

Bioindicadores alternativos da qualidade da água para consumo humano

Alternative Biomarkers of water quality for human consumption

Bioindicadores alternativos de la calidad del agua para consumo humano

Recebido: 17/07/2020 | Revisado: 28/07/2020 | Aceito: 01/08/2020 | Publicado: 11/08/2020

Carla Regina Daronco

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6371-6773>

Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul, Brasil

E-mail: carla_vet@yahoo.com

Renata Linassi Bárta

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3989-8685>

Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul, Brasil

E-mail: rlinassibarta@gmail.com

José Antônio Gonzalez da Silva

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9335-2421>

Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul, Brasil

E-mail: jose.gonzales@unijui.edu.br

Christiane de Fátima Colet

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2023-5088>

Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul, Brasil

E-mail: christiane.colet@unijui.edu.br

Eniva Miladi Fernandes Stumm

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6169-0453>

Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul, Brasil

E-mail: eniva@unijui.edu.br

Resumo

A segurança microbiológica da água está relacionada à contaminação fecal, e os biomarcadores convencionais de contaminação da água para consumo humano não permitem revelar qual é a fonte de contaminação fecal. O objetivo da pesquisa é encontrar evidências científicas sobre biomarcadores alternativos que possam identificar a fonte de contaminação fecal na água destinada ao consumo humano. Trata-se de uma pesquisa qualitativa, descritiva, tipo revisão integrativa de literatura. Biomarcadores utilizados foram bactérias, vírus, protozoários e

arqueas, e 72,7% dos estudos tiveram amostras provenientes de águas subterrâneas. Taxas de detecção de marcadores genéticos Bacteriodales específicos de humanos foram maiores do que de animais na maioria dos estudos, destaca-se este achado em águas subterrâneas. Marcadores arqueais foram mais prevalentes que Bacteriodales nos corpos de água estudados. A variabilidade sazonal da ocorrência dos biomarcadores de contaminação fecal foi identificada em 60% dos estudos que realizaram essa avaliação. A sensibilidade e a especificidade dos marcadores espécie-específicos podem variar de acordo com a região estudada. Sugere-se que o uso desses marcadores deve ser combinado ao monitoramento de biomarcadores de contaminação fecal convencionais. Percebe-se a necessidade de mais pesquisas que utilizem biomarcadores que identifiquem possíveis fontes de contaminação humana e/ou animal na água de consumo humano, e que avaliem risco e incidência de doenças de veiculação hídrica nos locais estudados.

Palavras-chave: Qualidade da água; Biomarcadores; Água para consumo humano; Metodologias de rastreamento microbiológico; Contaminação fecal.

Abstract

The microbiological safety of water is related to faecal contamination, and conventional biomarkers of water contamination for human consumption do not allow revealing what the source of faecal contamination is. The aim of the research is to find scientific evidence about alternative biomarkers that can identify the source of faecal contamination in water for human consumption. This is a qualitative and descriptive research, an integrative literature review. Biomarkers used were bacteria, viruses, protozoa and archaea, and 72.7% of the studies had samples from groundwater. Detection rates of Bacteriodales genetic markers specific to humans were higher than on animals in most studies, which were performed in groundwater. Archeal markers were more prevalent than Bacteriodales in the studied water bodies. The seasonal variability in the occurrence of fecal contamination biomarkers was identified in 60% of the studies that carried out this assessment. The sensitivity and specificity of species-specific markers may vary according to the region studied. It is suggested that the use of these markers should be combined with the monitoring of conventional fecal contamination biomarkers. It is perceived the need for further studies on the use of biomarkers to identify possible sources of human and / or animal contamination in water for human consumption, and the assess the risk and incidence of waterborne diseases in the studied places.

Keywords: Water quality; Biomarkers; Drinking water; Microbial source tracking; Faecal contamination.

Resumen

La seguridad microbiológica del agua está relacionada con la contaminación fecal, y los biomarcadores convencionales de contaminación del agua para consumo humano, no revelan esa fuente de contaminación. El objetivo de la investigación es encontrar evidencia científica sobre biomarcadores alternativos que puedan identificar la fuente de contaminación fecal en el agua destinada al consumo humano. Ésta es una investigación cualitativa, descriptiva, una revisión integradora de la literatura. Los biomarcadores utilizados fueron bacterias, virus, protozoos y archeas, y el 72,7% de los estudios tenían muestras de aguas subterráneas. En la mayoría de los estudios las tasas de detección de marcadores genéticos de Bacteriales específicos fueron más altas en humanos que en animales, destaca este hallazgo en aguas subterráneas. Los marcadores arqueológicos fueron más frecuentes que los Bacteriales en los cuerpos de agua estudiados. En el 60% de los estudios que llevaron a cabo esta evaluación se identificó la variabilidad estacional en la aparición de biomarcadores de contaminación fecal. La sensibilidad y la especificidad de los marcadores específicos de la especie pueden variar según la región estudiada. Se sugiere que el uso de estos marcadores se combine con el monitoreo de biomarcadores convencionales de contaminación fecal. Se ve la necesidad de que se realicen más investigaciones que utilicen biomarcadores que identifiquen posibles fuentes de contaminación humana y / o animal en el agua para consumo humano, y que evalúen el riesgo y la incidencia de enfermedades transmitidas por el agua en los lugares estudiados.

Palabras clave: Calidad del agua; Biomarcadores; Agua para consumo humano; Metodologías de cribado microbiológico; Contaminación fecal.

1. Introdução

O acesso à água potável, distribuída de forma segura, é um direito fundamental (Unga, 2015; Zorzi, Turatti & Mazzarino, 2016; WHO & UNICEF, 2017). A exposição a agentes infecciosos, direta ou indiretamente, através da ingestão de água contaminada, altera o bem-estar e a qualidade de vida da sociedade (WHO & UNICEF, 2017).

Em 2015, a Organização Mundial da Saúde estimou que, no mundo, havia 844 milhões de pessoas que não possuíam acesso à água potável, e 2,1 milhões que não tinham acesso à água de forma segura (WHO & UNICEF, 2017). Diante dessa situação, no mesmo ano, a Organização das Nações Unidas, propõe 17 Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS), com uma agenda para 2030. A ODS de número três trata da busca de uma vida saudável e promoção do bem-estar. Dentro dessa perspectiva, a ODS seis busca assegurar disponibilidade,

gestão sustentável da água e saneamento para toda a população (Unga, 2015).

As doenças de veiculação hídrica são transmitidas através de água contaminada por bactérias, vírus e parasitas, que são eliminados pelas fezes de animais e indivíduos infectados. Após a ingestão, esses patógenos passam pelo trato gastrointestinal, onde completam o ciclo de infecção ou parasitismo, para depois serem eliminados pelas fezes (Rios-Tobon, Agudelo-Cadavid & Gutierrez-Builes, 2017; WHO, 2017). Quando chegam na água, enfrentam barreiras naturais, como pH e temperatura (WHO, 2017); e artificiais, como os produtos de desinfecção e outros processos de tratamento de água, que podem levar a sua eliminação parcial ou total. Essas barreiras variam de intensidade e duração (Brasil, 2006; Brasil, 2016; WHO, 2017).

Existe uma dificuldade para a determinação da presença de todos os micro-organismos patogênicos implicados nos processos de contaminação ambiental. Desta forma, surge a necessidade de emprego de indicadores e biomarcadores que permitam uma avaliação rápida e fiel da presença destes patógenos (Pulido *et al.*, 2005; Harwood *et al.*, 2014; WHO, 2017).

Um adequado biomarcador deve ser encontrado na água quando os organismos patogênicos estão e ausente quando não está contaminada; deve concentrar-se em número maior e apresentar maior grau de resistência que os organismos patogênicos nas condições ambientais e em processos de tratamento da água; e por fim, seu isolamento, identificação e contagem devem ser de fácil realização (Fernández-Molina, Álvarez-Alcántara & Espigares-García, 2001; Pulido *et al.*, 2005; Brasil, 2016; WHO, 2017).

Os biomarcadores de contaminação fecal devem ser micro-organismos da flora saprófita do intestino dos animais de sangue quente; abundante, para facilitar sua identificação e isolamento; representarem os indivíduos de maior número na população; devem ser incapazes de se reproduzir fora destes animais e não serem patógenos (Fernández-Molina, Álvarez-Alcántara & Espigares-García, 2001; Pulido *et al.*, 2005; WHO, 2017). Dentre as bactérias entéricas, as do grupo coliformes, que se comportam semelhantes aos micro-organismos patogênicos, permanecem viáveis na água por mais tempo, além de serem de rápida e simples detecção, usados como biomarcadores (Brasil, 2016; Rios-Tobon, Agudelo-Cadavid & Gutierrez-Builes, 2017; WHO, 2017). Os coliformes totais pertencem à família Enterobacteriaceae, que são bactérias gram-negativas que vivem de forma saprófita ou como oportunistas em algumas situações, ou seja, são bactérias de vida livre (Ramírez-Gonzales & Viña-Vizcaíno, 2000; Brasil, 2016; WHO, 2017). Essas bactérias encontram-se naturalmente em grande quantidade em fontes de água, vegetação e solo, assim não necessariamente estão associadas à contaminação fecal (Pulido *et al.*, 2005; Brasil, 2016; Rios-Tobon, Agudelo-Cadavid & Gutierrez-Builes, 2017; WHO, 2017). Como são, em teoria, mais resistentes do que

as bactérias patogênicas, seu emprego exclusivo desse indicador para avaliação da qualidade da água, pode levar a superestimativa dos riscos à saúde associado ao consumo de água (Brasil, 2016; WHO, 2017).

O gênero *Escherichia*, pertence ao grupo dos coliformes totais, apresenta cepas patogênicas e não patogênicas, e corresponde a 10% da microflora intestinal normal (Pulido *et al.*, 2005; WHO, 2017). A *Escherichia coli* cresce em alta temperatura e está presente em grande número em fezes de animais e humanos, e raramente é encontrada na ausência de poluição fecal, embora exista alguma evidência de crescimento em solos tropicais (Harwood *et al.*, 2014; Brasil, 2016; WHO, 2017).

Os coliformes termotolerantes podem ser usados como alternativa na análise de *E. coli*. Neste grupo, o gênero *Escherichia* é o predominante, mas podem estar presentes outros gêneros, como *Citrobacter spp*, *Klebsiella spp* e *Enterobacter spp*, que são organismos ambientais (Harwood *et al.*, 2014, WHO, 2017). Portanto, a *E. coli* é considerada o biomarcador mais adequado para determinar a contaminação fecal em ambientes aquáticos, sendo um marcador de poluição recente. Não se admite a presença de *E. coli* na água destinada ao consumo humano, independente do ponto de amostragem. No entanto, é uma bactéria muito mais sensível à desinfecção do que vírus entéricos e protozoários (Borrego *et al.*, 1987; Harwood *et al.*, 2014; Silva *et al.*, 2015; Brasil, 2016; WHO, 2017).

A segurança microbiológica da água está relacionada à contaminação fecal, aos organismos que podem contaminar as fontes de abastecimento, enquanto outros se desenvolvem nos sistemas de distribuição, e podem causar surtos ou doenças de veiculação hídrica (Brasil, 2016; WHO, 2017, Mendonça *et al.*, 2019).

Nas zonas urbanas, a contaminação fecal das águas superficiais deve-se, em grande parte, pela falta de saneamento e destinação inadequadas de águas residuais. No meio rural, a contaminação é gerada pela defecação a céu aberto ou destinação inadequada dos esgotos, além da presença de animais domésticos e silvestres, que atuam como reservatórios de patógenos (Fernández-Molina, Álvarez-Alcántara & Espigares-García, 2001; Pulido *et al.*, 2005)

Os biomarcadores tradicionais de contaminação fecal da água para consumo humano não permitem revelar qual é a fonte de contaminação fecal (animal ou humana), e se há a presença de vírus ou parasitas entéricos (Pulido *et al.*, 2005; Rios-Tobon, Agudelo-Cadavid & Gutierrez-Builes, 2017; WHO, 2017). A determinação da fonte de poluição fecal em ambientes aquáticos é essencial para estimar os riscos associados à saúde humana e pode auxiliar na adoção de medidas mitigatórias ou de remediação, em relação às fontes de contaminação das formas de abastecimento de água para a população (Harwood *et al.*, 2014; WHO & UNICEF,

2017). Assim, este estudo tem como objetivo encontrar evidências científicas sobre biomarcadores alternativos que possam identificar a fonte de contaminação fecal na água destinada ao consumo humano.

2. Metodologia

Trata-se de uma pesquisa qualitativa, descritiva, tipo revisão integrativa de literatura que permite a busca, a avaliação crítica e a síntese das evidências sobre a temática investigada (Souza, Silva & Carvalho, 2010; Pereira *et al.*, 2018). Operacionalizou-se nas etapas: escolha do tema e construção da questão de pesquisa; amostragem; coleta de dados; avaliação crítica e categorização dos estudos selecionados; interpretação dos resultados; e síntese do conhecimento obtido (Souza, Silva & Carvalho, 2010).

Na amostragem, definiu-se os critérios de exclusão e inclusão, além dos descritores a serem utilizados para a busca nas bases de dados elencadas, para seleção dos artigos. Os critérios de inclusão foram artigos originais disponíveis gratuitamente na íntegra online, publicados de 2009 a setembro de 2019, em português, espanhol ou inglês e que respondam à pergunta norteadora. Os critérios de exclusão foi não considerar os artigos sem relação com a temática proposta, repetições e textos incompletos publicados em outras línguas que não o português, inglês ou espanhol, não disponíveis online na íntegra. Excluíram-se do estudo também: teses, dissertações, artigos de revisão, estudos-piloto, cartas, editoriais e comunicação. Para a busca ativa, foram utilizados os termos pelos Descritores em Ciências da Saúde (DeCS): Biomarkers AND drinking water AND water quality. Foram consultadas as bases de dados Web of Science, PubMed/NCB (National Center for Biotechnology Information), Scopus e Springer.

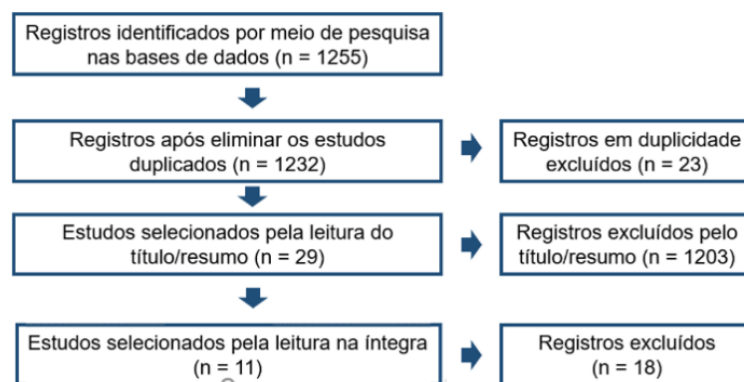
Primeiro, foi realizada a seleção de artigos através das informações no título e/ou resumo, e selecionou apenas os que de fato abordam a temática pesquisada e respondem à pergunta norteadora: Quais as evidências científicas sobre biomarcadores alternativos que possam identificar a fonte de contaminação fecal na água para consumo humano?

Os artigos selecionados foram lidos na íntegra e foram compilados através de uma avaliação crítica e categorização, nas seguintes variáveis: ano e local da pesquisa, tipo de amostras de água para consumo humano, biomarcadores utilizados e principais resultados, respeitando as ideias e definições dos autores dos artigos analisados. E por fim, realizou-se a interpretação dos resultados e apresentação da revisão, que permitem a síntese do conhecimento obtido a partir do estudo realizado.

3. Resultados

Nas bases de dados pesquisadas foram encontrados 1255 artigos referentes à temática (n=16 na PubMed; n=17 na Web of Science; n= 525 na Springer; e n=697 na Scopus). Foram excluídos 33 registros por duplicidade. A partir da leitura do título e/ou resumo, foram selecionados os artigos que atenderam aos critérios de elegibilidade e responderam à pergunta norteadora, conforme Figura 1.

Figura 1. Fluxograma do processo de identificação, seleção e elegibilidade dos artigos que compuseram a revisão.



Fonte: Autores.

A maioria dos estudos referiam a marcadores bioquímicos, clínicos, imunológicos, séricos, entre outros, que não atendiam a questão de pesquisa. Assim, obteve-se 29 artigos para a leitura integral, dos quais 11 foram selecionados para o estudo.

A categorização dos estudos selecionados segundo ano de publicação, local da pesquisa e biomarcador utilizado para avaliação da qualidade da água para consumo humano estão resumidos na Tabela 1.

Quanto ao período de publicação dos artigos, 1 foi publicado em 2009 (Copeland *et al.*, 2009), 2 (18,2%) em 2014 (Krolik *et al.*, 2014; Nescerecka *et al.*, 2014), 3 (27,3%) em 2015 (Bianco *et al.*, 2015; Rodrigues *et al.*, 2015; Sorensen *et al.*, 2015), 3 (27,3%) em 2016 (Odagiri *et al.*, 2016; Giglio *et al.*; 2016; Weiss *et al.*; 2016) e 2 estudos (18,2%) em 2018 (Diston *et al.*, 2018; Malla *et al.*, 2018).

Das publicações selecionadas, 3 (27,3%) tiveram como local de estudo o Brasil (Copeland *et al.*, 2009; Bianco *et al.*, 2015; Rodrigues *et al.*, 2015), e quanto aos demais artigos, os estudos ocorreram no Canadá (Krolik *et al.*, 2014), Letônia (Nescerecka *et al.*, 2014), Zâmbia

(Sorensen *et al.*, 2015), Índia (Odagiri *et al.*, 2016), Itália (Giglio *et al.*; 2016), Nicarágua (Weiss *et al.*; 2016), Suíça (Diston *et al.*, 2018) e Nepal (Malla *et al.*, 2018).

Tabela 1. Resumo do ano de publicação, local de estudo e biomarcador utilizado dos artigos selecionados.

Ano de publicação	País de Estudo	Biomarcador Utilizado
Copeland <i>et al.</i> , 2009	Brasil	Coliformes termotolerantes, <i>Cryptosporidium</i> spp e Imunoglobulina humana
Krolik <i>et al.</i> , 2014	Canadá	<i>E. coli</i> e marcadores de Bacteriodales gerais e específicos de bovinos e humanos
Nescerecka <i>et al.</i> , 2014	Letônia	Bactérias heterotróficas, ATP total e intracelular e concentração de células intactas
Bianco <i>et al.</i> , 2015	Brasil	<i>E. coli</i> , <i>Methanobrevibacter smithii</i> , <i>M. ruminantium</i> , <i>M. gottschalkii</i> , marcadores de Bacteroidales específico de humanos, ruminantes, equinos e suínos
Rodrigues <i>et al.</i> , 2015	Brasil	Coliformes totais e termotolerantes; Adenovírus
Sorensen <i>et al.</i> , 2015	Zâmbia	Coliformes termotolerantes, <i>Actinomyces</i> spp., <i>Arcobacter</i> spp., <i>Bacteroides</i> spp., <i>Bifidobacterium</i> spp., <i>Campylobacter</i> spp., <i>Clostridium</i> spp., <i>Desulfovibrio</i> spp., <i>Enterococcus</i> spp., <i>Mycobacterium</i> spp., <i>Ruminococcus</i> spp., <i>Streptococcus</i> spp., <i>Vibrio</i> spp., <i>Yersinia</i> spp; <i>E. coli</i> enterohemorrágica
Odagiri <i>et al.</i> , 2016	Índia	Coliformes termotolerantes, marcadores de Bacteroidales específicos de humanos e ruminantes, rotavírus, adenovírus, <i>Vibrio cholerae</i> , <i>Cryptosporidium</i> spp; <i>Giardia</i> spp, 7 cepas de <i>E. coli</i> enteropatogênicas
Giglio <i>et al.</i> , 2016	Itália	<i>E. coli</i> , coliformes totais, Enterococos, <i>Samonella</i> spp, <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Weiss <i>et al.</i> , 2016	Nicaraguá	<i>E. coli</i> e marcadores de Bacteroidales específicos de humanos e bovinos
Diston <i>et al.</i> , 2018	Suíça	Coliformes termotolerantes, enterococos, colifago somático de <i>E. coli</i> que infectam hospedeiros gerais; bacteriófagos que infectam <i>Bacteroides fragilis</i> e <i>B. thetaiotaomicron</i> (Bacteriodales específico de humanos); 2 marcadores de Bacteroidales gerais e 2 específicos de humanos e 2 de ruminantes; Norovírus (genogrupo I e II); rotavírus e enterovírus humano
Malla <i>et al.</i> , 2018	Nepal	Coliformes totais, <i>E. coli</i> , marcadores de Bacteroidales específicos de humanos, ruminantes e suínos

Fonte: Autores.

Quanto ao biomarcador utilizado, 5 (45,4 %) dos estudos selecionados utilizaram apenas bactérias (Krolik *et al.*, 2014; Bianco *et al.*, 2015; Sorensen *et al.*, 2015; Giglio *et al.*; 2016; Weiss *et al.*; 2016; Malla *et al.*, 2018), 2 (18,2%) bactérias e vírus (Rodrigues *et al.*, 2015; Diston *et al.*, 2018), 1 (9,1%) bactérias, vírus e protozoários (Odagiri *et al.*, 2016), 1 estudo utilizou bactérias e arqueas (Bianco *et al.*, 2015), 1 estudo utilizou bactérias, protozoários e Imunoglobulina humana (Copeland *et al.*, 2009), e outro, bactérias e ATP (Nescerecka *et al.*, 2014).

Em relação a abordagem metodológica, todas as pesquisas selecionadas foram quantitativas.

Os tipos de amostras de água para consumo humano e os resultados das análises realizadas nos estudos selecionados são apresentados na tabela 2.

Tabela 2. Resumo dos tipos de amostras de água para consumo humano e os principais resultados encontrados.

Tipo de amostra de água para consumo humano	Principais resultados
Água de poços (Krolik <i>et al.</i> , 2014)	Das amostras positivas para <i>E. coli</i> , 31,8% foram positivas apenas para marcadores Bacteroidales de humanos; 25,7% para gerais; 11% positivos de humano e bovino; 1,5% de bovinos; e 23,6% das amostras negativas para os marcadores Bacteroidales estudados. A análise espacial das amostras demonstrou um aglomerado significativo de fonte de contaminação humana, o mesmo não ocorreu para contaminação bovina ou geral.
Água de poços (Diston <i>et al.</i> , 2018)	100% das amostras apresentaram coliformes termotolerantes, enterococos e colifagos somáticos. O marcador Bacteroidales geral (AllBac) em 77% das amostras e o outro (GenBac) em 54% das amostras; marcador Bacteroidales de humanos (HF183) em 100% das amostras e o fago ARABA específico de humanos em 62% das amostras; marcador Bacteroidales de ruminantes (Rum2Bac) em 54% das amostras; Norovírus (grupo I e II) e rotavírus (grupo A) não foram detectados, e o enterovírus em 1 amostra.
Água provenientes de dois tipos de aquíferos: cársicos e porosos (Giglio <i>et al.</i> , 2016)	8,7% dos poços foram considerados potáveis segundo os parâmetros compulsórios de enterococos, <i>E. coli</i> e coliformes totais, além da ausência de <i>Salmonella spp</i> e <i>P. aeruginosa</i> . 66,1% dos poços de aquíferos cársicos e 33,9% de aquíferos porosos apresentaram alta contaminação de origem fecal, sendo que 56,6% foram positivos para <i>P. aeruginosa</i> , 10,3% positivos para <i>Salmonella spp</i> e 14% positivos para ambos. A contagem de bactérias heterotróficas demonstrou altos níveis de contaminação.
Água de poços rasos e profundos (Sorensen <i>et al.</i> , 2015)	72% das amostras apresentaram contaminação por coliformes termotolerantes. <i>Citrobacter freundii</i> foi o mais prevalente (69%), e <i>Vibrio cholerae</i> e <i>Salmonella enterica</i> em 41% e 16% das amostras analisadas, respectivamente. <i>Bifidobacterium longum</i> , <i>Arcobacter butzleri</i> , <i>Desulfovibrio desulfuricans</i> e <i>Enterococcus gallinarum</i> estavam presentes em 47%, 34%, 31%, e 38%, das amostras analisadas, respectivamente. <i>E. coli</i> enterohemorrágica e seus fatores de virulência não foram detectados em nenhuma das amostras.
Águas de poços escavados; poços tubulares rasos e profundos; e fontes (Malla <i>et al.</i> , 2018)	<i>E. coli</i> e coliformes totais foram detectados em 66% e 94% das amostras, respectivamente. As taxas de detecção dos marcadores Bacteroidales de humanos, ruminantes e suínos foram 22%, 11% e 3%, respectivamente. Nenhuma das amostras de água subterrânea foi contaminada com os três marcadores fecais.
Água de poços rasos (Weiss <i>et al.</i> , 2016)	87,5% dos poços estavam contaminados com <i>E. coli</i> . Não foi demonstrado relação significativa entre a profundidade dos poços e os níveis de contaminação. O marcador Bacteroidales específico de humano não foi detectado em nenhuma amostra de água de poço, e o de bovinos foi detectado em 12,9% amostras.
Água de sistema de distribuição; de poço, e armazenamento intradomiciliar (Copeland <i>et al.</i> , 2009)	95,8% da água proveniente de poços apresentaram coliformes termotolerantes e 19,7% da água de abastecimento público. 30,3% das amostras intradomiciliares armazenadas de água estavam contaminação por coliformes termotolerantes, que variou de acordo com a fonte de origem. Uma relação significativa foi observada entre contaminação fecal e tipo de armazenamento intradomiciliar. 64,6% das amostras de armazenamento intradomiciliar, com alta contaminação fecal, continham o marcador fecal específico humano e uma amostra positiva para <i>Cryptosporidium spp</i> , a qual foi negativa para o marcador fecal humano.
Água de poços profundos, poços rasos e lagoas (Odagiri <i>et al.</i> , 2016)	50 % das amostras de poços profundos, 63,3% de poços rasos e 100% das lagoas foram positivas para o marcador Bacteroidales geral. Os coliformes termotolerantes foram detectados em 28,6% e 37,2% dos poços profundos e rasos, respectivamente, e em 88,9% das lagoas. O marcador Bacteroidales de humanos foram detectados em 2,8%, 2,1 % e 5,6% dos poços profundos; dos poços rasos e das lagoas, respectivamente. O marcador de Bacteroidales de bovinos foram detectados em lagoas (63%) e, menos em poços (6,3%). <i>Vibrio cholerae</i> foi detectado em 12,8% dos poços profundos e 27,6% dos rasos, mas não em lagoas. Já <i>Cryptosporidium spp</i> foram detectados com 13,5% nos poços profundos, 7,1% nos poços rasos e 37,2% nas lagoas, enquanto <i>Giardia spp</i> foi detectada em 11,7% dos poços profundos, 18,4% nos poços rasos e 74,5% nas lagoas. O rotavírus foi detectado em poços profundos (8,3%), em poços rasos (8,2%) e em lagoas (44,9%). Adenovírus e os genes virulentos patogênicos de <i>E. coli</i> raramente foram detectados nos poços. Pelo menos

uma cepa de *E. coli* enteropatogênica foi detectada em 48,1% das amostras nas lagoas; já o adenovírus foi raramente detectado.

Água superficial (Bianco <i>et al.</i> , 2015)	A contagem de <i>E. coli</i> estava acima dos parâmetros estabelecidos em 16,7% das amostras. <i>Methanobrevibacter smithii</i> e <i>Methanobrevibacter ruminantium</i> foram detectados em todas as nas amostras de água, enquanto que os marcadores Bacteroidales de humanos e de ruminantes em 75% e 66,7% das amostras, respectivamente. <i>Methanobrevibacter gottschalkii</i> e o marcador Bacteroidales de suínos estavam presentes em todas as amostras, e o marcador Bacteroidales de equinos foi detectado em 58,3% das amostras.
Água superficial tratada e não tratada (Rodrigues <i>et al.</i> , 2015)	74,6% das amostras tratadas e 75% das amostras de água não tratada foram positivas para adenovírus. Coliformes totais e termotolerantes estavam presentes em 84,5% das amostras.
Água efluente das estações de tratamento de água e do sistema de distribuição (Nescerecka <i>et al.</i> , 2014)	Baixas concentrações de células intactas e ATP intracelular e bactérias heterotróficas nos efluentes das estações de tratamento de água, no entanto houve um aumento considerável na concentração de células intactas e ATP intracelular ao longo da rede de distribuição. Houve correlação linear significativa entre a concentração de ATP intracelular e concentração de células intacta. Uma correlação significativamente baixa foi observada entre contagem de bactérias heterotróficas e células intactas e ATP intracelular. O ATP extracelular constituiu em média 36% do ATP total.

Fonte: Autores.

Segundo os tipos de amostras de água para consumo humano analisadas: 6 (54,5%) eram provenientes de captação subterrânea (Krolik *et al.*, 2014; Sorensen *et al.*, 2015; Giglio *et al.*; 2016; Weiss *et al.*; 2016; Diston *et al.*, 2018; Malla *et al.*, 2018), 2 (18,2%) de captação superficial (Bianco *et al.*, 2015; Rodrigues *et al.*, 2015), 1 de captação mista (Odagiri *et al.*, 2016) (superficial e subterrânea), 1 da saída do tratamento e do sistema de distribuição (Nescerecka *et al.*, 2014) e 1 de captação subterrânea, sistema de distribuição e armazenamento intradomiciliar (Copeland *et al.*, 2009).

4. Discussão

A análise dos 11 artigos que integraram essa pesquisa contribuí para a identificação dos biomarcadores alternativos que podem identificar a fonte de contaminação fecal na água destinada ao consumo humano, nas diferentes formas de abastecimento, que fornecem água de forma coletiva e provenientes de fontes de captação subterrâneas e superficiais.

Observou-se que a maioria das pesquisas ocorreram na América (45,4%) (Copeland *et al.*, 2009; Krolik *et al.*, 2014; Bianco *et al.*, 2015; Rodrigues *et al.*, 2015; Weiss *et al.*, 2016), 27,3% na Europa (Nescerecka *et al.*, 2014; Giglio *et al.*, 2016; Diston *et al.*, 2018), 18,2% na Ásia (Odagiri *et al.*, 2016; Malla *et al.*, 2018) e 9,1% na África (Sorensen *et al.*, 2015). Fato que demonstra a universalidade do uso de biomarcadores alternativos como forma de identificar as fontes de contaminação fecal na água de consumo humano (Borrego *et al.*, 1987; Silva *et al.*, 2015; Rios-Tobon, Agudelo-Cadavid & Gutierrez-Builes, 2017; WHO, 2017).

Quanto ao período de publicação dos artigos, observou-se que, a partir de 2015, houve um incremento no número de pesquisas (8/11) que abordaram biomarcadores alternativos da qualidade da água (Bianco *et al.*, 2015; Rodrigues *et al.*, 2015; Sorensen *et al.*, 2015; Giglio *et al.*, 2016; Odagiri *et al.*, 2016; Weiss *et al.*, 2016; Diston *et al.*, 2018; Malla *et al.*, 2018). Destaca-se que 72,7 % dos estudos (8/11), mostraram como tipo de amostra de água analisada proveniente de captação subterrânea (Copeland *et al.*, 2009; Krolik *et al.*, 2014; Sorensen *et al.*, 2015; Giglio *et al.*, 2016; Odagiri *et al.*, 2016; Weiss *et al.*, 2016; Diston *et al.*, 2018; Malla *et al.*, 2018), evidenciando o uso de água proveniente de poço com fonte importante de abastecimento humano.

Dos estudos selecionados, 5 (45,4%) utilizaram *E. coli* (Krolik *et al.*, 2014; Bianco *et al.*, 2015; Giglio *et al.*, 2016; Weiss *et al.*, 2016; Malla *et al.*, 2018) e 5 coliformes termotolerantes (Copeland *et al.*, 2009; Rodrigues *et al.*, 2015; Sorensen *et al.*, 2015; Odagiri *et al.*, 2016; Diston *et al.*, 2018) como biomarcadores tradicionais da qualidade da água, como ponto de partida das pesquisas. Tais indicadores demonstram que há contaminação fecal (independente da fonte de contaminação), e são utilizados no monitoramento da qualidade da água distribuída à população no mundo (Pulido *et al.*, 2005; Brasil, 2017; Rios-Tobon, Agudelo-Cadavid & Gutierrez-Builes, 2017; WHO, 2017).

Os bioindicadores alternativos da qualidade da água, que indicam contaminação fecal geral, utilizados em três estudos foram marcadores genéticos de Bacteriodales gerais (Krolik *et al.*, 2014; Odagiri *et al.*, 2016; Diston *et al.*, 2018) e fagos de *E. coli* (colifagos somáticos) (Diston *et al.*, 2018). Nas amostras com presença de coliformes termotolerantes, os colifagos somáticos e dois marcadores de Bacteriodales gerais analisados no mesmo estudo, foram detectados em 100%, 77% e 54% das amostras respectivamente, e não se observou nenhuma inibição nas amostras analisadas (Weiss *et al.*, 2016). Em outro estudo, detectou-se 76,4% das amostras com marcadores de Bacteriodales gerais das amostras que havia a presença de *E. coli* (Krolik *et al.*, 2014). Tais estudos sugerem a opção econômica pelo uso de biomarcadores tradicionais em comparação aos alternativos, quando se busca indicar contaminação fecal inespecífica (Krolik *et al.*, 2014; Diston *et al.*, 2018). No entanto, um estudo na Índia, apresentou maior detecção para marcadores genéticos de Bacteriodales gerais do que de coliformes termotolerantes para as mesmas amostras provenientes de poços e lagoas (Odagiri *et al.*, 2016).

Na busca da origem da fonte de contaminação fecal, destacou-se a utilização de marcadores genéticos de Bacteriodales específico de humanos e ruminantes em 54,5% (6/11) das pesquisas (Krolik *et al.*, 2014; Bianco *et al.*, 2015; Odagiri *et al.*, 2016; Weiss *et al.*, 2016;

Diston *et al.*, 2018; Malla *et al.*, 2018), de suínos em 18,2% (2/11) (Bianco *et al.*, 2015; Malla *et al.*, 2018) e de equinos em um estudo (Bianco *et al.*, 2015). Proporcionalmente, as taxas de detecção de marcadores Bacteriodales específico de humanos foram maiores do que de animais, em 50% dos estudos (Krolik *et al.*, 2014; Diston *et al.*, 2018; Malla *et al.*, 2018). Apenas em um estudo, não houve detecção de marcadores humanos (Weiss *et al.*, 2016). Dois estudos tiveram maior detecção de marcadores de Bacteriodales de animais do que de humanos (Bianco *et al.*, 2015; Odagiri *et al.*, 2016;). Importante destacar que os últimos dois estudos indicaram as amostras analisadas provenientes de lagoas, e os estudos que detectaram como a maior fonte de contaminação de origem humana, foram provenientes de captação subterrânea. A qualidade da água pode sofrer interferências de fatores ambientais, como resultados de ações antrópicas (Krolik *et al.*, 2014; Odagiri *et al.*, 2016; Giglio *et al.*, 2016; Malla *et al.*, 2018). Estes resultados também foram apontados em outros estudos anteriores (Fernández-Molina, Álvarez-Alcántara & Espigares-García, 2001; Pulido *et al.*, 2005). As prováveis origens dessas contaminações podem estar relacionadas ao destino inadequado de águas residuais, concentrações de residências, proximidades de aterros sanitários (Krolik *et al.*, 2014; Odagiri *et al.*, 2016; Diston *et al.*, 2018; Malla *et al.*, 2018), tipo de cobertura de solo e atividade agropecuária presente na região (Weiss *et al.*, 2016; Diston *et al.*, 2018; Malla *et al.*, 2018).

O primeiro estudo que utilizou biomarcadores do domínio Archaea em conjunto com marcadores genéticos de Bacteriodales, para determinação da fonte de contaminação fecal de origem humana, bovina, suína e equina, em água superficial no Rio de Janeiro ocorreu em 2015. Os marcadores genéticos das arqueas, específicos de humanos, suínos e equinos foram detectados em 100% das amostras analisadas, já os marcadores de Bacteriodales tiveram uma taxa de detecção menor: 67%, 91% e 83% respectivamente. Os marcadores de Bacteriodales de equinos foram detectados em 100% das amostras analisadas e os arqueos em 91%. O presente estudo demonstrou que os marcadores arqueais foram mais prevalentes nos corpos de água estudados (Bianco *et al.*, 2015).

A sensibilidade e a especificidade dos marcadores espécie-específicos, que utilizam a metodologia de rastreamento microbiológico (Microbial Source Tracking) para determinação da fonte de contaminação fecal, podem variar de acordo com a região estudada e devem ser validados localmente, antes de serem incluídos nas análises regulares de água (Krolik *et al.*, 2014; Bianco *et al.*, 2015; Odagiri *et al.*, 2016; Diston *et al.*, 2018). Estas variações podem ocorrer devido à presença de nutrientes e condições ambientais distintas. O uso desta metodologia deve ser combinado ao monitoramento de biomarcadores de contaminação fecal convencionais (Bianco *et al.*, 2015; Odagiri *et al.*, 2016; Weiss *et al.*, 2016; Diston *et al.*, 2018).

A detecção de microorganismos patogênicos nas fontes de água é importante para avaliação da exposição e risco relacionado à saúde humana. Em águas subterrâneas, houve a detecção de *Salmonella* spp (Sorensen *et al.*, 2015; Giglio *et al.*, 2016), *Vibrio* spp (Sorensen *et al.*, 2015; Odagiri *et al.*, 2016), *P. aeruginosa* (Giglio *et al.*, 2016) e enterovírus (Diston *et al.*, 2018). Já, nas águas superficiais e subterrânea: adenovírus (Rodrigues *et al.*, 2015; Odagiri *et al.*, 2016), rotavírus, *Cryptosporidium* spp, *Giardia* spp e *E. coli* enteropatogênica (Odagiri *et al.*, 2016). Em armazenamento intradomiciliar, encontrou-se *Cryptosporidium* spp (Copeland *et al.*, 2009).

A avaliação da instabilidade biológica entre a saída do tratamento e a distribuição de água em um sistema de abastecimento demonstrou aumento de parâmetros biológicos como células intactas e concentração de ATP (trifosfato de adenosina). Na saída do tratamento, havia apenas 2% de células intactas e baixa concentração de ATP intracelular, e à medida que a concentração de cloro residual livre foi se perdendo na rede de distribuição, ocorreu o aumento das células intactas e de ATP intracelular, demonstrando que houve um crescimento bacteriano e correlação significativa entre estes dois parâmetros analisados. Já, as bactérias heterotróficas não apresentaram correlação com o ATP, levantando dúvidas sobre sua utilização neste tipo de avaliação. Concluiu-se no estudo, que a contagem de células intactas e a concentração de ATP intracelular são métodos mais significativo que bactérias heterotróficas, para avaliar e entender a instabilidade biológica, particularmente em ambientes clorados (Nescerecka *et al.*, 2014).

A variabilidade sazonal da ocorrência dos biomarcadores de contaminação fecal foi identificada em 60% dos estudos que realizaram essa avaliação (Sorensen *et al.*, 2015; Giglio *et al.*, 2016; Malla *et al.*, 2018). Houve aumento da concentração de *E. coli* (Sorensen *et al.*, 2015; Malla *et al.*, 2018) e os biomarcadores alternativos (Sorensen *et al.*, 2015) na estação úmida em comparação a estação seca. Na Itália, tanto a *E. coli* como *Salmonella* spp e *P. aeruginosa* foram significativamente propensos a serem mais adequados na água de consumo humano no outono/inverno do que na primavera /verão (Giglio *et al.*, 2016). No entanto, outros estudos não observaram essa sazonalidade (Krolik *et al.*, 2014; Odagiri *et al.*, 2016).

Quando o objetivo da investigação é a identificação da contaminação fecal inespecífica, os biomarcadores tradicionais (*E. coli* e coliformes termotolerantes) são as opções mais econômicas e simples, em detrimento aos marcadores genéticos de Bacteriodales gerais e colifagos somáticos. No que tange aos biomarcadores alternativos espécie-específica, a alta detecção de marcadores humanos e de animais, principalmente em águas subterrâneas, demonstra a importância do uso desses bioindicadores para avaliar o impacto das ações antrópicas na água destinadas ao consumo humano. Os biomarcadores alternativos específicos

permitem avaliar o risco à saúde humana frente às doenças de transmissão hídrica, além de direcionar as ações preventivas e de mitigação para a origem da fonte de contaminação, onde o estudo foi realizado.

5. Conclusão e Sugestões

A poluição fecal nas fontes de água destinada ao consumo humano é uma grande preocupação para saúde pública e está intrinsecamente relacionada ao saneamento básico, em áreas urbanas ou rurais. A determinação da sua origem, sejam elas relacionadas ao destino inadequado de águas residuais, concentrações de residências, proximidades de aterros sanitários, tipo de cobertura de solo e atividade agropecuária, permite propor medidas de mitigação e remediação em relação às fontes de contaminação, com o objetivo de reduzir a exposição e risco à saúde humana.

A alta detecção de marcadores genéticos específicos de humanos em comparação aos de animais como fonte da contaminação fecal, além da detecção de organismos patogênicos, na maioria dos estudos analisados, em especial, em águas subterrâneas, apontam a necessidade de mais pesquisas que avaliem risco e incidência de doenças de veiculação hídrica nestes locais e identifiquem possíveis fontes de contaminação humana envolvidas.

A construção desse estudo deixa clara a necessidade da realização de pesquisas complementares. Assim, sugere-se estudos longitudinais que avaliem a qualidade da água ao longo do tempo e que considerem as diferenças regionais para a adequada utilização de biomarcadores alternativos, que identifiquem a fonte de contaminação fecal da água destinada ao consumo humano em diferentes formas de abastecimento. Também é importante, verificar se há variação sazonal na ocorrência e na intensidade dessas contaminações.

Referências

Bianco, K., *et al.* (2015). Fecal pollution source tracking in waters intended for human supply based on archaeal and bacterial genetic markers. *Journal of Water and Health*, 13 (4), 985-95. DOI: <https://doi.org/10.2166/wh.2015.292>.

Borrego, J. J., *et al.* (1987). Coliphages as an indicator of faecal pollution in water. its relationship with indicator and pathogenic microorganisms. *Wat. Res.*, 21 (12), 1473-80. DOI: [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(87\)90130-8](https://doi.org/10.1016/0043-1354(87)90130-8).

Brasil. (2006). Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. *Boas práticas no abastecimento de água: procedimentos para a minimização de riscos à saúde*. Brasília: MS. 252 . Recuperado de http://www.cvs.saude.sp.gov.br/pdf/boas_praticas_agua.pdf.

Brasil. (2016). Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância em Saúde Ambiental e Saúde do Trabalhador. *Diretriz Nacional do Plano de Amostragem da Vigilância da Qualidade da Água para Consumo Humano*. Brasília: MS. 51p. Recuperado de <http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2016/junho/06/diretriz-nacional-plano-amostragem-agua.pdf>.

Brasil. (2017). Ministério da Saúde. *Portaria da Consolidação nº 5, de 03 de outubro de 2017, Anexo XX*. 2017. Estabelece o controle e da vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. Recuperado de <https://cevs-admin.rs.gov.br/upload/arquivos/201804/26143402-anexo-xx.pdf>.

Copeland, C. C. *et al.* (2009). Faecal contamination of drinking water in a Brazilian shanty town: importance of household storage and new human faecal marker testing. *Journal of Water and Health*, 7 (2), p. 324-31. DOI: <https://doi.org/10.2166/wh.2009.081>.

Diston, D. *et al.* (2018). Microbial source tracking in highly vulnerable karst drinking water resources. *Journal of Water and Health*, 16 (1), p. 138-49. DOI: <https://doi.org/10.2166/wh.2017.215>.

Fernández-Molina, M., Álvarez-Alcántara, A., & Espigares-García, M. (2001). Transmisión fecohídrica y virus de la hepatitis A. *Hig San Amb*, 1, 8–18. Recuperado de https://pdfs.semanticscholar.org/d1a1/e439f4eea499b7f4e9b0b6885fd045731e5d.pdf?_ga=2.232622367.1800065763.1594922855-1667938919.1566854101.

Giglio, O. *et al.* (2016). Microbiological and hydrogeological assessment of groundwater in southern Italy. *Environ Monit Assess*, 188 (638), 1-9. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10661-016-5655-y>.

Harwood, V. J., *et al.* (2014). Microbial source tracking markers for detection of fecal contamination in environmental waters: relationships between pathogens and human health outcomes. *FEMS Microbiol Rev*, 38 (1), 1–40. DOI: <https://doi.org/10.1111/1574-6976.12031>.

Krolik, J., *et al.* (2014). Microbial source tracking and spatial analysis of *E. coli* contaminated private well waters in southeastern Ontario. *Journal of Water and Health*, 12 (2), 348-57. DOI: <https://doi.org/10.2166/wh.2013.192>.

Malla, B., *et al.* (2018). Identification of Human and Animal Fecal Contamination in Drinking Water Sources in the Kathmandu Valley, Nepal, Using Host-Associated Bacteroidales Quantitative PCR Assays. *Water*, 10 (1), 1-16. DOI: <https://doi.org/10.3390/w10121796>.

Mendonça, F. C., *et al.* (2019). Avaliação da qualidade de água para consumo humano em fonte subterrânea na região do recôncavo da Bahia. *Águas Subterrâneas*, 33 (4), 1-8. DOI: <https://doi.org/10.14295/ras.v33i4.29751>.

Nescerecka, A. *et al.* (2014). Biological Instability in a Chlorinated Drinking Water Distribution Network. *PLoS ONE*, 9 (5), 1-11. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0096354>.

Odagiri, M., *et al.* (2016). Human fecal and pathogen exposure pathways in rural Indian villages and the effect of increased latrine coverage. *Water Research*, 100, 232-44. DOI: [10.1016/j.watres.2016.05.015](https://doi.org/10.1016/j.watres.2016.05.015).

Pereira, A. S., *et al.* (2018). *Metodologia da pesquisa científica*. [e-book]. Santa Maria. Ed. UAB/NTE/UFSM. Recuperado de https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/15824/Lic_Computacao_Metodologia-Pesquisa-Cientifica.pdf?sequence=1.

Pulido, M. P. A., *et al.* (2005). Indicadores microbiológicos de contaminación de las fuentes de agua. *Nova Publicacion Científica*, 3 (4), 69-79. DOI: <https://doi.org/10.22490/24629448.338>.

Ramírez-Gonzales, A., & Viña-Vizcaíno, G. (2000). *Limnología colombiana, aportes a su conocimiento*. Colombia: Fundación Universidad Jorge Tadeo Lozano. 293p.

Rios-Tobon, S., Agudelo-Cadavid, R. M., & Gutierrez-Builes, L. (2017). Pathogens and Microbiological Indicators of the Quality of Water for Human Consumption. *Rev. Fac. Nac. Salud Pública*, 35 (2), 236-47. DOI: <https://doi.org/10.17533/udea.rfnsp.v35n2a08>.

Rodrigues, M. T., *et al.* (2017). Human adenovirus spread, rainfalls, and the occurrence of gastroenteritis cases in a Brazilian basin. *Environ Monit Assess*, 187 (720), 1-12. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10661-017-5979-2>

Silva, M. C. A., *et al.* (2015). Avaliação da viabilidade de utilização de colifagos como indicadores de poluição fecal: suas relações com parâmetros físicos e químicos e indicadores bacterianos. *Eng Sanit Ambient*, 20 (4), 645-52. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1413-41522015020040132584>.

Sorensen, J. P. R., *et al.* (2015). Tracing enteric pathogen contamination in sub-Saharan African groundwater. *Science of the Total Environment*, 538, 888–95. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.08.119>.

Souza, M. T, Silva, M. D., & Carvalho, R. (2010). Revisão integrativa: o que é e como fazer. *Einstein*, 8 (1), 102-106. DOI: <https://doi.org/10.1590/s1679-45082010rw1134>.

United Nations General Assembly (Unga). (2015). Resolution adopted by the General Assembly on 25 September 2015. *Transforming our world: the 2030 Agenda for Sustainable Development*. Recuperado de https://www.un.org/ga/search/view_doc.asp?symbol=A/RES/70/1&Lang=E.

Weiss, P., *et al.* (2016). Well water quality in rural Nicaragua using a low-cost bacterial test and microbial source tracking. *Journal of Water and Health*, 14 (2), 199-207. DOI: <https://doi.org/10.2166/wh.2015.075>.

World Health Organization (WHO). (2017). *Guidelines for drinking water quality: fourth edition incorporating the first addendum*. Geneva, WHO. 542p. Recuperado de https://www.who.int/water_sanitation_health/publications/drinking-water-quality-guidelines-4-including-1st-addendum/en/.

World Health Organization (WHO) & The United Nations Children's Fund (UNICEF). (2017). *Progress on drinking water, sanitation and hygiene: 2017 update and SDG baselines*. Geneva; WHO. Recuperado de://www.unicef.org/publications/index_96611.html.

Zorzi, L., Turatti, L., & Mazzarino, J. M. (2016). O direito humano de acesso à água potável: uma análise continental baseada nos Fóruns Mundiais da Água. *Rev. Ambient. Água*, 11 (4), 954-71. DOI: <https://doi.org/10.4136/ambi-agua.1861>.

Porcentagem de contribuição de cada autor no manuscrito

Carla Regina Daronco – 35%

Renata Linassi Bárta – 10 %

José Antônio Gonzalez da Silva – 10%

Christiane de Fátima Colet – 10%

Eniva Miladi Fernandes Stumm – 35%