

AVALIAÇÃO DE COLIFORMES TOTAIS, FECAIS EM BEBEDOUROS LOCALIZADOS EM UMA INSTITUIÇÃO DE ENSINO DE GUARULHOS

RESEARCH OF TOTAL AND FECAL COLIFORMS IN DRINKING FOUNTAINS LOCATED IN AN INSTITUTION OF TEACHING OF GUARULHOS CITY

Pongeluppe AT*, Oliveira DB**, Silva EA***, Aguilera KK****, Zitei V*****, Bastos MF*****

RESUMO: Água com qualidade ou água potável é aquela destinada ao consumo, cujos parâmetros microbiológicos, físicos, químicos e radioativos estão dentro do padrão de potabilidade que não oferece riscos à saúde humana. O objetivo deste estudo foi avaliar a qualidade microbiológica da água consumida nos bebedouros de uma instituição de ensino da cidade de Guarulhos. Foram aleatoriamente escolhidos três bebedouros (A, B e C) situados em diferentes áreas da instituição e, foi avaliada a presença de enterobactérias no bocal dos bebedouros e, a presença de coliformes totais e fecais e contagem padrão de bactérias heterotróficas nas águas coletadas destes bebedouros. Foi detectada a presença das espécies *Citrobacter freundii* e *Klebsiella oxytoca* nas amostras 1 e 2 do bebedouro A, na amostra 2 do bebedouro B e nas amostras 1 e 3 de bebedouro C. A análise das águas demonstrou ausência de crescimento para as amostras coletadas dos bebedouros B e C. Porém, das 5 amostras coletadas do bebedouro A, três apresentaram contaminação por coliformes totais. Não foi observada contaminação da água por bactérias heterotróficas. Estes resultados sugerem uma falha na higienização dos bebedouros da instituição e foram apresentados à Direção da Instituição para que as devidas medidas fossem tomadas.

PALAVRAS-CHAVE: Qualidade da água. Contaminação. Coliformes. Bebedouros.

ABSTRACT: *Quality of drinking water is important to the maintenance of life and health of all organisms, and it should be free of contamination by chemicals, radioactive agents and microorganisms. The objective of this study was to evaluate the microbiological quality of water consumed from drinking fountains in an Institution of Teaching of Guarulhos city. Three drinking fountains (A, B and C) located in different places of the institution were selected to the analysis. Initially samples of external sites of drinking fountains were collected with a swab to evaluate the presence of bacteria from Enterobacteriaceae family. Subsequently, samples of water were collected and analyzed for total and fecal coliforms. It was detected the presence of *Citrobacter freundii* and *Klebsiella oxytoca* in the samples of drinking fountains A, B and C. It was not observed the presence of heterotrophic species. Taken together, these results demonstrated unsatisfactory hygienic conditions of the drinking fountains located at Educational Institution in Guarulhos city and the Institution's direction was informed about these data in order to improve the sanitary conditions of water and drinking fountains.*

KEY WORDS: *Water. Contamination. Coliforms. Drinking fountains.*

AUTOR CORRESPONDENTE:

* Andrea Tavares Pongeluppe, aluna da graduação em Biologia da Universidade Guarulhos – UnG.

** Daniela Batista de Oliveira, aluna da graduação em Biologia da Universidade Guarulhos – UnG.

*** Edna Aparecida da Silva, aluna da graduação em Biologia da Universidade Guarulhos – UnG.

**** Karen Kocis Aguilera.

***** Valéria Zitei, BSc, Bióloga.

***** Marta Ferreira Bastos, BMSc, MS, PhD, Professora Assistente da Universidade Guarulhos – UnG.

Rua Dr. Nilo Peçanha, 81 – Centro – Guarulhos/SP – Brazil – 07023-070 – Phone: + 55 11 64641769 – Fax: + 55 11 64641758 – E-mail: mfbastos@prof.ung.br

INTRODUÇÃO

A origem e manutenção da vida dependem totalmente da água, pois este é o mais abundante componente das células. Devido a sua grande importância, quer seja na nutrição ou na higiene dos alimentos, diferentes agentes podem ser transportados pela água e, desta forma podem ter fácil acesso ao organismo, caracterizando a água como elemento transmissor de doenças^{1,2,3}.

Água com qualidade ou água potável é aquela destinada ao consumo, cujos parâmetros microbiológicos, físicos, químicos e radioativos estão dentro do padrão de potabilidade que não oferece riscos à saúde humana. No Brasil, as regras que determinam a potabilidade da água foram estabelecidas pela Portaria de nº 518, do Ministério da Saúde em 26 de março de 2004. Porém em diversas regiões as condições de saneamento e qualidade das águas são precárias, e permitem que estas provoquem vários surtos epidêmicos e altas taxas de mortalidade infantil⁵.

Os principais patógenos transmitidos pela água pertencem ao grupo dos coliformes totais formado principalmente pelos gêneros *Escherichia*, *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Serratia* e *Enterobacter*. Caracterizados como bacilos Gram negativos, aeróbios ou anaeróbios facultativos, não formadores de esporos, oxidase-negativos, capazes de desenvolver na presença de sais biliares ou agentes tensoativos que fermentam a lactose com produção de ácido, gás e aldeído a 35°C no período de 24 a 48 horas, e que podem apresentar atividade da enzima β -galactosidase^{6,7}. Os coliformes termotolerantes, também denominados coliformes fecais, é um subgrupo do grupo coliforme e apresenta como principal representante a *Escherichia coli*, de origem exclusivamente fecal considerada o mais específico indicador de contaminação fecal e de eventual presença de organismos patogênicos. Esta espécie apresenta capacidade de fermentar a lactose e manitol, com produção de ácido e gás a 45°C em 24 horas, produz indol a partir do triptofano, oxidase negativa, não hidroliza a uréia e apresenta atividade das enzimas β galactosidase e β glucuronidase^{8,9},

Os coliformes fecais têm sido um dos indicadores mais utilizados na avaliação da qualidade de água. Um dos problemas da utilização deste grupo como indicador de patógenos entéricos, que os difere dos coliformes totais, é que este subgrupo possui um menor tempo de sobrevivência e não apresenta condições de desenvolvimento no meio aquático, porém é útil como um indicador de contaminação recente^{9,10}.

As bactérias heterotróficas são extensivamente estudadas como importantes componentes de ecossistemas aquáticos, por contribuírem para a estrutura e a dinâmica da cadeia

alimentar deste ambiente. Além disto, a contagem do número de bactérias heterotróficas tem sido utilizada para monitorar os níveis de contaminação orgânica nos ambientes aquáticos¹².

O presente trabalho teve como objetivo realizar a análise microbiológica das amostras de água coletadas de bebedouros de uma instituição de ensino da cidade de Guarulhos quanto à presença de coliformes totais, fecais e bactérias heterotróficas e também avaliar a presença de enterobactérias nos bocais dos bebedouros.

MATERIAL E MÉTODOS

Coleta das amostras

Foram analisados três bebedouros (A, B e C), localizados em diferentes regiões do prédio da Instituição de Ensino, da cidade de Guarulhos. Estes bebedouros forneciam água tanto para alunos como para professores da instituição. As coletas foram realizadas de acordo com manual da Fundação Nacional de Saúde¹³. Inicialmente foi realizada a análise dos bocais dos bebedouros por meio da coleta de três amostras de cada um dos bocais dos bebedouros com swabs estéreis, totalizando nove amostras. As amostras de água foram coletadas em frascos estéreis contendo 0,1 ml de tiosulfato de sódio a 10%. Antes da coleta da água, o bocal dos bebedouros foi desinfetado com álcool 70%. Em seguida a torneira foi aberta para que a água escorresse durante dois minutos, e então foi realizada a coleta de cinco amostras para cada bebedouro.

Análises Microbiológicas do bocal

Foram coletadas três amostras de cada bebedouro, totalizando nove amostras que foram inicialmente semeadas em BHI e depois em ágar MacConkey para isolamento de bactérias Gram negativas e fermentadoras de lactose¹⁴. Após a semeadura, as placas foram incubadas a 37° C por 24h. Subseqüentemente, as placas que apresentaram crescimento em ágar MacConkey, tiveram as colônias semeadas em meio EPM e MILI, para identificação bioquímica das bactérias pertencentes à família Enterobacteriaceae, e os tubos foram incubados a 37° C por 24h.

O meio EPM foi utilizado para avaliar a produção de gás por fermentação da glicose, produção de H₂S, hidrólise da uréia e desaminação do triptofano. O meio MILI foi usado para avaliar a motilidade, produção de indol e descarboxilação da lisina, e os resultados foram obtidos por meio das características observadas nos diferentes tubos. Para o meio EPM, amostras positivas apresentavam presença de bolhas ou deslocamento do meio do fundo do tubo, que indica a produção de gás; o enegrecimento do meio em qualquer intensidade representou a

produção de H_2S , e nos casos em que ocorreu hidrólise da uréia uma coloração verde-azulada pode ser observada. Para o meio MILI, a motilidade bacteriana foi positiva quando ocorreu a turvação do meio ao redor da picada feita durante a semeadura e, a descarboxilação da lisina foi indicada pela presença da cor púrpura no meio para as amostras positivas e, para as negativas o meio adquiriu uma coloração amarela nítida nos 2/3 inferiores. A produção de Indol foi avaliada pela adição do reativo de Kovacs, que formou um anel rosa na superfície do meio em caso de amostras positivas¹⁴.

Análises Microbiológicas da água

Os coliformes totais e fecais foram determinados pela técnica de fermentação em tubos múltiplos, no qual foi utilizado caldo lactose para o teste presuntivo e caldo verde brilhante no teste confirmativo para coliformes totais. O caldo *Escherichia coli* (EC) foi utilizado no teste confirmativo para coliformes fecais. A semeadura das amostras foi realizada por meio da adição de 1 ml da amostra da água coletada em 9 ml de meio de cultura e os tubos com meio EC foram incubados a 44,5°C, enquanto os demais foram incubados a 37° durante 24 h¹³.

Contagem padrão de Bactérias

A contagem padrão de bactérias foi utilizada para identificar contaminação das amostras por bactérias heterotróficas. Primeiramente foi realizada a diluição das amostras de água para concentrações de 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} a partir da solução original. Em seguida foram retirados 0,1 ml do tubo que continha as diferentes diluições e as amostras foram colocadas em placas de petri estéreis, nas quais foi adicionado o meio PCA (Plate Count Agar). Após a solidificação do meio, as placas foram incubadas a 37° C por 24h¹³.

RESULTADOS

A análise microbiológica da região dos bocais dos bebedouros situados em diferentes prédios da instituição revelou que das nove amostras testadas, cinco apresentaram crescimento positivo em Agar MacConkey (55,55%) (Tabela 1). Em seguida os resultados observados em meio EPM-MILI revelaram a presença das espécies *Citrobacter freundii* e *Klebsiella oxytoca* nas amostras 1 e 2 do bebedouro A, na amostra 2 do bebedouro B e nas amostras 1 e 3 do bebedouro C (Tabela 2).

Tabela 1: Análise microbiológica dos bocais dos bebedouros em ágar MacConkey.

BEBEDOURO		CRESCIMENTO
A	Amostra 1	+
	Amostra 2	+
	Amostra 3	-
B	Amostra 1	-
	Amostra 2	+
	Amostra 3	-
C	Amostra 1	+
	Amostra 2	-
	Amostra 3	+

Tabela 2: Identificação bioquímica das enterobactérias presentes nos bocais dos bebedouros em meios EPM e MILI.

	MEIO EPM				MEIO MILI		
	Gás	H_2S	U	LTD	Mot	I	Lis
<i>Citrobacter freundii</i>	+	+	-	-	+	-	-
<i>Klebsiella oxytoca</i>	-	-	+	-	-	-	-

Notas: U: Urease; LTD: L-triptofano desaminase;
Mot: Motilidade; I: Indol; Lis: Lisina

A análise das águas realizada pelo teste dos tubos múltiplos demonstrou ausência de crescimento para as amostras coletadas dos bebedouros B e C. Porém, das 5 amostras coletadas do bebedouro A, três apresentaram crescimento em caldo lactose e BVB (Caldo Verde Brilhante) demonstrando contaminação por coliformes totais. Porém o teste confirmativo para coliformes fecais, realizado em caldo EC, foi negativo (Tabela 3).

Tabela 3: Análises microbiológicas das águas dos bebedouros pela técnica de tubos múltiplos.

Amostra	Coliformes totais (NMP/100ml)	Coliformes fecais (NMP/100ml)
A	9,2	Ausente
B	Ausente	Ausente
C	Ausente	Ausente

A contaminação da água por bactérias heterotróficas foi avaliada pelo teste em ágar PCA e não foi observado crescimento para nenhuma das amostras analisadas. Na tabela 4 pode ser observado o NMP (Número Mais Provável) da análise das

águas dos três bebedouros analisados. As análises revelaram ausência de contaminação para os bebedouros B e C, porém novamente o bebedouro A apresentou contaminação e o NMP foi de 9,2 (limite mínimo de 1,6 e máximo de 29,4).

DISCUSSÃO

A importância da água para manutenção da vida na Terra é um assunto extremamente discutido nos diferentes meios de comunicação. A vida terrestre depende totalmente da água limpa e livre de impurezas, microorganismos e poluição. Porém, mais de cinco milhões de pessoas morrem de doenças causadas pela contaminação da água¹⁵ e esta constante preocupação despertou o interesse em analisar a água consumida pelos estudantes, professores e funcionários de uma Instituição de Ensino da cidade de Guarulhos.

A análise microbiológica dos bebedouros e da água realizada neste estudo revelou a presença de contaminação por enterobactérias nos bocais de todos os bebedouros avaliados, o que demonstra uma falha na higienização dos mesmos. Estudos que façam avaliação da parte externa do bebedouro não são encontrados na literatura o que nos impede de fazer uma comparação mais direta dos resultados.

Por outro lado, o presente estudo também demonstrou a presença de coliformes totais na água de um dos bebedouros avaliados, o que revelou uma contaminação localizada no prédio onde o bebedouro A se encontrava. A presença de bactérias do grupo coliforme em água potável é vista como um indicador de contaminação fecal intimamente ligado a tratamento inadequado ou inabilidade em manter a desinfecção residual da água tratada⁷.

A análise microbiológica da água de bebedouros de instituições de ensino já foi avaliada por outros estudos, com resultados negativos e positivos para contaminação por coliformes totais. Estudo realizado por Gomes et al (2005)¹⁶ foi o único que não detectou contaminação por coliformes totais nas amostras de águas de bebedouros. Este estudo foi realizado com amostras coletadas em uma Instituição de Ensino Superior do sul de Minas Gerais. Os demais trabalhos realizados sempre detectaram a presença de coliformes totais. Em 2001, Azerêdo¹⁷ avaliaram a presença de coliformes totais e termotolerantes em águas de bebedouros instalados em diferentes setores da Universidade Federal da Paraíba e detectaram NMP de 2,0 para 100 ml de água. Oliveira e Terra (2004)¹⁸ realizaram a análise microbiológica das águas de bebedouros da Faculdade de Medicina do Triângulo Mineiro e demonstraram a presença de coliformes totais em todas as amostras coletadas. Os autores ainda descreveram que os bebedouros que apresentaram as

menores taxas de contaminação foram aqueles abastecidos diretamente da rua, sem passar pelos reservatórios existentes no prédio da Faculdade. Mais recente, em 2007, Fortuna et al¹⁹ determinaram a presença de coliformes totais e termotolerantes em 2,78% das amostras.

Os resultados obtidos no presente estudo (NMP de 9,2) para o bebedouro A estão fora dos padrões microbiológicos de potabilidade definidos pela portaria 518 do Ministério da Saúde, o que define a água de tal bebedouro como imprópria para o consumo⁴. Os resultados diferentes obtidos entre os bebedouros A e os demais podem ser justificados pelo fato deste encontrar-se localizado bem ao lado de banheiros e também por estar constantemente desligado da rede elétrica, o que prejudicaria a refrigeração da água e o aumento do risco de contaminação¹⁶. Estes resultados foram apresentados à Direção da Instituição para que as devidas medidas de higienização fossem tomadas. Novas análises deverão ser realizadas a fim de monitorar a qualidade da higienização e da água dos bebedouros desta instituição para que o risco de contaminação por microorganismos patogênicos seja eliminado.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Riedel, G. Controle Sanitário dos Alimentos. 3ª ed. São Paulo: Atheneu; 2005.
2. Moraes DSL, Jordão BQ. Degradação de recursos hídricos e seus efeitos sobre a saúde humana. Rev Saúde Pública. 2002;36(3):370-4.
3. Sperling MV. Introdução à qualidade das águas e tratamento de esgotos. 2ª ed. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, Universidade Federal de Minas Gerais; 1996.
4. Brasil. Ministério da Saúde. Portaria nº. 518, de 25 de março de 2004. Estabelece os procedimentos e responsabilidades relativos ao controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade, e de outras providências. Diário Oficial. Brasília, 2004 mar. 26:266-270.
5. Sá LLC, Jesus IM, Santos ECO, Vale ER, Loureiro, ECB, Sá EV. Qualidade Microbiológica da água para consumo humano em duas áreas contempladas com intervenções de saneamento – Belém do Pará, Brasil. Epidem e serviços de Saúde. 2005;14(3):171-80.
6. Freitas MB, Brilhante OM, Almeida LM. 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 de Saúde Pública. 2001;17(3):651-60.
7. Edberg SC, Edberg MM. A defined substrate technology for the enumeration of microbial indicators of environmental pollution. Appl and Environment Microb. 1988;54:1595-601.
8. LeClerc H, Mossel DAA, Edberg SC, Struijk CB. Advances in the bacteriology of the coliform group: their suitability as markers of microbial water safety. Annl Rev Microb. 2001;55:201-34.

9. Rompré A, Servais P, Baudart J, de-Roubin MR, Laurent P. Detection and enumeration of coliforms in drinking water: current methods and emerging. *J Microb Methods*. 2002;49:31-54.
10. Barrow GI. Bacterial indicators and standards of water quality in Britain. In: Hoadley, AW, Dutka, BJ. *Bacterial indicators, health hazard associated with water*, ASTM STP 635. Philadelphia: American Society for Testing and Materials; 1977. p. 289-336.
11. Alves NC, Odorizzi, AC, Goulart FC. Análise microbiológica de águas minerais e de água potável de abastecimento, Marília (SP). *Rev Saúde Pública*. 2002;36(6):749-51.
12. Kolm HE, Giamberardino Filho RE, Korman MC. Spatial distribution and temporal variability of heterotrophic bacteria in the sediments of Paranaguá and Antonina Bays, Paraná, Brazil *Rev Microbiol*. 1997;28:230-8.
13. Brasil, Fundação Nacional de Saúde (FUNASA). *Manual Prático de análise de água*. 2ª ed. Brasília: Fundação Nacional de Saúde. 146p. 2006.
14. Koneman EW, Allen SD, Dowdle Junior VR, Sommers HM. *Microbiology Diagnostic*. 4ª ed. Philadelphia: Lippincott Co.; 1996.
15. UNESCO (Brasil). *Por uma nova ética no uso da água*. Rio de Janeiro. [acesso em 2009 mar. 02]. Disponível em: www.unesco.org.br.
16. Gomes PCFL, Campos JJ, Menezes M, Veiga, SMOM. Análise físico-química e microbiológica da água de bebedouros de uma IFES do sul de Minas Gerais. *Rev Hig Alimentar*. 2005; 19(133):63-5.
17. Azerêdo G. Caracterização das águas dos bebedouros do Campus I – Universidade Federal da Paraíba, sob o ponto de vista microbiológico. *Rev Hig Alimentar*. 2001;15:79-82.
18. Oliveira ACS, Terra APS. Avaliação Microbiológica das águas de bebedouros do campus I da Faculdade de Medicina do Triângulo Mineiro, em relação à presença de coliformes totais e fecais. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2004;37(3):285-6.
19. Fortuna JL, Rodrigues MT, Souza SL, Souza L. Análise microbiológica da água dos bebedouros do campus da Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF): coliformes totais e termotolerantes. *Ver Hig Alimentar* 2007;21(153):102-5.