

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

Lívia Botacini Favoretto Pigatin¹

Fernanda Benetti¹

Rut Naiara Rodrigues¹

Sidinei Tacão Júnior²

Julio Cesar Trofino¹

Juliano José Corbi¹

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

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

Resumo

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

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

Abstract

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

Palavras-chave

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

Introdução

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Materiais e Métodos

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Resultados

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

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

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

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

Conclusão

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

Agradecimentos

Referências

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

2 TORRES, D. A. G. V. CHIEFFI P.P.; COSTA W. A.; KUDZIELICS E. Giardíase em

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

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

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

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

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

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

110, 2006.

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

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

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

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

Tabelas

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

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

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

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