioria das cepas de *E. coli*. A enzima β -D-glucuronidase hidrolisa o substrato fluorogênico, que produz fluorescência azulada quando vista sob luz ultravioleta (UV) com comprimento de onda entre 365 e 366 nm. Juntos, a mudança de cor (devido a -D-galactosidase) e a fluorescência (devido a β -D-glucuronidase) indicam que uma amostra contém *E. coli*.

2 METODOLOGIA

2.1 Laboratório utilizado para realização dos ensaios

Os ensaios foram realizados no laboratório acreditado na CGCRE/INMETRO da PROÁGUA AMBIENTAL (CRL 0798).

2.2 Material disponibilizado para desenvolvimento das atividades

Para realização dos testes, a Quimaflex disponibilizou 100 frascos do meio QF-coli, um frasco para comparação de cor e fluorescência e 100 frascos estéreis com tiosulfato de sódio. Esse meio foi comparado com outros dois de origem de fabricantes diferentes e comercialmente disponibilizados no Brasil.

2.3 Avaliação de reação do meio frente a cepas certificadas

Foi realizada a avaliação da seletividade do meio fornecido pela Quimaflex quando submetido à inoculação com cepas puras certificadas com os seguintes organismos selecionados: *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* e *Pseudomonas aeruginosa*.

Para todos os testes, os resultados foram positivos, aprovando o meio para o uso.

2.4 Comparação de resultados entre meios de cultura.

Para comparação entre resultados, foram utilizadas amostras de águas naturais subterrâneas (não artesianas), sujeitas à contaminação por bactérias do grupo coliformes.

Os testes foram realizados no período entre janeiro e março/2020, utilizando três fornecedores de meio de cultura, conforme definido no *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* – 23ª edição – 2017.



O quadro a seguir mostra os resultados obtidos por meio da utilização dos três meios de cultura e amostras analisadas em triplicatas.

		<u>COMPARAÇÃO DE RESULTADOS DE MEIOS DE CULTURA</u>					
Tempo decorrido para a Leituras: 24 horas							
Data da coleta	Tipo de amostra (matriz)	Resultados de P/A por Fornecedor					
		Quimaflex		FABRICANTE 1		FABRICANTE 2	
		Coli totais	<i>E. coli</i>	Coli totais	<i>E. coli</i>	Coli totais	<i>E. coli</i>
20/01/2020	Água subterrânea natural	A	A	A	A	A	A
20/01/2020	Água de reúso	A	A	A	A	A	A
21/01/2020	Água subterrânea natural	P	A	P	A	A	A
21/01/2020	Água subterrânea natural	A	A	A	A	A	A
22/01/2020	Água subterrânea natural	P	P	P	P	P	P
23/01/2020	Água de nascente natural	A	A	A	A	A	A
28/01/2020	Água subterrânea natural	A	A	A	A	A	A
28/01/2020	Água subterrânea natural	A	A	A	A	A	A
28/01/2020	Água subterrânea natural	P	A	P	A	P	A
28/01/2020	Água subterrânea natural	P	A	P	A	P	A
28/01/2020	Água subterrânea natural	A	A	A	A	A	A
28/01/2020	Água subterrânea natural	A	A	A	A	A	A
12/02/2020	Água subterrânea natural	P	A	P	A	P	A
12/02/2020	Água subterrânea natural	A	A	P	A	A	A
12/02/2020	Água subterrânea natural	A	A	A	A	A	A
17/02/2020	Água subterrânea natural	A	A	A	A	A	A
17/02/2020	Água subterrânea natural	A	A	A	A	A	A
17/02/2020	Água subterrânea natural	A	A	A	A	A	A
17/02/2020	Água subterrânea natural	A	A	A	A	A	A
17/02/2020	Água subterrânea natural	A	A	A	A	A	A
18/02/2020	Água subterrânea natural	A	A	A	A	A	A
24/02/2020	Água subterrânea natural	P	A	P	A	P	A
26/02/2020	Água subterrânea natural	P	A	P	A	P	A
26/02/2020	Água subterrânea natural	P	A	P	A	P	A
27/02/2020	Água clorada subterrânea	A	A	A	A	A	A
27/02/2020	Água clorada de nascente	A	A	A	A	A	A
27/02/2020	Água subterrânea natural	A	A	A	A	A	A
02/03/2020	Água de nascente natural	P	P	P	P	P	P
05/03/2020	Água subterrânea natural	A	A	A	A	A	A
09/03/2020	Água de nascente natural	A	A	A	A	A	A
09/03/2020	Água de nascente natural	P	P	P	P	P	P
09/03/2020	Água subterrânea natural	P	A	P	A	A	A
09/03/2020	Água de nascente natural	P	A	P	A	P	A
09/03/2020	Água subterrânea natural	P	A	P	A	P	A
09/03/2020	Água de nascente natural	P	A	P	A	A	A
09/03/2020	Água subterrânea natural	P	A	P	A	P	A
11/03/2020	Água subterrânea natural	A	A	A	A	A	A
12/03/2020	Água subterrânea natural	A	A	A	A	A	A
12/03/2020	Água subterrânea natural	A	A	P	A	A	A
18/03/2020	Água subterrânea natural	P	A	P	A	P	A
18/03/2020	Água subterrânea clorada	A	A	A	A	A	A
18/03/2020	Água subterrânea natural	A	A	A	A	A	A
26/03/2020	Água subterrânea natural	P	A	P	A	P	A
30/03/2020	Água de nascente natural	A	A	A	A	A	A
30/03/2020	Água de nascente natural	A	A	A	A	A	A
30/03/2020	Água de nascente natural	A	A	A	A	A	A

Observação: Resultados em **vermelho** foram considerados falsos em relação à conclusão dos demais fabricantes



3 COMENTÁRIOS E CONCLUSÕES

- a) É importante enfatizar que o *Standard Methods* não define ou recomenda marcas de meios de cultura para serem utilizados na metodologia 9223 B, apenas fazendo citação aos meios *Colilert* e *Colisure* como disponíveis no mercado. Ou seja, os meios devem atender às especificações já descritas no item 1 a) e 1 b) deste relatório.
- b) Os ensaios e as amostragens foram realizados pelo Laboratório da Proágua Ambiental, com procedimento acreditado pela CGCRE/INMETRO com base nos critérios estabelecidos no *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* 23ª edição metodologia 9223 B – Teste Substrato Enzimático.
- c) As atividades de ensaios foram realizadas por pessoal habilitado, de forma imparcial, isenta, confidencial e sem qualquer pressão comercial ou administrativa.
- d) A conclusão dos resultados teve como referência 138 ensaios (46 trélicas), utilizando três meios de diferentes fabricantes.
- e) O meio fornecido pela Quimaflex foi o QF-coli - lote 91011032. Por questões éticas e de confidencialidade, os outros meios não foram identificados.
- f) Com base nos resultados obtidos, **pode-se concluir que os três meios avaliados se mostraram equivalentes e validados para a aplicação no ensaio definido na metodologia 9223 B do *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* – 23ª edição – 2017.**

Franca, 03 de abril de 2020.

Orlando Antunes Cintra Filho
Engenheiro Químico, Civil e Sanitarista - CREA nº 260337786-8
Doutor em Saneamento e Ambiente
Diretor da PROÁGUA Ambiental Ltda.



ESCOPO DA ACREDITAÇÃO – ABNT NBR ISO/IEC 17025-ENSAIO



Norma de Origem: NIT-DICLA-016

Folha: 1

Total de Folhas: 5

RAZÃO SOCIAL/DESIGNAÇÃO DO LABORATÓRIO

PROAGUA AMBIENTAL LTDA - EPP / PROÁGUA

ACREDITAÇÃO Nº	TIPO DE INSTALAÇÃO	
CRL 0798	INSTALAÇÃO PERMANENTE	
ÁREA DE ATIVIDADE / PRODUTO	CLASSE DE ENSAIO / DESCRIÇÃO DO ENSAIO	NORMA E /OU PROCEDIMENTO
MEIO AMBIENTE	ENSAIOS QUÍMICOS	
ÁGUAS PARA CONSUMO HUMANO	Determinação do grau e perfil do sabor	SMEWW, 23ª edição, Método 2160 B e 2170 B
	Determinação do limiar do odor	SMEWW, 23ª edição, Método 2150 B
ÁGUAS BRUTA, TRATADA, RESIDUÁRIA E PARA CONSUMO HUMANO	Determinação da aparência pelo método visual	SMEWW, 23ª edição, Método 2110
	Determinação da alcalinidade pelo método titulométrico	SMEWW, 23ª Edição, Método 2320 B
	Determinação de alumínio pelo método colorimétrico com Eriocromo Cianina R. LQ: 0,05 mgAl/L	SMEWW, 23ª Edição, Método 3500-Al
	Determinação de cálcio por titulometria com EDTA LQ: 10 mg/L	SMEWW, 23ª Edição, Método 3500 Ca
	Determinação de cloreto pelo método argentométrico LQ: 1,0 mg/L	SMEWW, 23ª Edição, Método 4500 Cl ⁻
	Determinação da condutividade eletrolítica	SMEWW, 23ª Edição, Método 2510B
	Determinação da cor aparente e verdadeira pelo método espectrofotométrico triestímulo LQ: 2,0 UC	SMEWW, 23ª Edição, Método 2120 E
	Determinação de cromo hexavalente pelo método colorimétrico LQ: 0,05 mg/L	SMEWW, 23ª Edição, Método 3500 Cr B

“Este Escopo cancela e substitui a revisão emitida anteriormente”

Data, 21/05/2019

ESCOPO DA ACREDITAÇÃO – ABNT NBR ISO/IEC 17025 - ENSAIO



Norma de Origem: NIT-DICLA-016

Folha: 2

ACREDITAÇÃO Nº	TIPO DE INSTALAÇÃO	
CRL 0798	INSTALAÇÃO PERMANENTE	
ÁREA DE ATIVIDADE / PRODUTO	CLASSE DE ENSAIO / DESCRIÇÃO DO ENSAIO	NORMA E /OU PROCEDIMENTO
MEIO AMBIENTE	ENSAIOS QUÍMICOS	
ÁGUAS BRUTA, TRATADA, RESIDUÁRIA E PARA CONSUMO HUMANO (Continuação)	Determinação da demanda bioquímica de oxigênio pelo método respirométrico LQ: 3 mg/L	SMEWW, 23ª Edição, Método 5210 D
	Determinação da demanda química de oxigênio pelo método do refluxo fechado seguido de espectrofotometria LQ: 10 mg/L	SMEWW, 23ª Edição, Método 5520 D
	Determinação da dureza pelo método titulométrico EDTA LQ: 10 mgCaCO ₃ /L	SMEWW, 23ª Edição, Método 2340 C
	Determinação de ferro pelo método colorimétrico com fenantrolina LQ: 0,08 mgFe/L	SMEWW, 23ª Edição, Método 3500 Fe
	Determinação de fluoreto pelo método do eletrodo íon-seletivo LQ: 0,10 mgF ⁻ /L	SMEWW, 23ª Edição, Método 4500F ⁻ C
	Determinação de fluoreto pelo método colorimétrico (SPADNS) LQ: 0,20 mgF ⁻ /L	SMEWW, 23ª Edição, Método 4500F ⁻ D
	Determinação de fósforo pelo método colorimétrico com ácido ascórbico LQ: 0,10 mgP/L	SMEWW, 23ª Edição, Método 4500 P E
	Determinação de magnésio pelo método matemático (diferença entre a dureza total e a concentração de Ca como CaCO ₃)	SMEWW, 23ª Edição, Método 3500 Mg
	Determinação de manganês pelo método colorimétrico com persulfato LQ: 0,08 mgMn/L	SMEWW, 23ª Edição, Método 3500 Mn
	Determinação de nitrato pelo método do eletrodo nitrato-seletivo LQ: 1,0 mg NO ₃ ⁻ -N/L	SMEWW, 23ª Edição, Método 4500NO ₃ ⁻ D
	Determinação de nitrito pela método colorimétrico LQ: 0,05 mg NO ₂ ⁻ -N/L	SMEWW, 23ª Edição, Método 4500-NO ₂ ⁻ B
	Determinação de nitrogênio amoniacal (amônia) pelo método colorimétrico com fenato LQ: 0,05 mg NH ₃ -N/L	SMEWW, 23ª Edição, Método 4500 NH ₃ F

ESCOPO DA ACREDITAÇÃO – ABNT NBR ISO/IEC 17025 - ENSAIO



Norma de Origem: NIT-DICLA-016

Folha: 3

ACREDITAÇÃO Nº	TIPO DE INSTALAÇÃO	
CRL 0798	INSTALAÇÃO PERMANENTE	
ÁREA DE ATIVIDADE / PRODUTO	CLASSE DE ENSAIO / DESCRIÇÃO DO ENSAIO	NORMA E /OU PROCEDIMENTO
MEIO AMBIENTE	ENSAIOS QUÍMICOS	
ÁGUAS BRUTA, TRATADA, RESIDUÁRIA E PARA CONSUMO HUMANO (Continuação)	Determinação de nitrogênio Kjeldahl pelo método macro e semi micro LQ: 0,20 mg-N/L	ABNT – NBR 13796/1997
	Determinação de nitrogênio orgânico LQ: 0,15 mg-N/L	ABNT – NBR 13796/1997
	Determinação de nitrogênio total LQ: 0,25 mg-N/L	ABNT – NBR 13796/1997
	Determinação de óleos e graxas pelo método de extração Soxhlet LQ: 10 mg/L	SMEWW, 23ª Edição, Método 5520 D
	Determinação de óleos vegetais e gorduras animais LQ: 10 mg/L	SMEWW, 23ª Edição, método 5520 D e F
	Determinação de óleos minerais (hidrocarbonetos) pelo método gravimétrico com sílica gel LQ: 10 mg/L	SMEWW, 23ª Edição, método 5520 D e F
	Determinação de oxigênio consumido pelo método do permanganato de potássio LQ: 1,4 mg O ₂ /L	ABNT NBR 10.739/1989
	Determinação de oxigênio dissolvido pelo método com modificação com azida LQ: 0,2 mg O ₂ /L	SMEWW, 23ª Edição, Método 4500 O C
	Determinação da salinidade pelo método da condutividade eletrolítica	SMEWW, 23ª edição, Método 2520 B
	Determinação de sílica pelo método colorimétrico com molibdosilicato LQ: 0,40 mg/L	SMEWW, 23ª edição, Método 4500 SiO ₂ C
	Determinação de sólidos fixos e voláteis por ignição a 550°C LQ: 14 mg/L	SMEWW, 23ª Edição, Método 2540 E
	Determinação de sólidos totais dissolvidos por secagem a 180°C LQ: 20 mg/L	SMEWW, 23ª Edição, Método 2540 C
	Determinação de sólidos sedimentáveis LQ: 0,2 mL/L	SMEWW, 23ª Edição, Método 2540F
	Determinação de sólidos suspensos totais por secagem a 103-105°C LQ: 20 mg/L	SMEWW, 23ª Edição, Método 2540 D

ESCOPO DA ACREDITAÇÃO – ABNT NBR ISO/IEC 17025 - ENSAIO



Norma de Origem: NIT-DICLA-016

Folha: 4

ACREDITAÇÃO Nº	TIPO DE INSTALAÇÃO	
CRL 0798	INSTALAÇÃO PERMANENTE	
ÁREA DE ATIVIDADE / PRODUTO	CLASSE DE ENSAIO / DESCRIÇÃO DO ENSAIO	NORMA E /OU PROCEDIMENTO
<u>MEIO AMBIENTE</u>	<u>ENSAIOS QUÍMICOS</u>	
ÁGUAS BRUTA, TRATADA, RESIDUÁRIA E PARA CONSUMO HUMANO (Continuação)	Determinação de sólidos suspensos totais por secagem a 103-105°C LQ: 20 mg/L	SMEWW, 23ª Edição, Método 2540 D
	Determinação de sólidos totais por secagem a 103-105°C LQ: 34 mg/L	SMEWW, 23ª Edição, Método 2540 B
	Determinação de sulfato pelo método turbidimétrico LQ: 5 mg/L	SMEWW, 23ª Edição, Método 4500-SO ₄ ²⁻ E
	Determinação de surfactantes aniônicos pelo método colorimétrico para substâncias ativas ao azul de metileno (MBAS) LQ: 0,20 mgLAS/L	SMEWW, 23ª Edição, Método 5540 C
	Determinação de sulfeto pelo método colorimétrico com azul de metileno LQ: 0,05 mg/L	SMEWW, 23ª Edição, Método 4500 S ₂ ⁻ D
	Determinação de turbidez pelo método nefelométrico LQ: 0,20 NTU	SMEWW, 23ª Edição, Método 2130 B
<u>MEIO AMBIENTE</u>	<u>ENSAIOS BIOLÓGICOS</u>	
ÁGUAS BRUTA, TRATADA, RESIDUÁRIA E PARA CONSUMO HUMANO	Bactérias heterotróficas – Determinação quantitativa pela técnica de inoculação em profundidade LQ: 1 UFC/mL	SMEWW, 23ª Edição, Método 9515 B
	Coliformes totais e <i>Escherichia coli</i> - Determinação pela técnica Contagem (substrato enzimático) LQ: 1 NMP/100 mL	SMEWW, 23ª Edição, Método 9223 B
	Coliformes totais e <i>Escherichia coli</i> - Determinação pela técnica de Presença/Ausência (substrato enzimático)	SMEWW, 23ª Edição, Método 9223 B

ESCOPO DA ACREDITAÇÃO – ABNT NBR ISO/IEC 17025 - ENSAIO



Norma de Origem: NIT-DICLA-016

Folha: 5

ACREDITAÇÃO Nº	TIPO DE INSTALAÇÃO	
CRL 0798	INSTALAÇÃO DE CLIENTE	
ÁREA DE ATIVIDADE / PRODUTO	CLASSE DE ENSAIO / DESCRIÇÃO DO ENSAIO	NORMA E /OU PROCEDIMENTO
<u>MEIO AMBIENTE</u>	<u>ENSAIOS QUÍMICOS</u>	
ÁGUAS BRUTA, TRATADA, RESIDUÁRIA E PARA CONSUMO HUMANO	Determinação de cloro residual pelo método colorimétrico com N, N-dietil-p-fenilenodiamina (DPD) LQ: 0,10 mg/L	SMEWW, 23ª Edição, Método 4500CI G
	Determinação de Oxigênio dissolvido pelo método da luminescência LQ: 0,15 mg/L	ASTM D888 - 12 - Standard Test Methods for Dissolved Oxygen in Water/ Test Method C
	Determinação de pH pelo método eletrométrico	SMEWW, 23ª Edição, Método 4500H ⁺ B
	Determinação do potencial de oxi-redução em água Faixa de trabalho: -1200 a +1200 mV	SMEWW, 23ª Edição, Método 2580 B
	Determinação de temperatura Faixa: -2 a 50°C	SMEWW, 23ª Edição, Método 2550 B
<u>MEIO AMBIENTE</u>	<u>AMOSTRAGEM</u>	
ÁGUAS BRUTA, TRATADA, RESIDUÁRIA E PARA CONSUMO HUMANO	Amostragem em rios, lagos, represas, sistemas alternativos de abastecimento público, poços freáticos e profundos, nascentes, minas, estação de tratamento de água (ETA), sistema de reservação, redes de distribuição, estação de tratamento de esgoto (ETE) efluentes domésticos e industriais	SMEWW, 23ª Edição, Método 1060 e 9060 ABNT NBR 9898:1987 PG-006-Amostragem de Água e Efluentes
ÁGUA SUBTERRÂNEA	Amostragem de água subterrânea em poços de monitoramento - métodos de purga	ABNT NBR 15847 (2010)



PLANO DE VALIDAÇÃO

FO 184

Coliformes totais e Escherichia coli – Determinação Quantitativa pela Técnica de Múltiplos Poços (Quanti-Tray/2000) – NMP (Substrato Enzimático)

SMWW 23ª Edição, 2017, Método 9223B 4.c

	FORMULÁRIO		Código FO 184 Aprovada em 02/03/2026	
	Título PLANO DE VALIDAÇÃO E VERIFICAÇÃO DE MÉTODOS	Revisão 02	Pág. 1/21	

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	2
2.	TÍTULO.....	2
3.	ADVERTÊNCIAS.....	2
4.	ESCOPO	2
5.	DEFINIÇÕES.....	3
6.	PRÍNCIPIO DO MÉTODO	4
7.	REAÇÕES.....	4
8.	REAGENTES E MATERIAS.....	5
9.	EQUIPAMENTOS.....	5
10.	AMOSTRAGEM.....	5
11.	PROCEDIMENTO	5
12.	CÁLCULOS	8
13.	DADOS ESTATÍSTICOS.....	10
14.	QUALIDADE ASSEGURADA E CONTROLE DE QUALIDADE	15
15.	RESULTADO DOS TESTES	19
16.	ANEXOS.....	19
17.	BIBLIOGRAFIA.....	20
18.	PLANO DE TRABALHO	20

	FORMULÁRIO		Código FO 184	
			Aprovada em 02/03/2026	
Título		Revisão	Pág.	
PLANO DE VALIDAÇÃO E VERIFICAÇÃO DE MÉTODOS		02	2/21	

1. INTRODUÇÃO

Os testes de substrato enzimático usam substratos cromogênicos e fluorogênicos hidrolisáveis para detectar simultaneamente enzimas produzidas por coliformes totais e *Escherichia coli* (*E. coli*). Nesse método, as bactérias coliformes totais produzem a enzima β -d-galactosidase, que cliva o substrato cromogênico no meio para liberar o cromogênio. A maioria das cepas de *E. coli* produz a enzima β -glucuronidase, que cliva um substrato fluorogênico no meio para liberar fluorogênio. A liberação de cromogênio indica que bactérias coliformes estão presentes, e a liberação de fluorogênio indica que *E. coli* está presente.

Os formatos de tubos múltiplos, poços múltiplos ou presença / ausência (amostra única de 100 mL) estão disponíveis para uso com esses testes de substrato de enzima.

Esses testes de coliformes de substrato enzimático são recomendados para a análise de amostras de água potável, água de fonte, água subterrânea e água residual. Se um laboratório não tiver usado este método antes, é desejável conduzir testes paralelos (incluindo variações sazonais) com o método existente para avaliar a eficácia específica do local e comparar os resultados. Os resultados de muitos estudos de desempenho de métodos estão disponíveis na literatura e as taxas de resultados falso-positivos e negativos diferem entre as várias mídias. Os usuários devem selecionar cuidadosamente o meio e o procedimento que melhor atende às suas necessidades.

As amostras de água contendo húmico ou outro material podem ser coloridas. Se houver uma cor de fundo natural, observe que a água é. Se a água for amarelada o suficiente para ser mal interpretada como um positivo fraco após a incubação, use um meio que não fique amarelo. O alto teor de sal de cálcio em algumas águas pode causar precipitação, mas isso não deve afetar a reação.

O método foi validado conforme sessão 9020B.11 para obter orientação sobre como validar novos métodos utilizando o substrato enzimático ONPG-MUG da marca QF-Coli da empresa Quimaflex Científica

2. TÍTULO

Coliformes totais e *Escherichia coli* - Determinação quantitativa pela técnica de múltiplos poços - NMP (Substrato Enzimático).

3. ADVERTÊNCIAS

Utilizar os devidos EPI's durante o preparo de reagentes e soluções, bem como durante a utilização de solventes no preparo de amostras (Luva nitrílica, jaleco branco, máscara para gases, óculos de segurança).

4. ESCOPO

A água potável não deve conter micro-organismos patogênicos e deve estar livre de bactérias indicadoras de contaminação fecal, por isso o controle desses microorganismos é essencial para a saúde humana. A análise microbiológica da água fornece subsídio a respeito da sua portabilidade, isto é, ausência de risco de ingestão de micro-organismos causadores de doenças. Como indicadores de contaminação fecal, são eleitas como bactérias de referência as do grupo coliforme. O principal representante desse grupo de bactérias chama-se *Escherichia coli*.

É fundamental o fornecimento de água de boa qualidade para atender às necessidades básicas da população e permitir um ótimo padrão de vida. Para garantir sua portabilidade é importante que a água seja verificada, analisando a ausência de coliformes totais e *E. coli*.

	FORMULÁRIO		Código FO 184	
	Título PLANO DE VALIDAÇÃO E VERIFICAÇÃO DE MÉTODOS		Aprovada em 02/03/2026	
Revisão 02			Pág. 3/21	

O método quantitativo estudado pela cartela de múltiplos poços Quanti Tray 2000 possui faixa de trabalho é de <1 a >2419.6 MPN/100 mL conforme a IDEXX Quanti-Tray®/2000 MPN Table (per 100mL)

5. DEFINIÇÕES

Limite de Detecção: São menores valores de concentração do analito ou de uma propriedade que pode ser detectado pelo método. É determinado por uma análise completa de uma dada matriz contendo analito.

Limite de Quantificação: É a menor concentração do analito que pode ser determinada com um nível de exatidão e precisão. Pode ser considerado como sendo a concentração do analito correspondente ao valor da média do branco mais 5, 6 ou 10 desvios-padrão.

Linearidade: É a habilidade de um método analítico em produzir resultados que sejam diretamente proporcionais à concentração do analito em amostras, em uma dada faixa de concentração do analito. A linearidade é obtida através da padronização interna ou externa e formulada com expressão matemática usada para o cálculo da concentração do analito a ser determinada na amostra real. Cabe avaliar a homocedasticidade (homogeneidade de variáveis).

Faixa de Trabalho e Faixa Linear: Todo método quantitativo, há uma faixa de concentrações do analito ou valores da propriedade no qual o método pode ser aplicado. No limite inferior da faixa de concentração, os fatores limitantes são os valores dos limites de detecção e de quantificação. No limite superior, os fatores limitantes dependem do sistema de resposta do equipamento de medição. Dentro da faixa de trabalho pode haver uma faixa de resposta linear e dentro desta, a resposta do sinal terá uma relação linear com o analito ou valor da propriedade. A faixa linear é o intervalo entre os níveis superior e inferior de concentração do analito que foi demonstrado ser possível a determinação com a precisão, exatidão e a linearidade exigidas, sob condições específicas para o ensaio. A faixa linear é normalmente expressa nas mesmas unidades dos resultados obtido pelo método analítico.

Recuperação e Tendência: Recuperação do analito pode ser estimada pela análise de amostras adicionadas com quantidades conhecidas do mesmo (*Spike*). As amostras podem ser misturadas com o analito em pelo menos 3 concentrações diferentes.

Tendência: A tendência pode ser expressa como recuperação analítica, definida como: Valor observado/ valor esperado. É importante no estabelecimento da rastreabilidade aos padrões reconhecidos.

Repetibilidade: É o grau de concordância entre os resultados de medições sucessivas de um mesmo avaliado, efetuadas sob as mesmas condições de medição, chamadas de condições de repetibilidade, seguindo: os mesmos procedimentos da medição, observador, instrumento usado sob as mesmas condições, local e repetições em curto espaço de tempo. A repetibilidade pode ser expressa quantitativamente em termos da característica da dispersão dos resultados, podendo ser determinada por meio da análise de padrões, material de referência ou adição a um branco em várias concentrações na faixa de trabalho. Recomenda-se

	FORMULÁRIO		Código FO 184	
	Título PLANO DE VALIDAÇÃO E VERIFICAÇÃO DE MÉTODOS		Aprovada em 02/03/2026	
Revisão 02			Pág. 4/21	

7 ou mais repetições para cálculos do desvio padrão para cada concentração proposta, chamado de desvio padrão de repetitividade.

Reprodutibilidade ou Precisão Intermediária: Denominada também de reprodutibilidade interna, referindo-se a precisão avaliada sobre a mesma amostra, amostras idênticas ou padrões, utilizando o mesmo método, no mesmo local, mas definindo exatamente quais condições a variar, sendo uma ou mais, tais como: diferentes equipamentos, com diferentes analistas em diferentes tempos. Esta medida de precisão é reconhecida como a mais representativa da variabilidade dos resultados em um laboratório e, como tal, mais recomendável a usar. Desta forma, são efetuadas “n” medições em replicata, ou em único ensaio, sobre a amostra, nas condições pré-definidas, pois existem vários métodos de estudar este tipo de precisão. Em alguns casos, o valor da precisão intermediária é função do nível de concentração do ensaio e seu cálculo é efetuado, preferivelmente, a partir dos resultados obtidos, após eliminação dos resultados dispersos.

Seletividade: Especificidade ou Seletividade é a habilidade de avaliar inequivocadamente o analito na presença de componentes que se esperam estar presentes. Tipicamente, estes componentes podem incluir diluentes, impurezas, degradados e componentes da matriz.

Robustez: A robustez é definida como a indicação da capacidade de um método analítico em resistir a pequenas e deliberadas variações dos parâmetros analíticos

6. PRÍNCÍPIO DO MÉTODO

Os meios de cultura contêm nutrientes indicadores que, hidrolisados pelas enzimas específicas dos coliformes provocam uma mudança de cor no meio.

Estes testes enzimáticos usam cromogênicos hidrolizáveis e substratos fluorogênicos para detectar simultaneamente enzimas produzidas por coliformes totais e *Escherichia coli* (*E. coli*). Nesse método, bactérias coliformes totais produzem a enzima - B-galactosidase, que cliva o substrato cromogênico no meio para liberar cromógeno. A maioria das cepas de *E. coli* produzem a enzima -glucuronidase, que cliva um substrato fluorogênico no meio para libertar fluorogênio. A liberação do cromógeno indica que as bactérias coliformes estão presentes, e a liberação de fluorógeno indica que *E. coli* estão presentes.

O método é aplicável para as técnicas de Múltiplos tubos, múltiplos poços ou presença-ausência (em 100-ml).

7. REAÇÕES

A enzima D-galactosidase é detectada por meio de substratos cromogênicos (ONPG) que quando adicionado na amostra, é homogeneizado e incubado a uma temperatura de $35,0 \pm 0,5$ ° por 24h. Após o período de incubação, se amarelo é observada, coliformes totais estão presentes.

	FORMULÁRIO		Código FO 184	
			Aprovada em 02/03/2026	
Título PLANO DE VALIDAÇÃO E VERIFICAÇÃO DE MÉTODOS		Revisão 02	Pág 5/21	

A detecção da enzima B glucoronidase é por meio do substrato fluorogênico (MUG), que quando hidrolisa o substrato fluorogênico produz uma fluorescência azulada, vista pela luz UV (365 nm), indicando a presença de E. Coli, quando incubada nas mesmas condições do substrato cromogênicos.

8. REAGENTES E MATERIAS

Nome	Código	Validade	Certificado	Incerteza
K. pneumoniae ATCC13883 – Lot: 351-74-5	1322-37593/2022	31/05/2023	351-74-5	N/A
Escherichia coli ATCC25922 – Lot: 335-534-2	295-37593/2022	31/08/2023	335-534-2	N/A
P. aeruginosas ATCC27853 – Lot: 353-474-4	296-37593/2022	30/04/2023	353-474-4	N/A
QF-Coli Quimaflex Cientifica Lot: 220117073	3548-36497/2022	18/01/2023	220117073	N/A
Colilert Idexx Lot: HT52B	3548-36502/2022	12/11/2022	HT52B	N/A
Frasco Estéril com Tiosulfato de Sódio 1mg	4363-36497/2022	23/04/2023	20210423	N/A

9. EQUIPAMENTOS

Nome	Código	Certificado	Incerteza
Estufa Bacteriológica	AB-EQ-148	E43334A/19	± 0,2 °C
Micropipeta 1 à 10 mL	AB-EQ-163	EVV-12072-01/2019	± 0,014 mL
Micropipeta 100 à 1000 uL	AB-EQ-463	EVV-10287-08RV01/2018	± 0,82 uL
Micropipeta 10 à 100 uL	AB-EQ-553	E23289/19	± 0,050 uL

10. AMOSTRAGEM

As amostras deverão ser coletadas em frascos ou bolsas estéreis com preservação química tiosulfato de sódio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$), transportadas sob refrigeração e armazenadas $\leq 10^\circ\text{C}$.

11. PROCEDIMENTO

Este procedimento é baseado nas técnicas disponíveis no SMWW 23ª Edição, 2017 na sessão 9223 B. Enzyme Substrat Test. As soluções, meios e caldos preparados, bem como todos os itens de ensaio devem ser registrados no FO 186 – Controle de itens de Ensaio – Biologia.

Os testes realizados neste procedimento de validação visam assegurar a equivalência do produto referenciado no SMWW 23ª Edição, 2017 e o produto QF-Coli do fabricante Quimaflex Cientifica.

	FORMULÁRIO		Código FO 184	
	Título PLANO DE VALIDAÇÃO E VERIFICAÇÃO DE MÉTODOS		Aprovada em 02/03/2023	
Revisão 02			Pág. 6/21	

As quantidades dos testes foram estabelecidas conforme previstos no DOQ-CGCRE-008 ORIENTAÇÃO SOBRE VALIDAÇÃO DE MÉTODOS ANALÍTICOS Revisão 09 – JUN/2020.

A Tabela 8 (DOQ-CGCRE-008_Rev 09) apresenta um resumo da determinação da repetibilidade, precisão intermediária e reprodutibilidade.

a) Mesmo analista, equipamento, laboratório, período curto (repetibilidade): Testes ≥ 6

Determinar o desvio padrão amostral da repetibilidade de cada concentração.

b) Analistas e equipamentos diferentes, mesmo laboratório, período estendido (precisão intermediária): Testes ≥ 6

Determinar o desvio padrão da reprodutibilidade intralaboratorial de cada concentração.

Todas as etapas do procedimento de ensaio deveram ser executadas utilizando técnicas assépticas em capela de fluxo laminar.

Os reagentes devem ser levados para temperatura ambiente, 20 a 28 ° C antes do uso.

Para realização dos ensaios de LD-LQ, repetibilidade, precisão intermedi, as amostras foram contaminadas com cepa Klebsiella pneumoniae ATCC13883, Escherichia coli ATCC25922 e Pseudomonas aeruginosas ATCC27853 e assepticamente distribuídas em frascos estéreis conforme tabela abaixo:

Amostras Contaminadas: Cepa Klebsiella. pneumoniae ATCC13883 – Lot: 351-74-5 Val. 31/05/2023		
Parâmetro de Validação	QF-Coli	Colilert
LD-LQ	7	7

Amostras Contaminadas: Cepa Escherichia coli ATCC25922 – Lot: 335-534-2 Val.31/08/2023		
Parâmetro de Validação	QF-Coli	Colilert
LD-LQ	7	7

Amostras Contaminadas: Cepa Klebsiella. pneumoniae ATCC13883 – Lot: 351-74-5 Val. 31/05/2023		
Parâmetro de Validação	QF-Coli	Colilert
Repetibilidade	6	0
Precisão Intermediária	0	6

	FORMULÁRIO		Código FO 184	
	Título PLANO DE VALIDAÇÃO E VERIFICAÇÃO DE MÉTODOS		Aprovada em 02/03/2026	
Revisão 02			Pág. 7/21	

Amostras Contaminadas: Cepa Escherichia coli ATCC25922 – Lot: 335-534-2 Val. 31/08/2023

Parâmetro de Validação	QF-Coli	Colilert
Repetibilidade	6	0
Precisão Intermediária	0	6

Amostras Contaminadas: Cepa Pseudomonas aeruginosas ATCC27853 – Lot: 353-474-4 Val. 30/04/2023

Parâmetro de Validação	QF-Coli	Colilert
Repetibilidade	6	0
Precisão Intermediária	0	6

Preparo das Amostras Contaminadas

- Para o teste **negativo** para Coliformes totais e Escherichia coli, proceder a análise com água estéril contaminadas com cepa de Pseudomonas aeruginosas ATCC27853, preparar o material para teste conforme descreve o procedimento para uso e manutenção das cepas (IT-092). Será adicionado 10 µl da cepa referência em 100 ml de água estéril.
- Para o teste **positivo** para Coliformes totais e **negativo** para Escherichia coli proceder a análise com água estéril contaminadas com cepa Klebsiella pneumoniae ATCC13883, preparar o material para teste conforme descreve o procedimento para uso e manutenção das cepas (IT-092). Será adicionado 10 µl da cepa referência em 100 ml de água estéril.
- Para o teste **positivo** para Coliformes totais e **positivo** para Escherichia coli proceder a análise com água estéril contaminada com cepa Escherichia coli ATCC25922, preparar o material para teste conforme descreve o procedimento para uso e manutenção das cepas (IT-092). Será adicionado 10 µl da cepa referência em 100 ml de água estéril.

Preparo do local para execução dos Ensaios

- Retirar as amostras do refrigerador 30 minutos (aproximadamente) antes da execução do ensaio.
- Antes de iniciar o ensaio, o analista deve ligar o fluxo de ar acionando o botão operação por 20 a 30 minutos (o fluxo de ar deve ser desligado somente após a limpeza de finalização do ensaio). Em paralelo realizar a limpeza da bancada do local de trabalho e da capela de fluxo laminar com a utilização de luva.
- A limpeza é realizada com papel umedecido com Álcool 70%, e deve ser passado sobre as bancadas e a capela de fluxo laminar em uma única direção.

Execução do procedimento: SMWW 23ª Edição, 2017, Método 9223B 4.c

Procedimento multi-poços: Este procedimento é realizado com bandejas multi-poços descartáveis esterilizadas Quanti-Tray/2000

	FORMULÁRIO		Código FO 184	
	Título PLANO DE VALIDAÇÃO E VERIFICAÇÃO DE MÉTODOS		Aprovada em 02/03/2026	
Revisão 02			Pág. 8/21	

- Adicionar assepticamente o meio de cultura (QF-Coli/ Colilert) para uma amostra de água previamente preparada de 100 ml e agitar vigorosamente para dissolver.
- Para abrir o Quanti-Tray, use uma mão para segurar a unidade na vertical (com o lado do poço voltado para a palma) e aperte a parte superior da bandeja de modo que ela se dobre em direção a palma. Puxe suavemente a aba da folha para separar a folha da bandeja, tomando cuidado para não tocar no interior do papel alumínio ou da bandeja.
- Adicionar a mistura de amostra de água e meio de cultura diretamente na bandeja, evitando o contato com aba de folha. Bata suavemente nos poços pequenos (Quanti-Tray 2000) 2 a 3 vezes para liberar quaisquer bolhas de ar que possam estar presas. Esperar a espuma assentar, embora seja aceitável alguma espuma.
- Coloque a bandeja na inserção de borracha apropriada com o lado do poço (plástico) voltado para baixo e sele-a no selador Quanti-Tray.
- O selante dispersa a amostra nos poços e sela a embalagem.
- Incubar por 24 horas a 35 °C ± 0.5 °C. Em seguida fazer a leitura/comparação visual da coloração dos tubos conforme *IDEX Quanti-Tray®/2000 MPN Table (per 100ml)*
- Os poços grandes deveram ser lidos verticalmente, enquanto os menores horizontalmente.

12. CÁLCULOS

A linearidade foi avaliada pela construção de uma curva de calibração com 5 pontos em triplicata. Foi avaliada a correlação entre os resultados obtidos pelo coeficiente de correlação R^2 . A homoscedade dos resultados foi avaliada pelo teste de Cochran, sendo:

$$C = \frac{S_{Max}^2}{\sum S^2}$$

Onde S_{Max}^2 é a maior variância entre as réplicas e $\sum S^2$ é o somatório de todas as variâncias. O valor obtido é comparado com um valor tabelado $C_{tab} = 0,6838$.

A existência de valores aberrantes foi avaliada pelo teste de Grubbs, sendo:

$$G_{sup} = \frac{(y_{max} - \bar{y})}{s}$$

$$G_{inf} = \frac{(y_{min} - \bar{y})}{s}$$

Onde y_{max} e y_{min} são, respectivamente, o maior e menor valor da média das triplicatas das respostas; $\bar{y}$ é o valor médio das triplicatas das respostas, e s é o desvio padrão das médias das triplicatas das respostas. Os valores obtidos são comparados com um valor tabelado $G_{crit} = 1,71$.

	FORMULÁRIO		Código FO 184	
	Título PLANO DE VALIDAÇÃO E VERIFICAÇÃO DE MÉTODOS		Aprovada em 02/03/2026	
Revisão 02			Pág. 9/21	

O LD foi determinado pela estimativa do desvio padrão do branco de amostra fortificado na menor concentração aceitável do analito, pela equação:

$$LD = 3,143 * s$$

Onde s é o desvio padrão de 7 leituras consecutivas do branco fortificado.

O LQ foi determinado pela estimativa do desvio padrão do branco de amostra fortificado na menor concentração aceitável do analito, pela equação:

$$LQ = 10 * s$$

Onde s é o desvio padrão de 7 leituras consecutivas do branco fortificado.

A recuperação foi estimada pela leitura de uma matriz fortificada (água tratada) em 3 níveis de concentração, em 10 replicas independentes num período de 5 dias, sendo 2 réplicas por dia. Foram avaliados os percentuais de recuperação (Fator de Recuperação) e os coeficientes de variação das 10 réplicas por nível pelas equações:

$$Frec = \frac{100 * (A - AF)}{Vr}$$

Onde: F_{rec} é o fator de recuperação; A é o valor da leitura da amostra (ou branco); AF é o valor da leitura da amostra fortificada (ou branco fortificado); Vr é o valor da fortificação.

$$C.V. \% = \frac{100 * s}{M_{Frec}}$$

Onde: C.V.% é o coeficiente de variação; s é o desvio padrão das 10 réplicas por nível; M_{Frec} é o valor médio dos fatores de recuperação obtidos.

A Tendência foi avaliada pelo padrão de distribuição dos resultados em um gráfico contendo limites de advertência e limites críticos, durante o período de estudo. Os limites foram calculados pelas equações:

Limite de Advertência:

$$LA = M_{Frec} \pm 2 * s$$

	FORMULÁRIO		Código FO 184	
	Título PLANO DE VALIDAÇÃO E VERIFICAÇÃO DE MÉTODOS		Aprovada em 02/03/2026	
Revisão 02			Pág. 10/21	

Limite Crítico:

$$LC = M_{Frec} \pm 3 * s$$

A repetibilidade foi avaliada pela medição de padrões 3 níveis de concentração avaliado em 7 réplicas independentes no mesmo dia. Foi avaliado o coeficiente de variação entre as réplicas.

A precisão foi avaliada pela medição de padrões 3 níveis de concentração avaliado em 7 réplicas independentes, por um analista diferente. Foi avaliado o coeficiente de variação entre as réplicas.

13. DADOS ESTATÍSTICOS

Os dados obtidos no procedimento de ensaio devem ser registrados no FO 074 Relatório de Validação de Método Analítico para avaliar se o desvio padrão experimental da reprodutibilidade está compatível com o desvio padrão predito pela equação de Horwitz modificada por Thompson, que é baseada na concentração c do analito:

A partir do desvio padrão s é útil calcular os limites de precisão. Isso permitirá ao analista decidir quando há uma diferença significativa, a um determinado nível de confiança, entre os resultados de análises duplicadas de uma amostra obtida sob condições especificadas. O limite de repetibilidade (r) é calculado conforme a equação:

$$r = t_{(n-1,1\alpha)} 2. sr$$

Onde o fator 2 reflete a diferença entre 2 medições, t é o valor da abscissa da distribuição t (Student) bilateral para determinado número de graus de liberdade (relacionados à estimativa do sr) e nível de confiança. Para graus de liberdade relativamente altos, t é aproximadamente igual a 2 para 95,35% de confiança; assim, o limite de repetibilidade é frequentemente aproximado como:

$$r = 2,8. sr$$

Seletividade é o grau em que o método pode quantificar o analito na presença de outros analitos, matrizes ou de outro material potencialmente interferente (AOAC, 2002). Um método que produz respostas para vários analitos, mas que pode distinguir a resposta de um analito da de outros, é chamado seletivo.

Teste estatístico: Teste F (Snedecor) de homogeneidade de variâncias, por nível de concentração e Teste t (Student) de comparação de médias, por nível de concentração.

	FORMULÁRIO		Código FO 184	
			Aprovada em 02/03/2022	
Título PLANO DE VALIDAÇÃO E VERIFICAÇÃO DE MÉTODOS		Revisão 02	Pág. 11/21	

Repetitividade		
Legenda:	Data da execução:	25/03/2022
Resultados		
Entrada de dados		

Nível 1	Nível 2	Nível 3	Nº Replicatas	Resultado	Média	Desv. Pad.	C.V.
Klebsiela. pneumoniae ATCC13883 + QF-Coli	Escherichia coli ATCC25922 + QF-Coli	Pseudomonas aeruginosa ATCC27853 + QF-Coli	1	30,50000	29,64	0,802	2,71%
			2	29,00000			
			3	30,50000			
			4	29,00000			
			5	29,00000			
			6	30,50000			
			7	29,00000			
			1	56,10000	54,67	1,336	2,44%
			2	53,60000			
			3	56,10000			
			4	56,10000			
			5	53,60000			
			6	53,60000			
			7	53,60000			
			1	0,00000	0,00	0,000	#DIV/0!
			2	0,00000			
			3	0,00000			
			4	0,00000			
			5	0,00000			
			6	0,00000			
			7	0,00000			

Limite de repetitividade Nível 1		Limite de repetitividade Nível 2		Limite de repetitividade Nível 3	
t _{tab} (95%)	1,94	t _{tab} (95%)	1,94	t _{tab} (95%)	1,94
n	7	n	7	n	7
s	0,80200	s	1,33600	s	0,00000
r	2,20035	r	3,66542	r	0,00000

	FORMULÁRIO		Código FO 184	
	Título PLANO DE VALIDAÇÃO E VERIFICAÇÃO DE MÉTODOS		Aprovada em 02/03/2026	
Revisão 02			Pág. 12/21	

Conclusão:

Critério de aceitação para $CV \leq 20\%$ para medidas de propriedade.

Reprodutibilidade/ Precisão Intermediária

Legenda:
Resultados
Entrada de dados

Nível 1			1,00		Nº Replicatas	Resultado	Média	Desv. Pad.	Variância
			1,00						
			Operator:	Maria Julia Mieli	Klebsiela. pneumoniae ATCC13883 + Colliet - Idexx	1	29,0000	29,36	1,046
			2	27,5000					
			3	27,5000					
			4	29,0000					
			5	30,5000					
			6	29,5000					
			7	30,5000					
Operator:	Amanda K. P. Zago	25/03/2022	1	30,5000					
			2	29,0000					
			3	30,5000					
			4	29,0000					
			5	29,0000					
			6	30,5000					
			7	29,0000					

Limite de reprodutibilidade Nível 1	
$t_{\text{tab}} (95\%)$	1,94
n	7
S_R	1,046
R	2,86978
$DPR_r = C.V.$	3,56%

$DPR_r(\text{teórico})$	2,000
HORRAT	0,017813

$$DPR_r = 2^{(1-0,5 \log C)}$$

	FORMULÁRIO		Código FO 184	
	Título PLANO DE VALIDAÇÃO E VERIFICAÇÃO DE MÉTODOS		Aprovada em 02/03/2026	
Revisão 02			Pág. 13/21	



Conclusão:

Critério de aceitação para $CV \leq 20\%$.

Valor de HORRAT ≤ 2 , os valores da reprodutibilidade do método são satisfatórios.

Reprodutibilidade/ Precisão Intermediária

Legenda:

Resultados

Entrada de dados

Nível 2				Nº Replicatas	Resultado	Média	Desv. Pad.	Variância
1,00								
1,00								
Operator:	Operator:	Maria Julia Mieli	Escherichia coli ATCC25922 + Colilet - Idexx	1	51,2000	53,98	1,892	3,578736264
				2	51,2000			
3	53,6000							
4	56,1000							
5	56,1000							
6	53,6000							
7	51,2000							
Operator:	Amanda K. P. Zago	25/03/2022		1	56,1000			
			2	53,6000				
			3	56,1000				
			4	56,1000				
			5	53,6000				
			6	53,6000				
			7	53,6000				

Limite de reprodutibilidade

Nível 2

$t_{\text{tab}} (95\%)$	1,94
n	7
S_R	1,892
R	5,19084
$DPRr = C.V.$	3,51%

$DPRr_{(\text{teórico})}$

2,000

HORRAT

0,017525

$$DPRr = 2^{(1-0,5 \log C)}$$

	FORMULÁRIO		Código FO 184	
			Aprovada em 02/03/2026	
Título PLANO DE VALIDAÇÃO E VERIFICAÇÃO DE MÉTODOS		Revisão 02	Pág. 14/21	
				

Conclusão:

Critério de aceitação para $CV \leq 20\%$.

Valor de HORRAT ≤ 2 , os valores da reprodutibilidade do método são satisfatórios.

Reprodutibilidade	
Legenda:	
Resultados	
Entrada de dados	

Nível 3				1,00		Nº Replicatas	Resultado	Média	Desv. Pad.	Variância
				1,00						
				Operator:						
	Maria Julia Mieli	Pseudomonas aeruginosas ATCC27853 + Colilert - Idexx	1	0,0000	0,00	0,000	0,000000000			
			2	0,0000						
			3	0,0000						
			4	0,0000						
			5	0,0000						
			6	0,0000						
			7	0,0000						
	Amanda K. P. Zago	25/03/2022	1	0,0000						
			2	0,0000						
			3	0,0000						
			4	0,0000						
			5	0,0000						
			6	0,0000						
			7	0,0000						

Limite de reprodutibilidade	
Nível 3	
$t_{tab} (95\%)$	1,94
n	7
S_R	0,000
R	0,00000
$DPRr = C.V.$	#DIV/0!

$DPRr_{(teórico)}$	2,000
HORRAT	#DIV/0!

$$DPRr = 2^{(1 - 0,5 \log C)}$$

	FORMULÁRIO		Código FO 184	
	Título PLANO DE VALIDAÇÃO E VERIFICAÇÃO DE MÉTODOS		Aprovada em 02/03/2026	
Revisão 02			Pág. 15/21	

Conclusão:

Critério de aceitação para $CV \leq 20\%$.

Valor de HORRAT ≤ 2 , os valores da reprodutibilidade do método são satisfatórios

14. QUALIDADE ASSEGURADA E CONTROLE DE QUALIDADE

Os controles de qualidades aplicáveis ao procedimento estão descritos no PSGQ 007 – *Garantia da Qualidade dos Resultados* conforme descreve SMWW 23ª Edição, 2017, Método sessão 9020 tabela 9020:1 Key Quality Control Practices.

Comparador de Cor

- Comparador fluorescente para *Coliformes Totais/ Escherichia coli*. O resultado deve ser igual a tabela de interpretação abaixo:

Aparência	Resultado
Menos amarelo que o comparador	Negativo para Coliformes totais e <i>E. coli</i>
Amarelo igual ou superior ao comparador	Positivo para Coliformes totais
Amarelo e fluorescência igual ou superior ao comparador	Positivo para <i>E. coli</i>

Meio de Cultura – Substrato Cromogênico/Fluorogênico

- A cada novo lote, realizar o controle de positivo e negativo do teste de funcionalidade
- Para o teste **negativo** para Coliformes totais e *Escherichia coli*, proceder a análise com água estéril contaminadas com cepa de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853, preparar o material para teste conforme descreve o procedimento para uso e manutenção das cepas (IT-092).
- Para o teste **positivo** para Coliformes totais e **negativo** para *Escherichia coli* proceder a análise com água estéril contaminadas com cepa *Klebsiella pneumoniae* ATCC13883, preparar o material para teste conforme descreve o procedimento para uso e manutenção das cepas (IT-092).
- Para o teste **positivo** para Coliformes totais e **positivo** para *Escherichia coli* proceder a análise com água estéril contaminadas com cepa *Escherichia coli* ATCC25922, preparar o material para teste conforme descreve o procedimento para uso e manutenção das cepas (IT-092).
- Caso houver divergência nos resultados, repetir o processo. Se persistir, o lote de substrato deverá ser substituído.
- Registrar os controles realizados no FO- 186 Controle de uso dos itens de ensaio Biologia, na aba teste de funcionalidade.

Controle de Asséptico – Fluxo Laminar

- Fluxo de Ar**
- Verificar semanalmente se o fluxo de ar está funcionando corretamente.
- Erguer o vidro da capela de fluxo laminar e colocar o umidificador dentro da capela, ligá-lo conforme a IT-112 Umidificador ultrassônico.

	FORMULÁRIO		Código FO 184	
	Título PLANO DE VALIDAÇÃO E VERIFICAÇÃO DE MÉTODOS		Aprovada em 02/03/2026	
Revisão 02			Pág. 16/21	

- Baixar o vidro da capela de fluxo laminar e ligar o fluxo de ar.
- Verificar se o fluxo de ar da capela irá sugar o vapor do umidificador ultrassônico.
- Registrar no FO 156 – Verificação do Fluxo de Ar.

• Luz Germicida

- Realizar o monitoramento do ar mensalmente com as placas TSA e SDA e, da(s) superfície (s) a cada uso com a placa TSA Rodac, para averiguar e monitorar a eficiência da Luz U.V na assepsia do ambiente, conforme a IT – 088.
- Fazer o preparo do local de trabalho, em seguida realizar a desinfecção.
- Registrar no FO 106 – Verificação das condições assépticas do Laboratório.

Frasco de Coleta

A cada novo lote, realizar o controle de esterilidade do frasco com caldo nutritivo e a eficácia de eliminação cloro residual livre.

Caldo Nutritivo de Lactose

Pesar $3,25 \pm 0,05\text{g}$ do caldo de lactose e dissolver em 250 mL de água purificada. Transferir para um frasco reagente e autoclavar a meia rosca a 121°C por 15 minutos. Registrar os controles realizados FO-186 no Controle de Uso de Itens de Ensaio Biologia, na aba: Preparo de Soluções e Cepas.

- Preparar o caldo a cada uso.

Teste de Esterilidade do Frasco

- Preparar o local de trabalho.
- Abrir o frasco microbiológico e rapidamente adicionar 100 mL do Caldo Nutritivo de Lactose.
- Incubar o frasco em estufa bacteriológica a $35 \pm 0,5^\circ\text{C}$ por 24 horas.
- Ao término, repetir a limpeza da capela de fluxo laminar com papel umedecido com álcool 70% e desligar o fluxo de ar.
- Após o tempo de incubação realizar o teste de fluorescência e o teste visual, garantindo que o caldo incubado no frasco não apresente nenhuma mudança em suas características físicas, como material em suspensão, turvação ou algo similar.
- Registrar os controles realizados FO-186 no Controle de Uso de Itens de Ensaio Biologia, nas abas: Teste de Funcionalidade e Controle de Qualidade.

Teste de Eliminação do Cloro

- Preparar o local de trabalho.
- Abrir o frasco microbiológico e rapidamente adicionar 100 mL de água da torneira.
- Seguir conforme IT 047 Determinação de Cloro Residual Livre Com N,N-DIETIL-P-FENILENOTETRAMINA (DPD).

Teste de Volume

- Preparar o local de trabalho.

	FORMULÁRIO		Código FO 184	
			Aprovada em 02/03/2026	
Título PLANO DE VALIDAÇÃO E VERIFICAÇÃO DE MÉTODOS		Revisão 02	Pág. 17/21	

- Preencher uma proveta de 100 mL calibrada com água e ver no frasco microbiológico observando se atinge a marcação de volume.
- Caso o lote apresente desvio significativo, despresar e substituir por um novo lote.
- Registrar os controles realizados FO-186 no Controle de Uso de Itens de Ensaio Biologia, nas abas: Teste de Funcionalidade e Controle de Qualidade.

Estufa Bacteriológica

- Realizar o monitoramento da temperatura da estufa diariamente nos períodos de análise. Realizar a leitura da temperatura na parte da manhã e da tarde
- Registrar no FO 040 – Registro de Inspeção da Temperatura da Estufa

Monitoramento da Água Reagente

Monitoramento da qualidade da água reagente conforme Tabela 9020:II Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater.

Para execução dos ensaios abaixo, seguir conforme os procedimentos vigentes no laboratório e reportar os resultados nesse formulário atentando-se a periodicidade de cada ensaio.

Condutividade	IT 025 – Determinação da Condutividade Eletrolítica
Metais pesados*	IT 097 – Determinação de Metais Totais e Metais Dissolvidos por Espectrometria de
Metais Totais	Emissão Plasma Óptico Indutivamente Acoplado (ICP-OES)
Cloro Residual Livre	IT 047 – Determinação Residual Livre com N, N Dietil – P – Fenilenotetramina (DPD)
Bactérias Heterotróficas	IT 016 – Determinação de Bactérias Heterotróficas Pour Plate
Carbono Orgânico	IT 158 – Determinação de Carbono Orgânico Total

TESTES QUÍMICOS

Teste	Data	Frequência	Método	Resultado	Limite Máximo	Responsável
Condutividade		Diário	SMWW 2510B		< 2 µS/ cm	
Carbono Orgânico		Mensal	EPA 9060A:2004		< 1,0 mg/L	
Metais pesados*		Anual**	EPA 6010D:2018		< 0,05 mg/L	
Metais Totais		Anual**	EPA 6010D:2018		< 0,10 mg/L	
Cloro Residual Livre		Diário	SMWW 4500Cl – G		< 0,10 mg/L	

* Metais pesados (Cd, Cr, Cu, Ni, Pb e Zn)

** Deverá ser avaliado criticamente ao longo do ano, caso ocorra algum problema deve-se estabelecer um monitoramento com maior frequência.

TESTES MICROBIOLÓGICOS

Teste	Data	Frequência	Método	Resultado	Limite Máximo	Responsável
Bactérias Heterotróficas		Mensal	SMWW 9215B		< 500 UFC/ mL	

	FORMULÁRIO		Código FO 184	
	Título PLANO DE VALIDAÇÃO E VERIFICAÇÃO DE MÉTODOS		Revisão 02	Aprovada em 02/03/2026 Pág. 18/21

Manutenção das Cepas de Referência

A técnica de Gram, mundialmente conhecida como coloração de Gram, é um método de coloração de bactérias desenvolvido pelo médico dinamarquês Hans Christian Joachim Gram permite diferenciar bactérias com diferentes estruturas de parede celular a partir das colorações que estas adquirem após tratamento com agentes químicos específicos. O método consiste em tratar sucessivamente um esfregaço bacteriano, fixado pelo calor, com os reagentes violeta de genciana, lugol, etanol-acetona fucsina. As bactérias que adquirem a coloração azul violeta são chamadas de Gram-positivas e aquelas que adquirem a coloração vermelho são chamadas de Gram-negativas.

Procedimento Técnico

Materiais necessários Cepas padrão: ATCC® (American Type Culture Collection)

Parâmetro	Resultado esperado
Staphylococcus aureus ATCC® 25923	Cocos Gram Positivos: Células esféricas coradas em tonalidade violeta
Escherichia coli ATCC® 25922	Bacilos Gram Negativos: Células em formato de bastão coradas em tonalidade rósea
Pseudomonas aeruginosa ATCC® 27853	Bacilo Gram-Negativo: Bastão reto, não esporulado, móvel, contendo um flagelo polar em tonalidade rósea
Klebsiella pneumoniae ATCC® 13883	Bacilo Gram-Negativo: encapsulada, anaeróbia facultativa em forma de bastonete, não móvel
Coloração de Fundo o fundo da lâmina	Apresenta-se límpido e isento de sujidades ou precipitados

a- Preparar as lâminas para coloração:

- Materiais líquidos: espalhar o material sobre uma lâmina limpa e desengordurada, deixar secar ao ar e fixar o material passando a lâmina pela chama do bico de Bunsen, deixar resfriar;
- Material de culturas em meio sólido: usando uma alça, colocar uma gota de água estéril no centro de uma lâmina limpa e desengordurada, e em seguida pegar a alçada de uma colônia bacteriana, emulsionar na água estéril, deixar secar ao ar e fixar o material na chama de um bico de Bunsen, deixar resfriar;
- Amostras diretas: Espalhar a amostra no centro de uma lâmina limpa e desengordurada, deixar secar ao ar, e em seguida fixar passando-a pela chama de um bico de Bunsen, deixando resfriar;

b- Coloração:

- Cobrir o material com a solução de violeta genciana e deixar atuar por um minuto, lavando em água corrente rapidamente;

	FORMULÁRIO		Código FO 184	
	Título PLANO DE VALIDAÇÃO E VERIFICAÇÃO DE MÉTODOS		Aprovada em 02/03/2026	
Revisão 02			Pág. 19/21	

- Cobrir a lâmina com o lugol fraco e deixar atuar um minuto; -
- Remover o lugol da lâmina gotejando sobre está a solução descolorante até que o líquido se torne incolor (em torno de 15 segundos); -
- Lavar em água corrente e cobrir a lâmina com a solução para Gram (deixando atuar por 30 a 60 segundos); -
- Lavar com água corrente, deixar secar na posição vertical e observar ao microscópio usando a objetiva de imersão (100x de aumento total).

c- Precauções e cuidados especiais

- Esfregaços muito delgados ou muito espessos dificultam o processo de coloração;
- Cuidar na etapa da descoloração, pois a falta ou o excesso podem igualmente prejudicar o resultado;

As células microbianas que apresentarem escura são consideradas Gram positivas ao passo que as coradas em tonalidade avermelhada são consideradas Gram negativas. Estruturas como células epiteliais, leucócitos e muco coram tonalidade avermelhada.

15. RESULTADO DOS TESTES

Os critérios de aceitação utilizados para a verificação do método foram:

Linearidade: $R^2 \geq 0,995$; Se G_{superior} ou $G_{\text{inferior}} \geq 1,156$ o valor aberrante para $n = 3$ a 5%: as variâncias podem ser consideradas iguais e as respostas instrumentais são homoscedásticas (H_0).

Recuperação: todas as fortificações devem ter resultado dentro de $\pm 20\%$ do valor de referência e desvio padrão relativo (coeficiente de variação), com valor de no máximo 20%.

Repetibilidade e precisão intermediária:

Foi avaliado o valor do desvio padrão relativo (coeficiente de variação), com valor de no máximo 20%.

LQ: Pelo cálculo de LQ, compostos que obtiveram LQs em concentrações menores que a concentração do primeiro ponto da sua respectiva curva de calibração. Visto isso, foi padronizado que, nesses casos, o valor do LQ será correspondente à concentração do primeiro ponto da curva de calibração.

Os resultados obtidos, deveram ser apresentados no FO 074 Relatório de Validação de Método Analítico de cada composto avaliado.

16. ANEXOS

FO 074 Relatório de Validação de Método Analítico

FO 212 Declaração de Validade do Método

	FORMULÁRIO		Código FO 184	
	Título PLANO DE VALIDAÇÃO E VERIFICAÇÃO DE MÉTODOS		Aprovada em 02/03/2022	
Revisão 02			Pág. 20/21	

17. BIBLIOGRAFIA

1. DOC-CGECRE-008rev09 ORIENTAÇÃO SOBRE VALIDAÇÃO DE MÉTODOS ANALÍTICOS: Junho, 2020.
2. EURACHEM Guide: *The Fitness for Purpose of Analytical Methods – A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics*. Magnusson, B. and U. Örnemark (Ed.), 2014.
3. Standard Methods For The Examination Of Water And Wastewater, 23nd Ed.
4. Guia Nacional de Preservação de Amostras, disponível em: <http://arquivos.ana.gov.br/institucional/sge/CEDOC/Catalogo/2012/GuiaNacionalDeColeta.pdf>.
5. CALDWELL, E.L. & L.W. PARR. 1933. Present status of handling water samples—Comparison of bacteriological analyses under varying temperatures and holding conditions, with special reference to the direct method. Amer. J. Pub. Health 23:467.
6. AGÊNCIA DE PROTEÇÃO AMBIENTAL DOS EUA. 1992. Regulamento Nacional de Água Potável Primária: Técnicas analíticas; Bactérias Coliformes; Regra final. 40 CFR Parte 141; Fed. Reg. 57:24744.
7. U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. 1994. National Primary and Secondary Drinking Water Regulation. Analytical methods for regulated drinking water contaminants; Final Rule. 40 CFR Parts 141 & 143; Fed. Reg. 59:62456.

18. PLANO DE TRABALHO

METAS	DESCRIÇÃO	EXECUÇÃO
1	21/03/2022: Planejamento dos ensaios de validação e definição do cronograma para execução.	Raphael Fernandes Amanda K. P. Zago
2	23/03/2022: Preparo das amostras para ensaio de LD e LQ. Avaliação parcial dos dados.	Raphael Fernandes Amanda K. P. Zago Maria Julia Mielli
3	25/03/2022: Preparo das amostras para ensaio de Repetibilidade do método em 3 níveis. Avaliação parcial dos dados.	Raphael Fernandes Amanda K. P. Zago Maria Julia Mielli
4	28/03/2022: Preparo das amostras para ensaio de Precisão Intermediária do método. Avaliação parcial dos dados.	Raphael Fernandes Amanda K. P. Zago Maria Julia Mielli
5	01/04/2022: Preenchimento dos documentos de Validação FO 074 Relatório de Validação de Método Analítico	Raphael Fernandes Amanda K. P. Zago Maria Julia Mielli
6	02/04/2022: Revisão, avaliação e discussão final do resultados para aprovação.	Raphael Fernandes Amanda K. P. Zago Maria Julia Mielli

	FORMULÁRIO	Código FO 184	
	Título PLANO DE VALIDAÇÃO E VERIFICAÇÃO DE MÉTODOS	Revisão 02	Aprovada em 02/03/2022 Pág. 21/21

**19. APROVAÇÃO**

NOME/FUNÇÃO	Raphael Fernandes/ Gerente Técnico	Amanda K. P. Zago/ Analista de Laboratório	Maria Julia Mieli/ Analista de Laboratório
AÇÃO	Planejamento	Participação	Participação
DATA	21/03/2022	21/03/2022	21/03/2022

	FORMULÁRIO		Código: FO 074	
	TÍTULO		Revisão	Página
	PLANILHA DE CÁLCULOS DE VALIDAÇÃO E VERIFICAÇÃO DE MÉTODOS		6	1/12



1. Metodologia Validada Coliformes totais e Escherichia coli – Determinação Quantitativa pela Técnica de Múltiplos Poços (Quantitray/2000) – NMP (Substrato Enzimático)

Parâmetro: Coliformes totais e Escherichia coli

Faixa: <1 a >2419.6 NMP/100 mL

Nome do Método de Ensaio: SMWW 23a Edição, 2017, Método 9223B 4.c

2. Matriz

Água bruta, água tratada, água para consumo humano e efluente.

3. Equipamentos/ Instrumentos

Nome	Código	Certificado	Incerteza
Estufa Bacteriológica	AB-EQ-148	E43334A/19	± 0,2 °C
Micropipeta 1 à 10 mL	AB-EQ-163	EVV-12072-01/2019	± 0,014 mL
Micropipeta 100 à 1000 µL	AB-EQ-463	EVV-10287-08RV01/2018	± 0,82 µL
Micropipeta 10 à 100 µL	AB-EQ-553	E23289/19	± 0,050 µL

4. Padrões/Reagentes

Nome	Código	Validade	Certificado	Incerteza
K. pneumoniae ATCC13883 – Lot: 351-74-5	1322-37593/2022	31/05/2023	351-74-5	N/A
Escherichia coli ATCC25922 – Lot: 335-534-2	295-37593/2022	31/08/2023	335-534-2	N/A
P. aeruginosa ATCC27853 – Lot: 353-474-4	296-37593/2022	30/04/2023	353-474-4	N/A
QF-Coli Quimaflex Científica Lot: 220117073	3548-36497/2022	18/01/2023	220117073	N/A
Colilert Idexx Lot: HT52B	3548-36502/2022	12/11/2022	HT52B	N/A
Frasco Estéril com Tiosulfato de Sódio 1mg	4363-36497/2022	23/04/2023	20210423	N/A

5. Período de realização

21/03/2022 a 02/04/2022

6. Aprovação/ Parecer Técnico

Visto do Analista Responsável: Aminda Zago Data: 02/04/2022

7. Aprovação da Gerência Técnica

() Aprovado (X) Reprovado

Visto do Aprovador: Raphael Data: 02/04/2022

8. Parâmetros analisados

- (X) Seletividade
 () Linearidade
 (X) Limite de Detecção
 (X) Limite de Quantificação
 () Recuperação
 (X) Precisão (repe e/ou repro)
 () Robustez



	FORMULÁRIO	Código: FD 074	
	TÍTULO	Revisão	Página
	PLANILHA DE CÁLCULOS DE VALIDAÇÃO E VERIFICAÇÃO DE MÉTODOS	6	2/12

Limite de detecção e Limite de quantificação

Legenda:	Data da execução:	23/03/2022 a 24/03/2022
Resultados		
Entrada de dados		

Concentração (NMP/100mℓ)	Resposta	Desv. padrão (s)	L.D. (NMP/100mℓ)	L.Q. (NMP/100mℓ)
<1 NMP/100mℓ	24,3	0,378	0,119	0,378
	24,3			
	24,3			
	24,3			
	24,3			
	23,3			
Desv. Padrão (s)	0,37796			
Média (X _m)	24,157			

Se $s \neq 0$ $\hat{O} \quad LD = X_m + t.s$

Se $s = 0$ $\hat{O} \quad LD = t.s$

Valor de t unilateral para 99% de confiança: 3,14

Observação:

O LD foi Calculado pelo branco da Amostra com Adição da menor Concentração aceitável do Analito $LD = 0 + t(n-1,1-\alpha).S$ ou seja, 3,143 vezes o

O LQ foi Calculado pelo branco da Amostra com Adição da menor Concentração aceitável do Analito $LQ = 0 + 10.s$ ou seja, desvio padrão amostral vezes 10.

Conclusão: LD = 0,153 LQ = 0,488	Observações: LD e LQ foi cálculo pela adição de uma cepa padrão de Escherichia coli em um branco de amostra (água estéril) e analisado quantitativamente pela técnica de inoculação em poços múltiplos (Quanti-Tray 2000)
--	---

Aprovador

	FORMULÁRIO		Código: FO 074	
	TÍTULO		Aprovada em 03/08/2020	
	PLANILHA DE CÁLCULOS DE VALIDAÇÃO E VERIFICAÇÃO DE MÉTODOS		Revisão: 6	Página: 3/12



Repetitividade	
Legenda:	Data da execução: 25/03/2022 a 26/03/2022
Resultados	
Entrada de dados	

Nível 1	Nível 2	Nível 3	Nº Replicatas	Resultado	Média	Desv. Pad.	C.V.
Klebsiela. pneumoniae ATCC13883 + QF-Coli	Escherichia coli ATCC25922 + QF-Coli	Pseudomonas aeruginosas ATCC27853 + QF-Coli	1	30,50000	29,64	0,802	2,71%
			2	29,00000			
			3	30,50000			
			4	29,00000			
			5	29,00000			
			6	30,50000			
			7	29,00000			
Escherichia coli ATCC25922 + QF-Coli	Pseudomonas aeruginosas ATCC27853 + QF-Coli	Klebsiela. pneumoniae ATCC13883 + QF-Coli	1	56,10000	54,67	1,336	2,44%
			2	53,60000			
			3	56,10000			
			4	56,10000			
			5	53,60000			
			6	53,60000			
			7	53,60000			
Pseudomonas aeruginosas ATCC27853 + QF-Coli	Klebsiela. pneumoniae ATCC13883 + QF-Coli	Escherichia coli ATCC25922 + QF-Coli	1	0,00000	0,00	0,000	#DIV/0!
			2	0,00000			
			3	0,00000			
			4	0,00000			
			5	0,00000			
			6	0,00000			
			7	0,00000			

Limite de repetitividade Nível 1		Limite de repetitividade Nível 2		Limite de repetitividade Nível 3	
t _{tab} (95%)	1,94	t _{tab} (95%)	1,94	t _{tab} (95%)	1,94
n	7	n	7	n	7
s	0,80200	s	1,33600	s	0,00000
r	2,20035	r	3,66542	r	0,00000

Conclusão:

Critério de aceitação para $CV \leq 20\%$ para medidas de propriedade.



Aprovador



	FORMULÁRIO	Código: FD 074	
	TÍTULO	Revisão	Página
PLANILHA DE CÁLCULOS DE VALIDAÇÃO E VERIFICAÇÃO DE MÉTODOS		6	4/12

Reprodutibilidade

Legenda:
Resultados
Entrada de dados

Nível 1			1,00		Nº Replicatas	Resultado	Média	Desv. Pad.	Variância
1,00									
Operator:	Maria Julia Mieli	Klebsiela. pneumoniae ATCC13883 + Collet - Idexx	1	29,0000	29,36	1,046	1,093406593		
			2	27,5000					
			3	27,5000					
			4	29,0000					
			5	30,5000					
			6	29,5000					
			7	30,5000					
Operator:	Amanda K. P. Zago	25/03/2022 a 26/03/2022	1	30,5000					
			2	29,0000					
			3	30,5000					
			4	29,0000					
			5	29,0000					
			6	30,5000					
			7	29,0000					

Limite de reprodutibilidade	
Nível 1	
$t_{\text{tab}} (95\%)$	1,94
n	7
S_R	1,046
R	2,86978
$DPRr = C.V.$	3,56%

$DPRr_{\text{(teórico)}}$	2,000
HORRAT	0,017813

$$DPRr = 2^{(1-0,5 \log C)}$$

Conclusão:

Critério de aceitação para $CV \leq 20\%$.

Valor de HORRAT ≤ 2 , os valores da reprodutibilidade do método são satisfatórios.



 ST ANALÍTICA Análises Químicas	FORMULÁRIO	Código: FO 074	
	TÍTULO	Revisão	Página
PLANILHA DE CÁLCULOS DE VALIDAÇÃO E VERIFICAÇÃO DE MÉTODOS		6	5/12

Reprodutibilidade

Legenda:

Resultados

Entrada de dados

Nível 2			1,00	Nº Replicatas	Resultado	Média	Desv. Pad.	Variância
			1,00					
Operator:	Maria Julia Mieli	Escherichia coli ATCC25922 + Colilet - Idexx	1	51,2000	53,98	1,892	3,578736264	
			2	51,2000				
			3	53,6000				
			4	56,1000				
			5	56,1000				
			6	53,6000				
			7	51,2000				
Operator:	Amanda K. P. Zago	25/03/2022 a 26/03/2022	1	56,1000				
			2	53,6000				
			3	56,1000				
			4	56,1000				
			5	53,6000				
			6	53,6000				
			7	53,6000				

Limite de reprodutibilidade	
Nível 2	
$t_{\text{tab}} (95\%)$	1,94
n	7
S_R	1,892
R	5,19084
$DPR_r = C.V.$	3,51%

DPR_r (teórico)	2,000
HORRAT	0,017525

$$DPR_r = 2^{(1-0,5 \log C)}$$

Conclusão:

Critério de aceitação para $CV \leq 20\%$.Valor de HORRAT ≤ 2 , os valores da reprodutibilidade do método são satisfatórios.



	FORMULÁRIO	Código: FO 074	
	TÍTULO	Revisão	Página
PLANILHA DE CÁLCULOS DE VALIDAÇÃO E VERIFICAÇÃO DE MÉTODOS		6	6/12

Reprodutibilidade

Legenda:
Resultados
Entrada de dados

Nível 3							
1,00			Nº Replicatas	Resultado	Média	Desv. Pad.	Variância
1,00							
Operator:	Maria Julia Mieli	Pseudomonas aeruginosas ATCC27853 + Colliert - Idexx	1	0,0000	0,00	0,000	0,000000000
			2	0,0000			
			3	0,0000			
			4	0,0000			
			5	0,0000			
			6	0,0000			
			7	0,0000			
Operator:	Amanda K. P. Zago	25/03/2022 a 26/03/2022	1	0,0000			
			2	0,0000			
			3	0,0000			
			4	0,0000			
			5	0,0000			
			6	0,0000			
			7	0,0000			

Limite de reprodutibilidade	
Nível 3	
t _{tab} (95%)	1,94
n	7
S _R	0,000
R	0,00000
DPRr = C.V.	#DIV/0!

DPRr (teórico)	2,000
HORRAT	#DIV/0!

$$DPRr = 2^{(1-0,5 \log C)}$$

Conclusão:

Critério de aceitação para CV ≤ 20%.

Valor de HORRAT ≤ 2, os valores da reprodutibilidade do método são satisfatórios.



Aprovador

 ST ANALÍTICA Análises Químicas	FORMULÁRIO		Código: FO 074
	TÍTULO		Aprovada em 03/05/2020
	PLANILHA DE CÁLCULOS DE VALIDAÇÃO E VERIFICAÇÃO DE MÉTODOS		Revisão: 6 Página:

7/12



Seletividade			
Legenda:		Tipo de Teste: Quantitativo - QF-Coli	
Resultados			
Entrada de dados			
Matriz: Água Tratada		Controle: Cepa: E.coli	
Nº Replicatas	Resultado	Média	Desv. Pad.
1	30,50000	29,75	0,866
2	29,00000		
3	29,00000		
4	30,50000		
		Variância	0,75000
Matriz: Água Bruta		Controle: Cepa: E.coli	
Nº Replicatas	Resultado	Média	Desv. Pad.
1	32,10000	30,93	1,489
2	30,50000		
3	32,10000		
4	29,00000		
		Variância	2,21583
Matriz: Água Tratada		Controle: Cepa: K. pneumoniae	
Nº Replicatas	Resultado	Média	Desv. Pad.
1	53,60000	55,27	1,443
2	56,10000		
3	56,10000		
4	53,60000		
		Variância	2,08333

F _{calc}	2,954
F _{tab} (95%)	9,277
n ₁	4
n ₂	4
n ₁ -1	3
n ₂ -1	3
S _{agrupado}	1,832

média variância	1,483
t _{calc}	0,45
t _{tab} (95%)	2,35

F _{calc}	2,910
F _{tab} (95%)	9,277
n ₁	4
n ₂	4
n ₁ -1	3
n ₂ -1	3
S _{agrupado}	3,047

F_{calc}	2,954
$F_{tab (95\%)}$	9,277
n_1	4
n_2	4
n_1-1	3
n_2-1	3
Sagrupo	1,832

média variância	1,483
t_{calc}	0,45
$t_{tab (95\%)}$	2,35

F_{calc}	2,910
$F_{tab (95\%)}$	9,277
n_1	4
n_2	4
n_1-1	3
n_2-1	3
Sagrupo	3,047

	FORMULÁRIO	Código FO 074
	TÍTULO	Aprovada em 03/08/2020
	PLANILHA DE CÁLCULOS DE VALIDAÇÃO E VERIFICAÇÃO DE MÉTODOS	Revisão: 6 Página

8/12



Matriz: Água Bruta		Controle: Cepa: K. pneumoniae	
Nº Replicatas	Resultado	Média	Desv. Pad.
1	58,80000	56,33	2,462
2	56,60000		
3	58,80000		
4	53,60000		
		Variância	6,06333

média variância 4,073
t_{calc} 0,25
t_{tab} (95%) 2,35

Matriz: Água Tratada		Controle: Cepa: P. aeruginosa	
Nº Replicatas	Resultado	Média	Desv. Pad.
1	0,000	0,00	0,000
2	0,000		
3	0,000		
4	0,000		
		Variância	0,00000

F_{calc} #DIV/0!
F_{tab} (95%) 9,277
n₁ 4
n₂ 4
n₁-1 3
n₂-1 3
Sagrupado 0,000

Matriz: Água Bruta		Controle: Cepa: P. aeruginosa	
Nº Replicatas	Resultado	Média	Desv. Pad.
1	0,000	0,00	0,000
2	0,000		
3	0,000		
4	0,000		
		Variância	0,00000

média variância 0,000
t_{calc} #DIV/0!
t_{tab} (95%) 2,35

Obs: Caso sejam testadas mais de uma matriz, criar nova aba de seletividade.

A Matriz não tem efeito importante sobre os resultados ($F_{calc} < F_{tab}$) ou se os testes nas matrizes forem iguais aos testes em água estéril
O Método é seletivo, sendo $t_{calc} < t_{tab}$ ou se os resultados dos testes qualitativos forem satisfatórios.



Aprovador

 ST ANALÍTICA Análises Químicas	FORMULÁRIO		Código: FO 074
	TÍTULO:		Aprovada em 03/09/2020
	PLANILHA DE CÁLCULOS DE VALIDAÇÃO E VERIFICAÇÃO DE MÉTODOS		Revisão: 6 Página:

9/12



Seletividade			
Legenda:		Tipo de Teste: Quantitativo - Colilert	
Resultados			
Entrada de dados			
Matriz: Água Tratada		Controle: Cepa: E.coli	
Nº Replicatas	Resultado	Média	Desv. Pad.
1	29,0000	28,25	0,866
2	27,5000		
3	27,5000		
4	29,0000		
		Variância	0,75000
Matriz: Água Bruta		Controle: Cepa: E.coli	
Nº Replicatas	Resultado	Média	Desv. Pad.
1	30,5000	30,55	2,169
2	32,1000		
3	27,5000		
4	32,1000		
		Variância	4,70333
Matriz: Água Bruta		Controle: Cepa: K. pneumoniae	
Nº Replicatas	Resultado	Média	Desv. Pad.
1	51,2000	53,63	2,341
2	51,2000		
3	53,6000		
4	56,1000		
		Variância	5,48250

F _{calc}	6,271
F _{tab} (95%)	9,277
n ₁	4
n ₂	4
n ₁ -1	3
n ₂ -1	3
S _{agrupado}	2,145

média	variância	2,727
t _{calc}		0,76
t _{tab} (95%)		2,35

F _{calc}	1,171
F _{tab} (95%)	9,277
n ₁	4
n ₂	4
n ₁ -1	3
n ₂ -1	3
S _{agrupado}	4,335

F_{calc}	6,271
$F_{tab (95\%)}$	9,277
n_1	4
n_2	4
n_1-1	3
n_2-1	3
Sagrado	2,145

média variância	2,727
t_{calc}	0,76
$t_{tab (95\%)}$	2,35

F_{calc}	1,171
$F_{tab (95\%)}$	9,277
n_1	4
n_2	4
n_1-1	3
n_2-1	3
Sagrado	4,335

	FORMULÁRIO	Código FO 074
	TÍTULO	Aprovada em 03/05/2020
	PLANILHA DE CÁLCULOS DE VALIDAÇÃO E VERIFICAÇÃO DE MÉTODOS	Revisão: 6 Página:

10/12



Matriz: Água Tratada		Controle: Cepa: K. pneumoniae	
Nº Replicatas	Resultado	Média	Desv. Pad.
1	56,1000	58,47	2,164
2	60,5000		
3	58,8000		
4	56,1000		
		Variância	4,68250

média variância	5,083
t _{calc}	0,79
t _{tab (95%)}	2,35

Matriz: Água Bruta		Controle: Cepa: P. aeruginosa	
Nº Replicatas	Resultado	Média	Desv. Pad.
1	0,000	0,00	0,000
2	0,000		
3	0,000		
4	0,000		
		Variância	0,00000

F _{calc}	#DIV/0!
F _{tab (95%)}	9,277
n ₁	4
n ₂	4
n ₁₋₁	3
n ₂₋₁	3
Sagrupado	0,000

Matriz: Água Bruta		Controle: Cepa: P. aeruginosa	
Nº Replicatas	Resultado	Média	Desv. Pad.
1	0,000	0,00	0,000
2	0,000		
3	0,000		
4	0,000		
		Variância	0,00000

média variância	0,000
t _{calc}	#DIV/0!
t _{tab (95%)}	2,35

A Matriz não tem efeito importante sobre os resultados ($F_{calc} < F_{tab}$) ou se os testes nas matrizes forem iguais aos testes em água estéril
O Método é seletivo, sendo $t_{calc} < t_{tab}$ ou se os resultados dos testes qualitativos forem satisfatórios.



Aprovador

 ST ANALÍTICA Análises Químicas	FORMULÁRIO		Código: F0 074
	TÍTULO:		Aprovada em: 03/05/2020
	PLANILHA DE CÁLCULOS DE VALIDAÇÃO E VERIFICAÇÃO DE MÉTODOS		Revisão: 6 Página:

11/12



Seletividade			
Legenda:		Tipo de Teste: Quantitativo - Colilert	
Resultados			
Entrada de dados			
Matriz: EFB - QF-Coli		Controle: Cepa: E.coli	
Nº Replicatas	Resultado	Média	Desv. Pad.
1	436,0000	426,00	11,547
2	416,0000		
3	436,0000		
4	416,0000		
		Variância	133,33333
Matriz: EFB - Colilert		Controle: Cepa: E.coli	
Nº Replicatas	Resultado	Média	Desv. Pad.
1	416,0000	421,00	10,000
2	416,0000		
3	436,0000		
4	416,0000		
		Variância	100,00000
Matriz: EFT - QF-Coli		Controle: Cepa: K. pneumoniae	
Nº Replicatas	Resultado	Média	Desv. Pad.
1	168,9000	166,17	2,367
2	164,8000		
3	164,8000		
4	168,9000		
		Variância	5,60333

F _{calc}	1,333
F _{tab (95%)}	9,277
n ₁	4
n ₂	4
n ₁₋₁	3
n ₂₋₁	3
Sagrupo	21,213

média variância	116,667
t _{calc}	0,17
t _{tab (95%)}	2,35

F _{calc}	1,115
F _{tab (95%)}	9,277
n ₁	4
n ₂	4
n ₁₋₁	3
n ₂₋₁	3
Sagrupo	4,465

	FORMULÁRIO	Código FO 074
	TÍTULO	Aprovada em 03/08/2020
	PLANILHA DE CÁLCULOS DE VALIDAÇÃO E VERIFICAÇÃO DE MÉTODOS	Revisão: 6 Página:

12/12



Matriz: EFT - Colilert		Controle: Cepa: K. pneumoniae	
Nº Replicatas	Resultado	Média	Desv. Pad.
1	164,8000	166,47	2,500
2	164,8000		
3	169,8000		
4	164,8000		
		Variância	6,25000

média variância 5,927
t_{calc} 0,05
t_{tab} (95%) 2,35

Matriz: EFB - QF-Coli		Controle: Cepa: P. aeruginosa	
Nº Replicatas	Resultado	Média	Desv. Pad.
1	0,000	0,00	0,000
2	0,000		
3	0,000		
4	0,000		
		Variância	0,00000

F_{calc} #DIV/0!
F_{tab} (95%) 9,277
n₁ 4
n₂ 4
n₁-1 3
n₂-1 3
Sagrupado 0,000

Matriz: EFB - Colilert		Controle: Cepa: P. aeruginosa	
Nº Replicatas	Resultado	Média	Desv. Pad.
1	0,000	0,00	0,000
2	0,000		
3	0,000		
4	0,000		
		Variância	0,00000

média variância 0,000
t_{calc} #DIV/0!
t_{tab} (95%) 2,35

A Matriz não tem efeito importante sobre os resultados ($F_{calc} < F_{tab}$) ou se os testes nas matrizes forem iguais aos testes em água estéril
O Método é seletivo, sendo $t_{calc} < t_{tab}$ ou se os resultados dos testes qualitativos forem satisfatórios.



Aprovador



RELATÓRIO TÉCNICO

Assunto: Desempenho de frascos de coleta microbiológica com tiosulfato produzidos pela Quimaflex.

Local dos Testes: Laboratório São Geraldo – Rua José Fernandes Braz, 60 A, Centro, CEP: 16290-000, Braúna-SP.

1. OBJETIVO

Comparar e validar o desempenho dos frascos frente à determinação de presença ou ausência de Coliformes totais e *Escherichia coli* em amostras de água e também testar o tiosulfato como inibidor de cloro residual livre nas amostras quando comparado com outros frascos disponíveis comercialmente que também atendem aos critérios estabelecidos na 23ª Edição do *Standard Methods for the Examination of Water and Wasterwater*.

2. DOCUMENTOS DE REFERÊNCIA

- Standard Methods for the Examination of Water and Wasterwater – Ed. 23th 2017

3. METODOLOGIA

3.1. Equipamentos, Materiais e Reagentes:

- Estufa ($35 \pm 0,5$) °C
- Frasco estéril, transparente e não fluorescente
- Cabine de Segurança Biológica
- Mesa Agitadora Q225M
- Frasco estéril e Substrato Enzimático QF-Coli – QUIMAFLEX – código fornecedor 4850
- DPD – QUIMAFLEX – código fornecedor 2648
- Água Estéril
- Camara Escura Com Transluminador UV
- Comparador colorimétrico
- Álcool 70%
- Papel Toalha

3.2. Limpeza prévia e Descontaminação de Superfícies

- 3.2.1. Desinfetar todas as superfícies de bancadas e capelas com ácido peracético 0,2%.
- 3.2.2. No caso de contaminação com material de cultura (derramamento, quebra de frascos), usar ácido peracético 0,2%.
- 3.2.3. Na capela de fluxo laminar deixar a luz UV ligada no mínimo 15 minutos antes de iniciar o trabalho e após o término.

3.3. Amostras utilizadas

- 3.3.1. Foram utilizadas amostras de matriz água coletadas em cliente.
- 3.3.2. Foram coletados 5 pontos de água tratada de reservatórios e 5 pontos de água tratada de redes de distribuição, com as seguintes nomenclaturas:
S1, S2, S3, S4, S5, R1, R2, R3, R4 e R5.
- 3.3.3. Foram utilizados 10 flaconetes de meio de cultura testado.
- 3.3.4. Foram utilizados 10 sachês de DPD testado.



3.4. Resultados

- 3.4.1. Foram utilizadas amostras de água tratada.
- 3.4.2. Os testes microbiológicos foram realizados no dia 02/02/2022, utilizando meio de cultura QF-Coli do fornecedor QUIMAFLEX.
- 3.4.3. Os testes de inibição do cloro foram realizados utilizando DPD do fornecedor QUIMAFLEX.
- 3.4.4. Os quadros a seguir mostram os resultados obtidos por meio da utilização de água estéril + substrato enzimático e também de análise de cloro residual livre após a coleta.

SUBSTRATO ENZIMÁTICO – QF-Coli – QUIMAFLEX			
Alvo	Branco da Amostra	Água Estéril + Substrato Enzimático	Análise de Cloro Residual Livre
Resultado Esperado	Negativo – Sem Crescimento	Não Amarelar e Não Fluorescer	Resultado menor que o L.Q. do método
S1	SATISFATÓRIO	SATISFATÓRIO	<L.Q.
S2	SATISFATÓRIO	SATISFATÓRIO	<L.Q.
S3	SATISFATÓRIO	SATISFATÓRIO	<L.Q.
S4	SATISFATÓRIO	SATISFATÓRIO	<L.Q.
S5	SATISFATÓRIO	SATISFATÓRIO	<L.Q.
R1	SATISFATÓRIO	SATISFATÓRIO	<L.Q.
R2	SATISFATÓRIO	SATISFATÓRIO	<L.Q.
R3	SATISFATÓRIO	SATISFATÓRIO	<L.Q.
R4	SATISFATÓRIO	SATISFATÓRIO	<L.Q.
R5	SATISFATÓRIO	SATISFATÓRIO	<L.Q.

4. Comentários e Conclusões

- 4.1.1. Os ensaios e as amostragens foram realizados pelo Laboratório São Geraldo, com procedimento acreditado pela CGCRE com base nos critérios estabelecidos pela *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* 23ª Edição, metodologia 9223 B – Teste Substrato Enzimático.
- 4.1.2. As atividades de ensaios foram realizadas por pessoal habilitado, de forma imparcial, isenta, confidencial e sem qualquer pressão comercial ou administrativa.
- 4.1.3. A conclusão dos resultados teve como referência as amostras sendo testadas com os dois substratos de diferentes fabricantes
- 4.1.4. A conclusão dos resultados teve como referência 40 amostras (10 amostras analisadas com 4 padrões de contaminação), sendo eles:

- Controle da amostra = (Amostra apenas)



- Amostra Contaminada = (Amostra + *Escherichia coli* + Interferente)
- Amostra Contaminada = (Amostra + *Klebsiella aerogenes* + Interferente)
- Amostra Contaminada = (Amostra + *Pseudomonas aeruginosa*)

4.1.5. O meio fornecido pela QUIMAFLEX foi o QF-Coli – lote 200722051.

4.1.6. O meio fornecido pela IDEXX foi o Colilert – lote FS608.

4.1.7. Com base nos resultados obtidos, pode-se concluir que os dois meios avaliados se mostraram equivalentes e validados para a aplicação no ensaio definido na metodologia 9223 B do Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater – 23ª edição – 2017.

Braúna, 14 de junho de 2021.


Salissa Perosa Caldeira Diaris
Biomédica Responsável Técnica
CRBM 28604
Gerente da Qualidade – Laboratório São Geraldo



Estudo comparativo de dois meios de cultura para a determinação de coliformes totais e *e.coli* em amostras de água de abastecimento

Lívia Botacini Favoretto Pigatin¹

Fernanda Benetti¹

Rut Naiara Rodrigues¹

Sidinei Tacão Júnior²

Julio Cesar Trofino¹

Juliano José Corbi¹

¹ Laboratório de Saneamento, Departamento de Hidráulica e Saneamento, Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo – Avenida Trabalhador São Carlense, 400, Parque Arnold Schmidt, São Carlos, SP. CEP 13566-590. Fone (16) 3373 9554.

² Quimaflex Produtos Químicos, Avenida Luiz Disperati, 264, 8º Distrito Industrial, Araraquara, SP. CEP 14808-161. Fone (16) 3461 1691.

Resumo

A ocorrência de *escherichia coli* é considerada um indicador específico de contaminação fecal e a possível presença de patógenos entéricos em águas de abastecimento. O meio de cultura QFColi® foi recentemente inserido no mercado nacional no contexto de testes rápidos para detecção de coliformes totais e *e. coli*. O objetivo deste trabalho foi testar a eficiência do QFColi® em comparação ao Colilert®, internacionalmente conhecido na determinação da presença e ausência de coliformes totais e *e. coli* em amostras de água de poços artesianos e minas, antes e após o tratamento para consumo humano. As contagens de coliformes totais e *e. coli* foram



realizadas utilizando dois meios de cultura distintos; o Colilert® e o QFColi® em amostras coletadas de diferentes pontos: saída de tratamento (água tratada) e saída do poço (água *in natura*, sem qualquer tipo de tratamento). Nos dois meios de cultura, os resultados se mostraram equivalentes em 93,75% das amostras.

Abstract

The occurrence of *escherichia coli* is considered a specific indicator of faecal contamination and the possible presence of enteric pathogen in water supply. The QFColi® culture medium was recently inserted in the national market in the context of rapid tests for the detection of total coliforms and *e. coli*. The aim of this work was to test the efficiency of QFColi® compared to Colilert®, internationally known for determining the presence and absence of total coliforms and *e.coli* in water samples from artesian wells, mine before and after treatment for human consumption. The total coliforms and *e. coli* count were performed using two distinct culture media; Colilert® and QFColi® in samples collected of different points: treatment outlet (treated water) and well outlet (fresh water, without any type of treatment). In both culture media, the results were equivalent in 93,75% of the samples.

Palavras-chave

Água de abastecimento, Coliformes totais, *escherichia coli*, Colilert®, QFColi®

Introdução

Apesar de todos os esforços para armazenar e diminuir o seu consumo, a água está se tornando, cada vez mais, um bem escasso, e sua qualidade se deteriora cada vez mais rápido¹. A importância de se tratar a água destinada ao consumo humano está



diretamente relacionada a minimizar a quantidade de contaminantes físico-químicos e biológicos associados a diversos problemas de saúde². Dentre os patógenos mais comuns, encontram-se a *salmonella spp.*, *shigella spp.*, *escherichia coli* e *Campylobacter*. Com base nestas características, existe a preocupação de monitorar as águas de abastecimento público e verificar se as mesmas se encontram em condições de potabilidade de forma que não ofereça nenhum risco à saúde da população³.

Atualmente, está em vigor a Portaria de Consolidação nº 5 de 28 de setembro de 2017, do Ministério da Saúde (MS), a qual, em seu anexo XX, trata do controle e da vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade e define os valores máximos permitidos para as características bacteriológicas, organolépticas, físicas e químicas⁴.

A fiscalização e o controle do cumprimento das normas e do padrão de potabilidade são feitos pelas Secretarias de Saúde dos Municípios, Estados e Distrito Federal, em articulação com o MS, por meio da vigilância da qualidade da água para consumo humano. Esta vigilância é definida pela Portaria de Potabilidade como um conjunto de ações adotadas regularmente pela autoridade de saúde pública para verificar o atendimento da norma, considerados os aspectos socioambientais e a realidade local, para avaliar se a água consumida pela população apresenta riscos à saúde humana⁵.

Assim, o monitoramento das condições sanitárias de água para consumo (geralmente realizado por análises das bactérias do grupo coliforme) deve ser realizado para obtenção de um controle efetivo, pois ações destinadas à estruturação da vigilância rotineira da qualidade da água são indispensáveis para determinar a segurança para o consumo, buscando a proteção à saúde pública⁶.

Na determinação de coliformes, realiza-se a diferenciação entre os de origem fecal e não-fecal. Os coliformes não-fecais são encontrados no solo e vegetais, sendo capazes



de se multiplicarem na água com relativa facilidade. No entanto, os coliformes de origem fecal (oriundos de fezes de animais de sangue quente), não se multiplicam facilmente no ambiente externo e são capazes de sobreviver de modo semelhante às bactérias patogênicas⁷. A ocorrência de *e. coli* é considerada um indicador específico de contaminação fecal e a possível presença de patógenos entéricos⁸ sendo portanto tendência atual o uso da detecção específica de *e. coli*, e não mais de bactérias do grupo coliformes termotolerantes⁹.

Os métodos rápidos, utilizando os meios de cultura Colilert® e Colitag®, aprovados pela United States Environmental Protection Agency (USEPA), usados para detecção e contagem de coliformes totais e *e. coli*, são vantajosos por utilizarem apenas um meio de cultura apresentando o resultado em 24 horas, possibilitando ações corretivas, caso seja detectada a contaminação da água, impedindo o consumo de uma água possivelmente contaminada pela população¹⁰. Nesse contexto, um novo meio de cultura, de origem nacional, o QFColi®, foi recentemente inserido no mercado. O mecanismo de detecção de coliformes totais e *e. coli*, bem como a metodologia utilizada, são iguais aos dos métodos anteriormente citados.

O objetivo deste trabalho foi testar a eficiência do QFColi® em comparação ao Colilert®, na determinação da presença e ausência de coliformes totais e *e. coli* em amostras de água de poços artesianos e minas antes e após o tratamento para consumo humano.

Materiais e Métodos

As amostras de água foram coletadas em São Carlos, SP, em abril de 2020. Foram coletadas 64 amostras de 32 pontos aleatórios, sendo 32 amostras de água bruta (*in natura*) e 32 amostras de água tratada. Para a amostragem, a torneira foi previamente



higienizada com solução de álcool 70% por meio de pulverização interna e externa. Ao ser aberta, a água foi escoada por um determinado período, visando eliminar impurezas e água acumulada na canalização. As coletas foram feitas em frascos estéreis contendo uma pastilha tiosulfato de sódio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$). Os frascos foram abertos somente no momento exato da coleta e fechados imediatamente. Foram coletados 100,0 mL por amostra. Em frasco separado também foi coletado amostra para leitura do pH, temperatura e quantificação do teor de cloro residual livre (essas medidas foram feitas em campo).

A amostragem, o armazenamento e o transporte das amostras, foram feitos segundo a metodologia citada no Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 23ª edição, 2017.

As amostras foram analisadas em um prazo máximo de 24 horas no Laboratório de Saneamento, vinculado à Escola de Engenharia de São Carlos, da Universidade de São Paulo, o qual possui acreditação do INMETRO de acordo com a NBR ISO/IEC 17025, com o CRL 1286, para a realização destes ensaios.

A metodologia oficial para o ensaio de presença e ausência de coliformes totais e *e. coli* está descrita no Standard Methods of Water and Wastewater, 23ª edição, 2017, método 9223 B¹¹. A rota experimental consiste em adicionar, assepticamente, um “flaconete” do substrato enzimático reconhecido internacionalmente (Colilert®), ao frasco contendo 100,0 mL de amostra. Tampar o frasco e agitar até a completa dissolução do substrato. Após, colocar o frasco na estufa de incubação a $35,5 \pm 1,0^\circ\text{C}$ por 24 horas. O mesmo procedimento foi realizado usando um flaconete do substrato enzimático nacional (QF Coli®).

Após o período de incubação, os frascos foram retirados da estufa para observação quanto à mudança de coloração. A cor amarela indica presença de coliformes totais. Em seguida, o



frasco foi colocado na cabine de leitura com lâmpada ultravioleta a 365-366 nm. A fluorescência (azul) indica a presença de *e. coli*. A ausência dos microrganismos ocorre quando não há desenvolvimento algum de coloração durante as 24 horas de incubação.

Para fins de garantia de qualidade dos resultados, em cada batelada de incubação também foram incubados frascos previamente preparados utilizando-se materiais de referência certificados para controle positivo (*e. coli*) e negativo (*pseudomonas aeruginosa*).

Os ensaios foram feitos em duplicata e a estatística foi feita pela análise de variância dos dados e aplicou-se o teste de Tukey utilizando-se o programa Microsoft Excel.

Resultados

A Tabela 1 apresenta os resultados de teor de Cloro, pH, e presença ou ausência de coliformes totais e *e. coli* para todos os pontos.

Como pode-se observar na Tabela 1, de 32 amostras de água tratada coletadas em pontos aleatórios da cidade de São Carlos, SP, 30 tiveram o mesmo resultado para os dois tratamentos testados. O mesmo pode ser observado para as amostras de água bruta (*in natura*). O teste comparativo teve resultado de 93,75% de aproveitamento. Para as amostras de controle positivo (*escherichia coli*) e negativo (*pseudomonas aeruginosa*) testadas para garantia de qualidade do método em cada batelada de amostras analisadas, 100,0% dos resultados foram compatíveis para QFColi® e Colilert®.

Outro estudo comparou Colitag®, Colilert® e FTM (fermentação em tubos múltiplos) para contagem de coliformes fecais e *e. coli* em amostras de água coletadas de três diferentes pontos (abastecimento, bica e rio). Nas contagens de coliformes totais em amostras de água provenientes de bica e de abastecimento e nas contagens de *e. coli* em amostras de água coletadas de abastecimento, bica e rio, as técnicas Colilert® e Colitag® mostraram resultados equivalentes aos da metodologia FTM. Nas análises de coliformes totais em



amostras de água do rio, a técnica de FTM apresentou diferenças significativas quando comparada aos testes rápidos. Esta diferença pode ter ocorrido pela maior capacidade das técnicas Colilert® e Colitag® em recuperar as células danificadas pelo cloro¹⁰.

Conclusão

Não houve diferença significativa entre os resultados das amostras incubadas com Colilert® e QFColi®. O método QFColi® mostrou-se tão eficiente quanto o Colilert® na determinação da presença ou ausência de coliformes totais e *e. coli* em amostras de água de poços artesianos e mina antes e após o tratamento para consumo humano. Assim como o Colilert®, o QFColi® apresentou-se como um substrato rápido e prático para determinação de presença e ausência de coliformes totais e *e. coli*, e de menor custo por ser um produto nacional.

Agradecimentos

Referências

- 1 FREITAS, Marcelo Bessa de; BRILHANTE, Ogenis Magno; ALMEIDA, Liz Maria de. Importância da análise de água para a saúde pública em duas regiões do Estado do Rio de Janeiro: enfoque para coliformes fecais, nitrato e alumínio. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro , v. 17, n. 3, p. 651-660, June 2001 . Available from <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-311X2001000300019&lng=en&nrm=iso>. access on 18 June 2020. <https://doi.org/10.1590/S0102-311X2001000300019>
- 2 TORRES, D. A. G. V. CHIEFFI P.P.; COSTA W. A.; KUDZIELICS E. Giardíase em



creches mantidas pela prefeitura do município de São Paulo, 1982/1983. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v.33, p. 137- 141, 2000.

3 FREITAS, V. P. S. Padrão físico-químico da água de abastecimento público da região de Campinas. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, Campinas, v.61, n.1, p. 51-58, 2002.

4 Brasil. Ministério da Saúde. Portaria de Consolidação MS/GM nº 5, de 28 de setembro de 2017. Consolidação das normas sobre as ações e os serviços de saúde do Sistema Único de Saúde [Internet]. **Diário Oficial da União**, Brasília (DF), 2017 out 3 [citado 2019 fev 5]; Suplemento:360-568. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2017/prc0005_03_10_2017.html

5 Júnior A. O. et al. Sistema de Informação de Vigilância da Qualidade da Água para Consumo Humano (Sisagua): características, evolução e aplicabilidade. 12 **Epidemiol. Serv. Saude**, Brasília, 28(1):e2018117, 2019.

6 Portp, M.A.L.. Coliformes em água de abastecimento de lojas fast-food da região metropolitana de Recife-PE. *Cien Saude Colet* [periódico na internet] (2008/Jun). [Citado em 18/06/2020]. **Está disponível em:** <http://www.cienciaesaudecoletiva.com.br/artigos/coliformes-em-agua-de-abastecimento-de-lojas-fastfood-da-regiao-metropolitana-de-recifepe/2335?id=2335>

7 ZULPO, D. L., PERETTI, J., ONO, L. M., GARCIA, J. L. Avaliação microbiológica da água consumida nos bebedouros da Universidade Estadual do Centro-Oeste, Guarapuava, Paraná, Brasil. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.27, n.1, p. 107-



110, 2006.

8 GUERRA, N. M. M.; OTENIO, M. H.; SILVA, M. E. Z.; GUILHERMETTI, M.; NAKAMURA, C. V.; NAKAMURA, T. U.; DIAS FILHO, B. P. Ocorrência de *Pseudomonas aeruginosa* em água potável. **Acta Sci. Biol. Sci.**, v.28, n.1, p.13-18, 2006.

9 Silva N, Catanúsio Neto R, Junqueira VCA, Silveira NFA. **Manual de métodos de análise microbiológica da água**. São Paulo: Varela; 2005.

10 MARQUEZI, M.C., GALLO C.R., DIAS, C.T.S. Comparação entre métodos para a análise de coliformes totais e *E. coli* em amostras de água. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v.69, n.3, p. 291-296, 2010.

11 **Standard Methods of Water and Wastewater**, 23ed, 2017, método 9223 B.

Tabelas

Tabela 1. Teor de Cloro, pH e presença/ausência de Coliformes Totais e *e. coli*.

ID AMOSTRA	DIA DA COLETA	PONTO DE COLETA	CLORO (mg/L)	pH	QFCOLI®	COLILERT®
1	09/04	A Saída do tratamento	1,07	5,26	ausente	ausente
2	09/04	A Poço	-----	-----	ausente	ausente
3	14/04	B Saída do tratamento	0,60	6,00	ausente	ausente
4	14/04	B Poço	-----	-----	ausente	ausente
5	16/04	C Saída do	0,22	6,83	ausente	ausente



tratamento						
6	16/04	C poço	-----	-----	ausente	ausente
7	16/04	D Saída do Tratamento	0,04	5,69	ausente	ausente
8	16/04	D Poço	-----	-----	ausente	ausente
9	16/04	E Saída do tratamento	0,23	5,02	ausente	ausente
10	16/04	E Poço	-----	-----	ausente	ausente
11	20/04	F Saída do tratamento	0,69	6,78	ausente	ausente
12	20/04	F Poço	-----	-----	ausente	ausente
13	20/04	G Saída do tratamento	0,20	5,73	coliformes totais	coliformes totais
14	20/04	G Poço	-----	-----	coliformes totais	coliformes totais
15	20/04	H Saída do tratamento	1,39	5,74	ausente	ausente
16	20/04	H Poço	-----	-----	ausente	ausente
17	20/04	I Saída do tratamento	1,37	5,86	ausente	ausente
18	20/04	I Poço	-----	-----	ausente	ausente
19	20/04	J Saída do tratamento	1,82	6,53	ausente	ausente
20	20/04	J Poço	-----	-----	ausente	ausente
21	20/04	K Saída do tratamento	0,50	7,06	ausente	ausente
22	20/04	K Poço	-----	-----	ausente	ausente
23	22/04	L Saída do tratamento	1,03	5,65	ausente	ausente
24	22/04	L Poço	-----	-----	ausente	ausente
25	22/04	M Saída do	0,31	7,41	ausente	ausente



tratamento						
26	22/04	M Poço	-----	-----	ausente	ausente
27	22/04	N Saída do tratamento	0,20	6,10	coliformes totais	ausente
28	22/04	N Poço	-----	-----	coliformes totais	ausente
29	22/04	O Saída do tratamento	2,00	6,73	ausente	ausente
30	22/04	O Poço	-----	-----	ausente	ausente
31	22/04	P Saída do tratamento	0,86	5,67	coliformes totais	coliformes totais
32	22/04	P Poço	-----	-----	coliformes totais	coliformes totais

Assinado por MARILIA BARBOSA DE FARIA
 114.***_***_***
 SERVIÇO AUTÔNOMO DE ÁGUA E ESGOTO - SAAE
 29/09/2026 09:41:51