

## QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DA ÁGUA DE PISCINAS DE CLUBE ESPORTIVO DE BOTUCATU-SP, BRASIL

Helio Langoni<sup>1</sup>  
Marcella Zampoli Troncarelli<sup>2</sup>  
Luiz Carlos de Souza<sup>3</sup>  
Rodrigo Costa da Silva<sup>2</sup>

### RESUMO

Considerando a importância epidemiológica em saúde pública de águas recreacionais no Brasil, bem como a escassez de pesquisas realizadas sobre o tema no país, o objetivo do presente estudo foi avaliar a qualidade microbiológica de amostras de água de piscinas aquecida e sem aquecimento em clube esportivo localizado na cidade de Botucatu-SP. Foram estudadas 26 amostras de água, sendo 13 amostras de piscinas aquecidas e 13 de piscinas sem aquecimento. As amostras foram submetidas ao cultivo microbiológico e à técnica do Número Mais Provável (NMP) para a determinação do NMP de coliformes totais e termotolerantes. Todas as amostras provenientes de piscinas aquecidas e 38,5% de piscinas sem aquecimento apresentaram-se contaminadas por coliformes totais, enquanto que 54% e 15,4%, respectivamente, estavam contaminadas por coliformes termotolerantes. O cultivo microbiológico permitiu o isolamento de enterobactérias, *Staphylococcus* spp. e *Streptococcus* spp. O estudo, apesar de local, representa um alerta sobre a necessidade de constante monitoramento sanitário de águas recreacionais nas mais diferentes regiões brasileiras, especialmente considerando suas características climáticas, que predis põem à intensa multiplicação de micro-organismos. Tais estudos poderão contribuir para a compreensão da situação epidemiológica de águas recreacionais no país e a tomada de medidas sanitárias com vistas à proteção à saúde pública.

**Palavras-chave:** água, piscinas, saúde pública, enterobactérias, coliformes.

### MICROBIOLOGICAL QUALITY OF WATER FROM SWIMMING POOLS OF A SPORT CLUB IN BOTUCATU-SP, BRAZIL

### ABSTRACT

The aim of this study was to determine the microbiological quality of thermal and non-thermal swimming pool water of sport club from Botucatu-SP, Brazil. Twenty-six samples of water were collected from 13 samples thermal and 13 non-thermal swimming pools. Samples were evaluated for the probable number of total and fecal coliforms, by multiple tube fermentation technique. From 100% water samples of thermal and 38.5% of non-thermal swimming pools the contamination by total coliforms was verified. In 54% and 15.4% samples obtained from thermal and non-thermal swimming pools, respectively, the contamination by fecal coliforms was confirmed. Enterobacteria, *Staphylococcus* spp. and *Streptococcus* spp. were isolated from samples. These results reinforce that a constant sanitary

<sup>1</sup> Docente do Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública. Área de Medicina Veterinária Preventiva. Universidade Estadual Paulista. Contato principal para correspondência

<sup>2</sup> Pós-doutorando do Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública. Área de Medicina Veterinária Preventiva. Universidade Estadual Paulista

<sup>3</sup> Professor aposentado do Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública. Área de Medicina Veterinária Preventiva. Universidade Estadual Paulista.

monitoring of the recreational water to control the contamination levels is needed, especially in tropical countries, in order to protect public health.

**Keywords:** water, swimming pool, public health, enterobacteria, coliforms.

## CALIDAD MICROBIOLÓGICA DEL AGUA DE PISCINAS DE UN CLUB DEPORTIVO DE BOTUCATU-SP, BRASIL

### RESUMEN

El objetivo del estudio fue determinar la calidad microbiológica del agua de piscinas, de dos tipos (convencional y climatizada), en un club deportivo localizado en la ciudad de Botucatu-SP, Brasil. Fueron obtenidas 26 muestras de agua, siendo 13 de piscinas convencionales y 13 de piscinas climatizadas. Para la determinación del número más probable de coliformes totales y fecales se realizó la técnica de fermentación en tubos múltiples. 100% de las muestras provenientes de piscina climatizada y 38,5% de las piscinas convencionales estaban contaminadas por coliformes totales, mientras que para coliformes fecales se verificó positividad en 54% y 15,4% de las muestras, respectivamente. En el cultivo microbiológico, fueron aisladas algunas enterobacterias, *Staphylococcus* spp. y *Streptococcus* spp. Estos resultados refuerzan la necesidad de un constante monitoreo sanitario de aguas recreacionales, especialmente en países tropicales, a fin de controlar los niveles de contaminación, para la protección a la salud pública.

**Palabras clave:** agua, piscinas, salud pública, enterobacterias, coliformes.

### INTRODUÇÃO

Sendo o Brasil um país de clima tropical, a prática de frequentar clubes esportivos, especialmente no verão, é bastante comum entre as pessoas. Nesta estação, a temperatura ambiente e a umidade relativa do ar permanecem elevadas, estabelecendo condições propícias à proliferação de inúmeras espécies de micro-organismos, como bactérias, fungos, algas, entre outros; em diversos ambientes, inclusive na água de piscinas. Esta situação é agravada especialmente em clubes esportivos, onde um grande número de pessoas de idades variáveis frequenta as piscinas, aumentando o risco da ocorrência de infecções (1).

Em diferentes países, o controle higiênico-sanitário de águas recreacionais está marcadamente definido, e são estabelecidos padrões para um monitoramento constante e eficiente da qualidade microbiológica da água (2,3). Inúmeras espécies de micro-organismos potencialmente patogênicos, tais como *Escherichia coli* (4), *Mycobacterium marinum* (5,6,7), *Legionella* spp. (8) e *Staphylococcus aureus* (9) têm sido isoladas a partir de amostras de água de piscinas públicas, balneários, lagos, entre outros, com níveis de contaminação superiores aos determinados pela legislação (10). Em um grande número de casos, há correlação do isolamento destes micro-organismos com surtos de enterotoxemias, dermatoses bacterianas ou micóticas, meningoencefalites, acometendo usuários de piscinas ou de águas recreacionais não tratadas (4-10). Por outro lado, no Brasil ainda são escassos os estudos referentes a este tema (11-13), o que evidencia a importância da presente pesquisa, e ressalta a necessidade de contínuo monitoramento da qualidade de águas recreacionais nas diferentes regiões brasileiras, para o direcionamento estratégico de controle sanitário, de modo a garantir a proteção à saúde pública.

A análise microbiológica da água utilizada para fins recreacionais tem sido relatada como importante método auxiliar no controle dos níveis de contaminação (14). Fezes de

gaivotas contribuem para a contaminação das águas dos Grandes Lagos norte-americanos, onde banhistas realizam atividades esportivas e recreacionais. Os principais patógenos, presentes nas fezes dessas aves, e envolvidos neste processo são *E. coli* ( $10^5$  a  $10^9$ UFC/g) e *Enterococcus* spp. ( $10^4$  a  $10^8$ UFC/g) (4). Estudos microbiológicos em amostras de água que apresentavam aspecto turvo, colhidas de piscinas e banheiras, revelaram isolamento de várias espécies de enterobactérias, que apresentavam populações significativamente superiores às determinadas pela legislação (1). Surtos de enterotoxemia em crianças que frequentavam piscinas públicas foram relatados (15), bem como ocorrência de febre (4), dermatites (5), leptospirose (16), micobacterioses (17) e outras enfermidades (10) em usuários de piscinas ou águas recreacionais não tratadas. Com a evolução e adaptação de *Escherichia coli* O157:H7, vários pesquisadores passaram a comprovar a resistência da bactéria, tanto em produtos alimentares como em águas recreacionais, reforçando o risco epidemiológico para a ocorrência de infecções e surtos (4,15).

Em 12 piscinas da cidade de Bolonha, Itália, verificou-se risco de se contrair infecções causadas por *Legionella* spp., principalmente a *L. pneumophila*, que é frequentemente isolada de sistemas de distribuição de águas térmicas, de torres de resfriamento de condicionadores de ar. Este patógeno está relacionado à ocorrência de infecções pulmonares graves, sendo mais frequentemente isolado em água de chuveiros (27/48 – 56,25%) que em água de piscinas (2/48 – 4,17%), em concentrações que variaram de 10 a  $19,25 \times 10^3$ UFC.  $100\text{mL}^{-1}$  (8). *Pseudomonas aeruginosa*, outro micro-organismo relacionado a infecções pulmonares severas, também foi isolado em amostras de água de piscinas (22/48 – 45,83%), com populações variando de 1,5 a  $2 \times 10^3$ UFC.  $100\text{mL}^{-1}$ , seguido de *Acinetobacter junii*, *Comamonas testosteroni*, *P. alcaligenes*, entre outros. *Staphylococcus aureus* foi isolado em cinco amostras, em concentrações que variaram de 1 a 10 UFC.  $100\text{mL}^{-1}$  (9).

*P. aeruginosa* é um indicador de qualidade da água de banho, caracterizado como patógeno oportunista, podendo se disseminar na água e provocar surtos causados por contato com águas de piscinas, assim como *S. aureus*. Portanto, a qualidade das águas das piscinas serve como indicador tradicional de poluição fecal. Em piscinas cobertas, são de grande importância os micro-organismos eliminados em grandes quantidades pelos próprios banhistas. Já em piscinas não cobertas, associa-se ainda a contaminação por agentes potencialmente patogênicos provenientes de excrementos de animais (18).

Centenas de milhões de bactérias são eliminadas pela pele durante a prática da natação. Outras fontes são a saliva, assim como a microbiota intestinal e as genitálias, podendo causar vários tipos de infecções oculares, auriculares e dermatológicas, além de infecções dos trato gastrintestinal, respiratório, neurológico e/ou genito-urinário (10).

Em fontes de água corrente ou até mesmo piscinas, traumas de tecidos moles permitem a infecção por *Aeromonas* spp., podendo causar celulite invasiva. Patógenos cutâneos menos invasivos, causadores de lesões nodulares indolores ou ulcerativas, incluem *M. marinum* e *Prototheca* spp. (5-7).

Algumas espécies de micobactérias tais como *M. kansasii*, podem colonizar sistemas de distribuição de água, enquanto *M. xenopi* e *M. avium* estão mais comumente associadas aos sistemas de águas térmicas. Em contraste, *M. marinum* pode causar infecção a partir de abrasões na pele, em piscinas. Tais bactérias podem estar presentes nas fezes de animais infectados contaminando diversas fontes de água, seja para recreação ou ingestão (5-7,17).

*M. marinum*, uma micobactéria atípica de águas frescas, deve ser considerada importante para a saúde pública, pois apesar da transmissão ser rara em piscinas, e mais comum no mar, pode ser transmitida aos humanos causando infecção granulomatosa localizada na pele, com traumas menores nas mãos, caso a cloração da água não seja realizada adequadamente (5).

O controle preventivo da multiplicação de micro-organismos em águas recreacionais, especialmente piscinas, deve ser realizado com a utilização de desinfetantes adequados, em concentrações específicas, que apresentem ação antimicrobiana satisfatória e segura para os banhistas (19,20). Verificou-se a inativação total de *P. aeruginosa*, *E. coli*, *L. pneumophila*, *S. aureus* e *Candida albicans*, em águas de piscinas, sob a ação do hipoclorito de sódio a 1ppm, 10, 20 e 30 minutos após exposição, em comparação a resultados inferiores dos produtos baseados em peróxido de hidrogênio, com ou sem íons prata (20). Assim, na desinfecção de piscinas, o hipoclorito apresentou maior eficiência.

Com efeito, considerando os riscos que as diferentes espécies de contaminantes microbiológicos de água representam à saúde pública; bem como a importância epidemiológica da realização de monitoramento constante da qualidade de águas recreacionais, e ainda levando-se em conta a escassez de pesquisas realizadas no Brasil sobre este tema, o objetivo do presente estudo foi a avaliação microbiológica de amostras de água colhidas das piscinas aquecida e sem aquecimento de um clube esportivo de Botucatu-SP, Brasil, por meio de cultivo microbiológico, contagem de unidades formadoras de colônias (UFC. mL<sup>-1</sup>); determinação do número mais provável (NMP. 100 mL<sup>-1</sup>) de coliformes totais e termotolerantes, além da pesquisa de *Mycobacterium* spp. e de *Prototheca* spp.

## MATERIAL E MÉTODOS

### *Local do estudo e amostragem*

Foram colhidas 26 amostras de água, sendo 13 de piscinas aquecidas e 13 de piscinas sem aquecimento, em um clube esportivo localizado no município de Botucatu-SP, Brasil. Esse município está localizado à latitude 22°53'09" sul, e longitude 48°26'42" oeste, à altitude de 804m, a 235km da capital São Paulo-SP, na região centro-sul do Estado, ocupando hoje uma área de 1.483 km<sup>2</sup>, e com uma população estimada de 127.328 habitantes, em 2014 (21).

Cada amostra foi colhida semanalmente, durante os meses de setembro a dezembro (verão), em dias e horários aleatórios, de forma a evitar vieses. Foram utilizados frascos estéreis de vidro com tampa plástica rosqueável, contendo 0,2 mL de solução a 1,8% de tiosulfato de sódio para a coleta das amostras (em volume mínimo de 100 mL).

Antes da colheita, a água das piscinas era homogeneizada por sistema mecânico de circulação, durante pelo menos dez minutos. Após isso, os frascos eram imersos manualmente em profundidade aproximada de 50 cm a partir da superfície da água (18), para preenchimento do frasco. As amostras eram mantidas refrigeradas para transporte, sendo que o tempo decorrido entre a colheita e o início do procedimento laboratorial não excedia seis horas. Todos os procedimentos laboratoriais foram realizados no Laboratório de Epidemiologia e Saneamento, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, UNESP, Campus de Botucatu, SP.

### *Determinação da contaminação por coliformes totais e termotolerantes*

Para a determinação de coliformes, foi realizado o cálculo do Número Mais Provável (NMP) de coliformes totais e termotolerantes por 100 mL da amostra, pela técnica de Tubos Múltiplos, que consiste em uma estimativa da densidade média de bactérias do grupo coliforme em uma amostra, calculada a partir da combinação de resultados positivos e negativos (22).

Realizaram-se duas etapas, uma presuntiva e outra confirmatória, devido às reações ácidas e gasosas serem causadas também por outros organismos (não-alvos) (22,23). A primeira etapa foi realizada em tubos de ensaio, contendo tubos de Durham em seu interior,

incubados em estufa a 35°C ( $\pm 2^\circ\text{C}$ ), com leituras 24 e 48 horas após. Na etapa confirmatória, as culturas positivas foram transferidas para caldo lactosado bile verde brilhante (CLBVB), incubados em estufa a 35°C ( $\pm 0,5^\circ\text{C}$ ) por 48 horas (20), e para tubos com caldo EC (*Escherichia coli*), incubados em banho-maria a 44,5°C ( $\pm 0,5^\circ\text{C}$ ) por 48 horas (23).

Foram considerados positivos para coliformes totais e termotolerantes, os tubos que revelaram produção de gás, verificada pelo aprisionamento de bolhas de ar nos tubos de Durham, após a incubação. De acordo com os resultados positivos e utilizando a tabela dos NMP (Tabela de Hopkins), determinou-se o NMP. 100 mL<sup>-1</sup> de coliformes totais e termotolerantes por amostra de água, comparando-se aos padrões oficiais vigentes (22).

### **Cultivo microbiológico**

Para análise microbiológica, procederam-se duas metodologias, de acordo com as técnicas descritas por Quinn et al. (23): cultivo direto e cultivo pós-filtragem.

O cultivo direto consistiu no cultivo microbiológico de 0,1 mL de cada amostra (inóculo “direto”) em Ágar Sangue Bovino a 10%; Ágar MacConkey, e Ágar Sabouraud-dextrose acrescido de cloranfenicol a 1mg/mL (este último especialmente para a pesquisa de *Prototheca* spp.), espalhando-se por toda a placa com auxílio de alça de Drigalski estéril, de modo a permitir a contagem de unidades formadoras de colônias (UFC/mL).

O cultivo pós-filtragem foi realizado por filtragem de cada amostra, utilizando seringa plástica acoplada a um aparato de inox estéril contendo filtro Millipore de 0,2  $\mu\text{m}$ . Após o processo de filtragem, o filtro era retirado com auxílio de pinça estéril e imerso em solução salina durante 30 minutos. Após este período, o filtro era retirado, sendo que a solução resultante da lavagem do filtro representava o inóculo “pós-filtragem”, que foi cultivado em volume de 0,1 mL em cada meio de cultura, conforme procedimento descrito para o cultivo direto.

Os materiais eram incubados em estufa bacteriológica a 37°C ( $\pm 0,5^\circ\text{C}$ ), com observações do desenvolvimento microbiano às 24, 48 e 72 horas ( $\pm 2$  horas) após incubação. Para a pesquisa de *Prototheca* spp., as amostras eram mantidas em incubação a 28°C ( $\pm 0,5^\circ\text{C}$ ), durante 30 dias, com observações diárias.

Das colônias isoladas no meio de MacConkey foi realizada a caracterização bioquímica (EPM, Milli e Citrato), incubando-se a 37°C ( $\pm 0,5^\circ\text{C}$ ), por 24 horas ( $\pm 2$  horas).

A solução de lavagem do filtro foi submetida posteriormente à descontaminação Petroff, para a pesquisa de *Mycobacterium* spp. (23). Foram inoculados 300  $\mu\text{L}$  da suspensão descontaminada em meios de Stonebrink e Löwenstein-Jensen, incubando-se à 37°C ( $\pm 0,5^\circ\text{C}$ ) por 16 semanas. Os resultados foram considerados negativos pela ausência de isolamento do micro-organismo alvo durante todo o período de avaliações.

## **RESULTADOS**

Na Tabela 1 estão apresentados os resultados de contaminação das amostras por coliformes totais e fecais, segundo a técnica do NMP.

Em 100% (13/13) das amostras obtidas de piscina aquecida, houve contaminação por coliformes totais, sendo que, em 54% (8/13) delas houve confirmação da presença de coliformes termotolerantes. Nota-se que as amostras obtidas da piscina sem aquecimento apresentaram reduzidos níveis de contaminação, sendo que 38,50% (5/13) apresentavam contaminação por coliformes totais e 15,40% (2/13) continham populações consideráveis de coliformes termotolerantes. Pode-se observar, além disso, que tanto nas amostras de água da piscina aquecida, quanto da piscina sem aquecimento, houve um aumento na população de coliformes totais e termotolerantes ao longo do tempo, que poderia estar relacionado a

diversos fatores, como, por exemplo, a elevação da temperatura e da umidade ao longo dos meses, e acesso de um maior número de pessoas às piscinas.

Tabela 1. Número mais provável de coliformes totais e termotolerantes ( $\cdot 100 \text{ mL}^{-1}$ ) em amostras de água das piscinas aquecida e sem aquecimento de um clube esportivo de Botucatu, SP, coletadas semanalmente, durante quatro meses. Botucatu, 2013.

Data da colheita	Amostras	Piscina aquecida		Piscina sem aquecimento	
		CTot	CTer	CTot	CTer
16/09	01	20	< 2	< 2	< 2
19/09	02	26	04	04	< 2
26/09	03	14	< 2	< 2	< 2
03/10	04	18	< 2	< 2	< 2
11/10	05	10	< 2	< 2	< 2
21/10	06	12	< 2	< 2	< 2
23/10	07	24	< 2	< 2	< 2
31/10	08	30	04	< 2	< 2
08/11	09	60	10	< 2	< 2
15/11	10	<b>300</b>	<b>240</b>	14	06
21/11	11	80	36	06	< 2
28/11	12	86	20	04	< 2
10/12	13	64	12	08	04

CTot: coliformes totais; CTer: coliformes termotolerantes

Nas Tabelas 2 e 3 estão apresentados os resultados de isolamento microbiológico obtido a partir de amostras de água de piscina aquecidas e sem aquecimento, respectivamente. Em ambas as situações, o isolamento de *Staphylococcus* spp. e *Streptococcus* spp. foi bastante significativo, atingindo níveis superiores ao limite de contagem de unidades formadoras de colônias. Nota-se, além disso, a importante contaminação por enterobactérias, tanto na forma “direta” de cultivo, quanto na “pós-filtragem”; sendo que, nesta última, há um maior número de UFC.  $\text{mL}^{-1}$ , devido à concentração de micro-organismos obtida pelo método de filtração. Pelo método de cultivo “direto”, foi possível o isolamento de micro-organismos em 46% das amostras de água da piscina aquecida e 30% da piscina sem aquecimento. Já pelo método “pós-filtragem” houve isolamento microbiano em 77% das amostras colhidas da piscina aquecida e 61,50% da piscina sem aquecimento.

Em relação à pesquisa de *Prototheca* spp. e *Mycobacterium* spp., não foram obtidos isolamentos destes agentes em nenhuma das amostras avaliadas.

Tabela 2. Micro-organismos isolados de amostras de água da piscina aquecida de um clube esportivo de Botucatu-SP, pelos métodos de cultivo “direto” e “pós-filtragem”. Botucatu, 2013.

Micro-organismos isolados	Cultivo “direto”			Cultivo “pós-filtragem”		
	UFC. $\text{mL}^{-1}$ <sup>a</sup>	UFC. $\text{mL}^{-1}$ <sup>b</sup>	N	UFC. $\text{mL}^{-1}$ <sup>a</sup>	UFC. $\text{mL}^{-1}$ <sup>b</sup>	N
<i>Enterobacter aerogenes</i>	10	30	01	60	> 300	02
<i>Escherichia coli</i>	00	80	01	00	130	01
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	00	80	01	00	> 300	01
<i>Klebsiella oxytoca</i>	00	00	00	00	40	01
<i>Shigella dysenteriae</i>	20	60	01	0	80	01
<i>Staphylococcus</i> spp.	> 300	0	01	> 300	00	03
<i>Streptococcus</i> spp.	260	0	01	> 300	00	01
Total	> 300	250	06	> 300	> 300	10

<sup>a</sup> AS (Ágar Sangue)

<sup>b</sup> MC (Ágar MacConkey)

N número de amostras

Tabela 3. Micro-organismos isolados de amostras de água da piscina sem aquecimento de um clube esportivo de Botucatu-SP, pelos métodos de cultivo “direto” e “pós-filtragem”. Botucatu, 2013.

Micro-organismos isolados	Cultivo “direto”			Cultivo “pós-filtragem”		
	UFC. 0,1mL <sup>-1</sup> <sup>a</sup>	UFC. 0,1mL <sup>-1</sup> <sup>b</sup>	N	UFC. 0,1mL <sup>-1</sup> <sup>a</sup>	UFC. 0,1mL <sup>-1</sup> <sup>b</sup>	N
<i>Enterobacter aerogenes</i>	00	00	00	00	160	01
<i>Escherichia coli</i>	10	110	10	00	> 300	01
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	00	00	00	00	> 300	01
<i>Proteus vulgaris</i>	00	00	00	00	40	01
<i>Staphylococcus spp.</i>	> 300	00	30	> 300	00	03
<i>Streptococcus spp.</i>	00	00	00	> 300	00	01
Total	> 300	110	40	> 300	> 300	08

<sup>a</sup> AS (Ágar Sanguie); <sup>b</sup> MC (Ágar MacConkey); N número de amostras

## DISCUSSÃO

Os resultados obtidos no presente estudo demonstram a importância do monitoramento sanitário de águas recreacionais, na medida em que foram constatadas contaminações por coliformes totais e termotolerantes em um significativo número de amostras, além do isolamento de micro-organismos potencialmente patogênicos, como *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.* e enterobactérias. Devido às características físico-químicas da água, especialmente quando se considera as piscinas térmicas, são estabelecidas condições favoráveis à proliferação destes micro-organismos, o que aumenta as chances de infecções nos usuários, especialmente nas categorias mais suscetíveis, como crianças, idosos e indivíduos portadores de deficiência imunológica.

No presente estudo ocorreu maior nível de contaminação nas amostras de água colhidas durante o período de temperaturas e de umidade relativas do ar mais altas; com conseqüente maior número de usuários nas piscinas. De maneira semelhante, em estudo realizado em Santa Catarina em 2010, foi constatada maior tendência à procura por termas recreacionais entre os meses de abril a setembro, quando a temperatura ambiente mínima era de 18°C e a máxima de 25°C. Neste período, a contaminação das águas por enterobactérias e outros micro-organismos foi consideravelmente maior do que nos demais meses do ano (18).

As enterobactérias são potencialmente patogênicas, especialmente *Escherichia coli*, cuja variabilidade de cepas pode produzir inúmeros tipos de toxinas. No presente estudo, tanto nas amostras colhidas em piscinas aquecidas, quanto em piscinas sem aquecimento, houve isolamento de *Escherichia coli*, com resultados de contagem bastante relevantes (acima de 300 UFC. mL<sup>-1</sup>). Resultados similares foram encontrados em análises microbiológicas realizadas para investigar as condições higiênico-sanitárias de piscinas de um complexo aquático situado no Oeste de Santa Catarina (18). *Escherichia coli* esteve presente em 100% das amostras avaliadas e *Enterococcus sp.* em 60%, com contagem de bactérias heterotróficas totais  $\geq 300$  UFC mL<sup>-1</sup>, e  $\geq 870$  UFC mL<sup>-1</sup> para bolores e leveduras. Em um estudo mais amplo, realizado em São Carlos-SP, foram avaliadas 160 amostras de água colhidas em 20 piscinas de uso comunitário, sendo 11 aquecidas e nove sem aquecimento, e verificou-se também a marcada identificação de enterobactérias. Doze amostras (7,5%) estavam fora do padrão sugerido para bactérias heterotróficas e 63 (39%) foram consideradas insatisfatórias quanto à presença de coliformes totais (12). *Escherichia coli* foi isolada em duas amostras.

Segundo normas da legislação federal vigente, no que se refere à classificação de águas de balneabilidade (18), todas as amostras analisadas no presente estudo apresentaram-se de excelente qualidade, na medida em que continham populações de coliformes totais e termotolerantes inferiores aos limites máximos permitidos, que são de até 1.250 coliformes

totais e de no máximo 250 coliformes termotolerantes em 100 mL de amostra. No entanto, avaliando criticamente os dados, na presente pesquisa os níveis máximos encontrados foram de 300 coliformes totais e 240 coliformes termotolerantes em 100 mL de amostra. Apesar de estes valores estarem abaixo dos limites especificados pela legislação, deve-se ponderar que a presença de patógenos em números consideráveis como os que foram obtidos, também representa importante risco à saúde pública. Sendo assim, legislações estaduais estabeleceram limites mais rígidos para o controle de águas recreacionais. Em Santa Catarina, por exemplo, o limite estabelecido para coliformes termotolerantes é a ausência dos mesmos em cada 10 mL de amostra (18). Por outro lado, no caso do estado de São Paulo, a norma técnica para o controle de qualidade das águas de piscina entrou em vigor em 1979, e requer revisão (13).

Pesquisadores do Instituto Adolfo Lutz realizaram pesquisa para avaliação das condições sanitárias das águas de piscinas do Município de Praia Grande/SP. Foram colhidas quatro amostras semanais por estabelecimento, sendo duas piscinas públicas e seis particulares, totalizando 32 amostras. Houve isolamento de coliformes totais, corroborando os resultados do presente estudo, além de *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus* (13).

Resultados microbiológicos semelhantes aos obtidos no presente estudo foram verificados em Portugal (24). A avaliação de 1.886 amostras de água provenientes de 32 piscinas do distrito de Aveiro permitiu detectar a contaminação por micro-organismos heterotróficos em níveis acima dos limites estabelecidos em 3,6% dos casos, enquanto que os estafilococos totais apresentaram-se em níveis superiores aos limites em 4,0% dos casos. Os agentes mais frequentemente isolados foram *Pseudomonas aeruginosa*, estafilococos coagulase positivos, e estafilococos totais. Na presente pesquisa, os estafilococos totais também foram os micro-organismos mais prevalentes, tanto nas amostras de água das piscinas aquecidas quanto naquelas sem aquecimento. Por outro lado, apesar de *Pseudomonas aeruginosa* ser um patógeno importante, frequentemente isolado em amostras de água recreacionais no Brasil e em outros países, na presente pesquisa não houve isolamento desta espécie de micro-organismo nas amostras avaliadas. Outro resultado discordante frente aos reportados na literatura científica foi a elevada frequência de isolamentos de *Streptococcus* spp. no presente estudo, uma vez que este micro-organismo não é comumente isolado de amostras de águas recreacionais.

A ausência de isolamento de *Prototheca* spp. e *Mycobacterium* spp. também representa resultado relevante, tendo em vista a importante patogenicidade destes agentes. No entanto, vale ressaltar que o presente estudo tem caráter local e foi realizado por período de tempo limitado. Com efeito, o monitoramento da qualidade microbiológica das águas recreacionais, aquecidas ou não, deve ser realizado de forma periódica e continuada, para a garantia da balneabilidade e segurança à saúde dos usuários. Como exemplo, em outras regiões brasileiras realizaram-se estudos por períodos de tempo prolongados, e houve isolamento de *Mycobacterium* spp. nas amostras de água recreacionais avaliadas. Em São Carlos-SP, houve isolamento de *Mycobacterium* spp. em 33% das 160 amostras de água colhidas em 20 piscinas de uso comunitário. Houve ainda isolamento de amebas de vida livre em 21% destas amostras, sendo que das 33 amostras positivas para estes protozoários, 18 (54%) demonstraram hospedar *Mycobacterium* spp. (12).

## CONCLUSÕES

Apesar da qualidade microbiológica das amostras de água de piscinas avaliadas ter sido satisfatória de acordo com a legislação federal vigente, deve-se atentar ao importante número de micro-organismos potencialmente patogênicos que foram isolados. Tais micro-organismos podem oferecer risco à saúde dos usuários, especialmente em épocas do ano que propiciem

condições epidemiológicas favoráveis à multiplicação destes agentes. Ressalta-se, portanto, a necessidade de monitoramento permanente da qualidade de águas recreacionais no Brasil, para proteção à saúde pública.

### **Contribuições práticas do estudo**

Após a realização do estudo e avaliação dos resultados, elaborou-se um relatório técnico detalhado, o qual foi apresentado à Diretoria do clube esportivo onde a pesquisa foi realizada, de forma a orientar os gestores sobre os riscos à saúde pública decorrentes de patógenos potencialmente zoonóticos que foram isolados nas amostras avaliadas. Os diretores mostraram-se bastante interessados e preocupados, e comprometeram-se a intensificar as medidas higiênico-sanitárias e de monitoramento da qualidade das águas das piscinas do clube.

### **AGRADECIMENTOS**

Os autores agradecem todo apoio fornecido pelo clube esportivo do município de Botucatu, SP, permitindo a colheita das amostras com posterior contribuição para a comunidade.

### **REFERÊNCIAS**

1. Bartocha W, Baz G, Bohn H, Seidel K. Bacteriologic studies of very polluted swimming and whirlpool water. *Schriften ver Wasser Boden Lufthyg.* 1990;83:171-200.
2. Pokorn I, Talaeva IuG, Dmitrieva RA, Artemova TZ, Deak Zh, Shul'tse E, et al. Microbiological criteria of the quality of recreational waters in COMECON member countries. *Gig Sanit.* 1991;(4):64-7.
3. American Water Works Association. Microbiological examination. In: Standard methods for the examination of water and wastewater. 21 st ed. Washington: AWWA; 2005.
4. Fogarty LR, Haack SK, Wolcott MJ, Whitman RL. Abundance and characteristics of the recreational water quality indicator bacteria *Escherichia coli* and enterococci in gull faeces. *J Appl Microbiol.* 2003;94(5):865-78.
5. Kariniemi AL, Brander E, Huttunen R. Swimming pool granuloma: hand infection caused by *Mycobacterium marinum*. *Duodecim.* 1991;107(17):1437-40.
6. Petrini B. *Mycobacterium marinum*: ubiquitous agent of waterborne granulomatous skin infections. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2006;25(10):609-13.
7. Kiel RJ. *Mycobacterium marinum* [Internet]. eMedicine [cited 2007 Oct 30]. Available from: <http://emedicine.com/med/topic1538.htm>.
8. Leoni E, Legnani PP, Bucci Sabattini MA, Righi F. Prevalence of *Legionella* spp. in swimming pool environment. *Water Res.* 2001;35(15):3749-53.

9. Salamah AA. Role of pre-incubation in non-selective medium in recovery of *Staphylococcus aureus* from swimming pools and beaches. *Microbiologica*. 1990;13(3):263-6.
10. Schlossberg D. Infections from leisure-time activities. *Microbes Infect*. 2001;3(6):509-14.
11. Falcão DF, Leite CQ. Microbiological quality of recreational waters in Araraquara, SP, Brazil. *Sci Total Environ*. 1993;128(1):37-49.
12. Sueitt APE. Avaliação ecoepidemiológica e sanitária de piscinas coletivas da cidade de São Carlos-SP. [dissertação]. São Carlos: Universidade Federal de São Carlos; 2009.
13. Pimentel FC, Alonso ACB, Mello ARP, Sousa CV, Tavares DS, Gonzales E, et al. Condições sanitárias das águas de piscinas públicas e particulares. *Rev Inst Adolfo Lutz*. 2010;69(4):446-52.
14. World Health Organization. Microbial hazards. In: Guidelines for safe recreational water environments. Swimming pools and similar environments. Geneva: WHO Press; 2006. p.26-53.
15. Brewster DH, Brown MI. An outbreak of *Escherichia coli* O157 associated with a children's paddling pool. *Epidemiol Infect*. 1994;112(3):441-7.
16. de Lima SC, Sakata EE. Surto de leptospirose humana por atividade recreacional no município de José dos Campos, São Paulo: estudo soroepidemiológico. *Rev Inst Med Trop São Paulo*. 1990;32(6):474-9.
17. Nichols G, Ford T, Bartram J, Dufour A, Portaels F. Introduction. In: Pedley S, Bartram J, Rees G, Dufour A, Cotruvo J. Pathogenic mycobacteria in water. A guide to public health consequences, monitoring and management. Londres: IWA Publishing; 2004. p.1-14.
18. Bonatto N, Gelinsky JMLN. Condições higiênico-sanitárias de piscinas em companhia hidromineral conforme análise de indicadores de contaminação fecal. *REB*. 2010;3(3):105-16.
19. Ibarluzea J, Moreno B, Zigorraga C, Castilla T, Martinez M, Santamaria J. Determinants of the microbiological water quality of indoor swimming-pools in relation to disinfection. *Water Res*. 1998;32(3):865-71.
20. Borgmann-Strahsen R. Comparative assessment of different biocides in swimming pool water. *Int Biodeter Biodegrad*. 2003;51(4):291-7.
21. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Cidades [Internet]. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística [cited 2014 May 20]. Available from: <http://cidades.ibge.gov.br/painel/painel.php?codmun=350750>.

22. Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. Secretaria do Meio Ambiente. Governo de São Paulo. Determinação do número mais provável de coliformes fecais pela técnica dos tubos múltiplos. São Paulo: CETESB; 1993. 43p.
23. Quinn PJ, Carter ME, Markey B, Carter GR. Bacterial pathogens: microscopy, culture and identification. In: Clinical Veterinary Microbiology. 1st ed. Londres: Wolfe; 1994. p.21-66.
24. Meireles SLT. Qualidade microbiológica da água das piscinas do distrito de Aveiro. [dissertação]. Aveiro, Portugal: Universidade de Aveiro; 2011.

**Recebido em: 17/11/2014**

**Aceito em: 09/02/2015**