

**UNIVERSIDADE SAGRADO CORAÇÃO**

**SUELLEN FRANCINE ALVARES BRANCO**

**ANÁLISE DE ÁGUA SUBTERRÂNEA PARA  
CONSUMO HUMANO COM ENFOQUE PARA  
COLIFORMES**

BAURU  
2011

**SUELLEN FRANCINE ALVARES BRANCO**

**ANÁLISE DE ÁGUA SUBTERRÂNEA PARA  
CONSUMO HUMANO COM ENFOQUE PARA  
COLIFORMES**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Centro de Ciências Exatas e Sociais Aplicadas da Universidade Sagrado Coração como parte dos requisitos para obtenção do título de bacharel em Química, sob orientação da Profa. Dra. Beatriz Antoniassi Tavares.

BAURU  
2011

B816a

Branco, Suellen Francine Alvares

Análise de água subterrânea para consumo humano com enfoque para coliformes / Suellen Francine Alvares Branco -- 2011.

31f. : il.

Orientadora: Profa. Ms. Beatriz Antoniassi Tavares.

Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Química - Bacharelado) - Universidade Sagrado Coração - Bauru - SP

1. Águas subterrâneas. 2. Poços artesianos. 3. Poluição. 4. Coliformes. 5. Qualidade microbiológica. I. Tavares, Beatriz Antoniassi. II. Título.

**SUELLEN FRANCINE ALVARES BRANCO**

**ANÁLISE DE ÁGUA SUBTERRÂNEA PARA CONSUMO HUMANO  
COM ENFOQUE PARA COLIFORMES**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Centro de Ciências Exatas e Sociais Aplicadas da Universidade Sagrado Coração como parte dos requisitos para obtenção do título de bacharel em Química sob orientação da Profa. Dra. Beatriz Antoniassi Tavares.

Banca examinadora:

---

Profa. Dra. Beatriz Antoniassi Tavares  
Universidade Sagrado Coração

---

Profa. Ms. Setsuko Sato  
Universidade Sagrado Coração

---

Ms. Giselda Passos Giafferis  
Departamento de Água e Esgoto de Bauru

Bauru, 21 de Junho de 2011.

Dedico este trabalho aos meus pais e minha irmã, pelo apoio e carinho oferecido em todos os momentos.

## **AGRADECIMENTOS**

- Agradeço primeiramente a Deus, por me permitir acordar a cada novo dia, pelo pleno funcionamento do meu corpo físico, mental, espiritual e emocional, pelos meus talentos, capacidades e serenidade. Sendo o Senhor Deus o meu refúgio e fortaleza, onde sempre encontrei respostas para os meus problemas.

- Sidinei e Mara, que estiveram comigo a cada passo da minha vida, sempre me apoiando, motivando e me ensinando a ser uma pessoa melhor. Mostraram-me que a honestidade e o respeito são essenciais à vida, e que devemos sempre lutar pelo que queremos. A eles devo a pessoa que me tornei, sou extremamente feliz e tenho muito orgulho por chamá-los de pai e mãe. AMO VOCÊS.

- Minha irmã Franciellen, que esteve sempre ao meu lado dando total apoio nestes três anos e meio do curso, pelo carinho, pela ajuda e principalmente pela compreensão. Obrigada minha irmã por me fazer sorrir quando o que eu queria era chorar.

- Agradeço meu namorado Gabriel por todos esses anos, de muito carinho, amizade, companheirismo, compreensão, ajuda e total felicidade. Obrigada por tudo meu amor, eu te amo.

- Agradeço também, a todos os professores de química da Universidade Sagrado Coração, que estiveram sempre dispostos para tirar qualquer dúvida, pelo agradável convívio e pelo aprendizado que nos proporcionaram. Aos amigos da universidade, alguns mais próximos, outros nem tanto, mas que de alguma forma contribuíram para que eu chegasse até aqui, especialmente minhas amigas Karina e Nathalie.

- Não poderia faltar a minha orientadora Beatriz, pelo aprendizado e dedicação por esses meses que trabalhamos juntas, e também pela sua compreensão e profissionalismo. Por seu apoio e inspiração no amadurecimento dos meus conhecimentos e conceitos que me levaram a execução e conclusão desta monografia.

"Para realizar grandes conquistas, devemos não apenas agir, mas também sonhar; não apenas planejar, mas também acreditar". (Anatole France)

"Não tenhas medo porque eu estou contigo". (Isaias 43,5)

## RESUMO

A água é considerada o recurso natural mais importante do mundo, sendo fundamental para que haja vida na superfície da Terra. A água subterrânea é usada como fonte de abastecimento doméstico, industrial e agrícola. No Brasil, o índice médio de domicílios com esgotamento sanitário é de 50,6%. O impacto do lançamento de esgotos sobre a qualidade das águas subterrâneas pode ser detectado através do surgimento de bactérias patogênicas, analisadas através de coliformes totais e termotolerantes. Através de infiltrações no solo, os poços artesianos podem ser contaminados por resíduos gerados pela atividade humana e animal, transmitindo uma grande variedade de doenças infecciosas. Considerando que a disponibilidade de água de boa qualidade é indispensável para o crescimento sustentável, a determinação da qualidade microbiológica é essencial para manter o controle dos padrões de potabilidade estabelecidos pela Portaria n.º 518 de 2004 do Ministério da Saúde/ANVISA. O objetivo do presente trabalho foi analisar a qualidade das águas subterrâneas pertencentes a poços artesianos particulares, na região de Bauru/SP, a fim de identificar a presença de coliformes totais, coliformes termotolerantes e *Escherichia coli*. Foram coletadas amostras de águas em cinco poços particulares, determinando a sua potabilidade através do método de Presença – Ausência (PA), de acordo com o Standard Methods. Os resultados obtidos foram analisados e comparados com outros resultados de responsabilidade do Departamento de Água e Esgoto de Bauru (DAE), revelando-se em alguns poços a falta de qualidade microbiológica das águas.

**Palavras chave:** Águas subterrâneas. Poços artesianos. Poluição. Coliformes. Qualidade microbiológica.

## ABSTRACT

Water is considered the most important natural resource in the world, there is fundamental for life on Earth's surface. Groundwater is used as a source of domestic supply, industry and agriculture. In Brazil, the average number of households with sewage is 50.6%. The impact of dumping of sewage on the quality of ground water can be detected through the appearance of pathogenic bacteria, analyzed by total and fecal coliforms. Infiltration through the soil, the wells can be contaminated by wastes generated by human activity and animal deposited in the soil, giving a wide variety of infectious diseases. Whereas the availability of good quality water is essential for sustainable growth, the determination of microbiological quality is essential to maintain control of the potability standards established by Ordinance No. 518 of 2004 the Ministry of Health / ANVISA. The aim of this study was to examine the quality of groundwater wells belonging to private individuals in the region of Bauru, in order to identify the presence of total coliform, fecal coliform and *Escherichia coli*. We collected water samples in five private wells, determining its potability by the method of Presence – Absence (PA), according to Standard Methods. The results were analyzed and compared with other results from the Department of Water and Sewer Bauru (DAE), revealing some wells in the absence of microbiological quality of water.

**Keywords:** Groundwater. Water wells. Pollution. Coliforms. Microbiological quality.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Formação das Águas Subterrâneas.....	12
Figura 2: <i>Escherichia coli</i> .....	15
Figura 3: Detecção de Coliformes Totais.....	20
Figura 4: Detecção da <i>Escherichia coli</i> .....	20
Figura 5: Representação esquemática do método Presença Ausência (PA).....	21

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Principais doenças relacionadas com a água.....	16
Tabela 2: Padrão microbiológico de potabilidade da água para consumo humano. .	17
Tabela 3: Padrões estabelecidos para coliformes totais e termotolerantes.....	22
Tabela 4: Resultados para coliformes termotolerantes .....	23
Tabela 5: Resultados para coliformes totais.....	23
Tabela 6: Resultados para <i>Escherichia coli</i> .....	23
Tabela 7: Resultados coliformes totais e termotolerantes, para Poço A .....	24
Tabela 8: Resultados coliformes totais e termotolerantes, para Poço B .....	24
Tabela 9: Resultados coliformes totais e termotolerantes, para Poço C .....	24
Tabela 10: Resultados coliformes totais e termotolerantes, para Poço D .....	24

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	11
1.1 ÁGUAS SUBTERRÂNEAS.....	11
1.2 COLIFORMES.....	13
1.3 PADRÕES DE QUALIDADE DE ÁGUA .....	16
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	18
2.1 OBJETIVOS GERAIS.....	18
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	18
<b>3. MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	19
3.1 COLETA DA AMOSTRA .....	19
3.2 TÉCNICA DE ANÁLISE.....	19
3.2.1 Presença Ausência (PA) .....	19
3.2.2 Materiais e Equipamento .....	20
3.2.3 Procedimento.....	20
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	22
<b>5. CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	26
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	27
<b>ANEXO A: COLILERT TEST KIT</b> .....	29

## 1. INTRODUÇÃO

A água é o mais importante recurso natural do mundo, desvinculado de qualquer uso ou utilização, é fundamental para que haja vida na superfície da Terra. A preservação da qualidade da água é uma necessidade universal, entretanto, a água está se tornando um bem escasso e sua qualidade se deteriora cada vez mais.

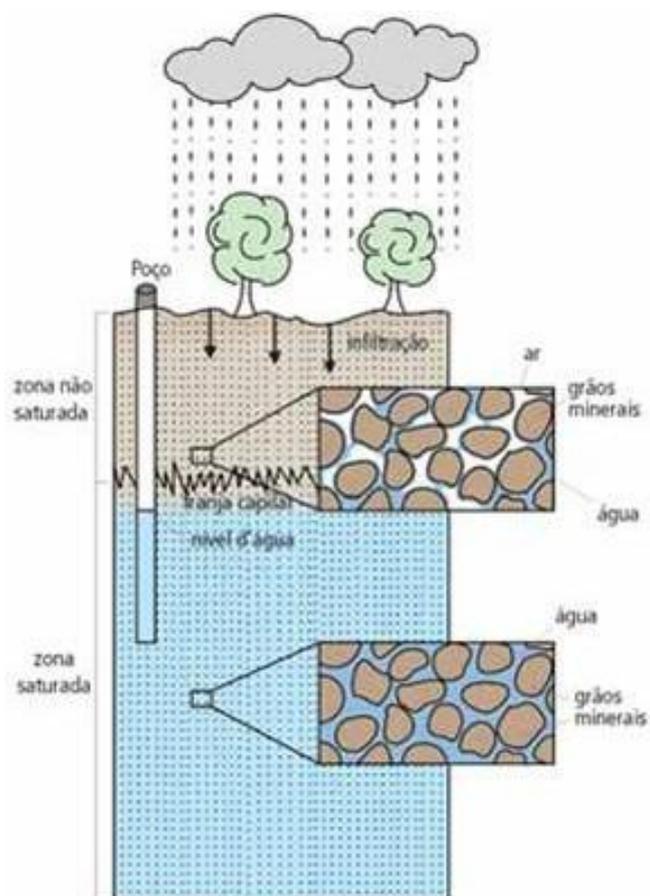
A maior parte da água existente no Planeta Terra corresponde a 97,5% dos mares e oceanos. O restante equivale á 1,9% das geleiras e a água doce representa apenas 0,6% do total. Destes, 98% estão contidas nos aquíferos e apenas 2% nos rios e lagos, conforme a Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental (CETESB, 1996).

Designa-se como água doce aquela que apresenta teor de Sólidos Totais Dissolvidos (STD) inferior a 1.000 mg/L. As águas com STD entre 1.000 e 10.000 mg/L são classificadas como salobras, já aquelas que apresentam STD superior a 10.000 mg/L são consideradas salgadas. Entretanto, a água doce é essencial para o desenvolvimento de atividades industriais e agrícolas, de extrema importância para o ecossistema e principalmente para o abastecimento do consumo humano, captadas nos rios, lagos, represas e aquíferos subterrâneos (REBOUÇAS; BRAGA; TUNDISI, 1999).

No Brasil, segundo o Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) 357/ 2005, a classificação das águas do território brasileiro está de acordo com a sua salinidade, onde as águas doces apresentam salinidade igual ou inferior a 0,5 ‰. Águas salobras, superior a 0,5 ‰ e inferior a 30 ‰ e águas salinas, são águas com salinidade igual ou superior a 30 ‰.

### 1.1 ÁGUAS SUBTERRÂNEAS

Conforme Ezaki e Iritani (2008), a água que existe abaixo da superfície, circula entre os espaços vazios, denominados poros. Ao se infiltrar no solo, a água da chuva passa pela zona não saturada, onde os poros são preenchidos por água e ar. Parte da água é absorvida pelas plantas, seres vivos ou evaporada e o restante devido à gravidade, continua em movimento decrescente, conforme a Figura 1.



**Figura 1: Formação das Águas Subterrâneas.**

Fonte: IRITANI e EZAKI, 2008.

No seu percurso a água acumula-se em zonas mais profundas, preenchendo os poros e formando a zona saturada. A água que se encontra na zona saturada é chamada de água subterrânea. Os poços perfurados com baixa profundidade, em geral, são denominados freáticos, porque se encontram unicamente conectados na zona de aeração, enquanto que os que possuem maiores profundidades são denominados poços artesianos, pois estão captando água diretamente na zona de saturação (IRITANI; EZAKI, 2008).

Poços artesianos, geralmente de grande profundidade, cujo nível de água se eleva acima do nível natural do lençol freático, são utilizados como fontes de água para o abastecimento doméstico, industrial e agrícola (BRANCO, 1986). Somente no estado de São Paulo, 80% dos municípios são abastecidos por esse recurso hídrico, atendendo uma população de mais de 5,5 milhões de habitantes (CETESB, 1997). Segundo o Departamento de Águas e Energia Elétrica (DAEE, 2010), a quantidade estimada de água subterrânea disponível é de cerca de 1.280 m<sup>3</sup>/s.

Na cidade de Bauru o aquífero ocupa uma área de 96.900 km<sup>2</sup>, no qual a água subterrânea situa-se a pouca profundidade, facilitando a extração de água através da perfuração de poços artesianos. Esse aquífero é de produtividade média a alta, apresentando água com boa qualidade para o consumo humano, sendo utilizado para o abastecimento público (IRITANI; EZAKI, 2008).

Cerca de 60% do abastecimento público de água em Bauru é proveniente do Aquífero Guarani. Conforme estudos realizados pelo DAE (2010), o Aquífero Guarani, na região de Bauru encontra-se em área confinada estando na média de 150 a 350 metros de profundidade. Nesta profundidade, dependendo da região onde se efetua a perfuração, a água extraída pode estar acima de 60°C.

A água potável, segundo o Ministério da Saúde, Portaria nº 1.469, Art. 4º de 29 de Dezembro de 2000, refere-se “a água para consumo humano cujos parâmetros microbiológicos, físicos, químicos e radioativos atendam ao padrão de potabilidade e que não ofereça risco à saúde”.

Entretanto, um dos principais aspectos de poluição das águas é aquele relacionado com o fator higiênico. Muitas doenças podem ser transmitidas ao homem por meio da água contaminada por agentes biológicos.

De acordo com Case, Funke e Tortora (2005, p. 778):

“A forma mais perigosa de poluição ocorre quando fezes penetram no abastecimento de água. Muitas doenças são perpetuadas pela rota fecal-oral de transmissão, em que um patógeno é disseminado nas fezes humanas ou de animais, contaminando a água”.

Segundo Scholten (2009), a determinação da potencialidade de uma água transmitir doenças pode ser feita de forma indireta, quando dejetos de pacientes ou portadores de patógenos poluem a água. As bactérias do grupo coliforme são utilizadas como indicadoras de poluição fecal, indicando que aquela água esta poluída por fezes.

## 1.2 COLIFORMES

Os coliformes são divididos em coliformes totais onde as bactérias fermentam a lactose com produção de ácido, gás e aldeído dentro de 24 a 48 horas em temperaturas de 35 a 37°C, e os coliformes termotolerantes ou fecais em que as

bactérias fermentam a lactose com produção de ácido e gás dentro de 24 horas em temperaturas de 44 a 45°C (SCHOLTEN, 2009).

A definição de coliformes totais e termotolerantes são citadas na Portaria do Ministério da Saúde nº 518, Art. 4º de 25 de março de 2004, nos artigos:

VI: coliformes totais (bactérias do grupo coliforme) - 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  $35,0 \pm 0,5^\circ\text{C}$  em 24-48 horas, e que podem apresentar atividade da enzima  $\beta$ -galactosidase. A maioria das bactérias do grupo coliforme pertence aos gêneros *Escherichia*, *Citrobacter*, *Klebsiella* e *Enterobacter*, embora vários outros gêneros e espécies pertençam ao grupo.

VII. coliformes termotolerantes - subgrupo das bactérias do grupo coliforme que fermentam a lactose a  $44,5 \pm 0,2^\circ\text{C}$  em 24 horas; tendo como principal representante a *Escherichia coli*, de origem exclusivamente fecal (BRASIL, 2004, p. 266).

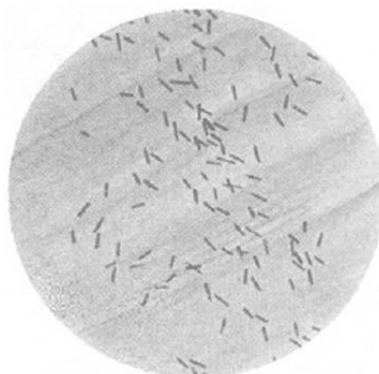
Segundo Branco (1986) os coliformes não são considerados os causadores de doenças, pelo contrário, eles ajudam na digestão. Por existir em grande quantidade dentro do organismo, chegam a formar grande parte do volume fecal. Nas fezes podem ser expelidos de 50 a 400 bilhões de bactérias coliformes. Os coliformes são mais resistentes nas condições de ambiente no meio externo do que aqueles organismos que causam moléstias.

Os microrganismos indicadores encontrados na água indicam evidências de que ela está poluída com material fecal de origem humana ou animal, relatando que microrganismos patogênicos existentes no trato intestinal dos animais também podem estar presentes (PELCZAR; CHAN; KRIEG, 2009).

A presença de organismos patogênicos na água é determinada através do índice de coliformes, especialmente pela espécie *Escherichia coli* (*E. coli*), caracterizando a presença de fezes humanas ou de animais, revelando a provável existência de microrganismos intestinais patogênicos, como vírus, vermes, bactérias e protozoários (BRANCO, 1986), indicando também que existem pessoas doentes ou portadoras em meio à população.

Branco (1993) comenta que os organismos nocivos, como os patogênicos, são aqueles que causam doenças quando ingeridos. Grande parte dos patogênicos não se multiplica na água, porém se reproduzem no interior do parasitado, causando a febre tifóide e vários tipos de diarreias intestinais.

A *Escherichia coli*, por exemplo, constitui grande proporção da população bacteriana intestinal humana e entre outros animais de sangue quente, sendo considerado um tipo de coliforme (TORTORA; FUNKE; CASE, 2005). A bactéria *E. coli*, de acordo com a Figura 2, é o mais específico indicador de contaminação fecal recente e de eventual presença de organismos patogênicos.



**Figura 2: *Escherichia coli*.**  
**Fonte: DEPARTAMENTO DE ÁGUA E ESGOTO, 2011.**

A grande deficiência de saneamento básico no Brasil impõe várias pessoas a riscos de contaminação por organismos patogênicos, devido a exposição direta ou indireta com os esgotos sanitários. Mesmo em locais onde há tratamento de esgoto, é real o número de pessoas contaminadas pelo contato com os efluentes tratados.

Gonçalves (2003), explica que a transmissão dos patogênicos é decorrente da ingestão direta de água não tratada ou até mesmo de água tratada com má qualidade, ingestão de alimentos contaminados, contato da pele com a água ou com o solo contaminado e descreve que:

“A diversidade e a quantidade dos organismos patogênicos no esgoto dependem de vários fatores, dentre os quais a quantidade de indivíduos infectados na população e a densidade de organismos patogênicos nos excrementos desses indivíduos” (GONÇALVES, 2003, p. 438).

As principais doenças causadas pela água contaminada estão relacionadas na tabela 1, a seguir:

Tabela 1: Principais doenças relacionadas com a água.

Doença	Agente Causal	Sintomas
<b>Ingestão de Água Contaminada</b>		
Disenteria bacilar	Bactéria ( <i>Shigella dysenteriae</i> )	Forte diarreia
Cólera	Bactéria ( <i>Vibrio cholerae</i> )	Diarreia extremamente forte, desidratação, alta taxa de mortalidade.
Leptospirose	Bactéria ( <i>Leptospira</i> )	Icterícia, febre
Salmonelose	Bactéria ( <i>Salmonella</i> )	Febre, náusea, diarreia
Febre tifóide	Bactéria ( <i>Salmonella typhi</i> )	Febre elevada, diarreia, ulceração do intestino delgado.
Disenteria amebiana	Protozoário ( <i>Entamoeba histolytica</i> )	Diarreia prolongada, com sangramento, abscessos no fígado e intestino fino
Giardíase	Protozoário ( <i>Giardia lamblia</i> )	Diarreia leve e forte, náusea, indigestão, flatulência
Hepatite Infecciosa	Vírus (vírus da hepatite A)	Icterícia, febre
Gastroenterite	Vírus (enterovírus, parvovírus, rotavírus)	Diarreia leve e forte
Paralisia Infantil	Vírus (Poliomielites vírus)	Paralisia
<b>Contato com Água Contaminada</b>		
Escabiose	Sarna ( <i>Sarcoptes scabiei</i> )	Úlceras na pele
Tracoma	Clamídea ( <i>Chlamydia</i> )	Inflamação dos olhos, cegueira completa ou parcial

Fonte: SPERLING, 1996.

### 1.3 PADRÕES DE QUALIDADE DE ÁGUA

A qualidade da água para consumo humano é uma questão de grande relevância e preocupação para a saúde pública. Não basta somente dispor de água em quantidade, mas é necessário que essa água determine um padrão mínimo de qualidade para ser consumida (SILVA; ARAUJO, 2003).

Águas que contenham uma concentração não muito elevada de coliformes, no caso de municípios com baixa qualidade urbana ou habitacional, podem não ser nocivas quando consumidas (BRANCO, 1986). Mesmo que os dejetos da população sejam lançados ao rio próximo, este apresenta a capacidade de se oxidar e diluir, e como os centros urbanos estão distantes, o rio não chega a oferecer risco sanitário (REBOUÇAS; BRAGA; TUNDISI, 1999).

Entretanto, o problema se agrava em áreas com o adensamento populacional, onde se faz o uso de águas subterrâneas próximas à poluição, como esgotos não tratados e lixões (GIAFFERIS; PAES; SCRIPTORE, 2005).

O Ministério da Saúde, Portaria nº 518, Art.11, define que a água potável deve estar em conformidade com o padrão microbiológico, conforme a Tabela 2, a seguir.

**Tabela 2: Padrão microbiológico de potabilidade da água para consumo humano.**

Parâmetro	VMP <sup>1</sup>
Água para consumo humano <sup>2</sup>	
<i>Escherichia coli</i> ou coliformes termotolerantes <sup>3</sup>	Ausência em 100 mL
Água na saída do tratamento	
Coliformes totais	Ausência em 100 mL
Água tratada no sistema de distribuição (reservatórios e rede)	
<i>Escherichia coli</i> ou coliformes termotolerantes <sup>3</sup>	Ausência em 100 mL
Coliformes totais	
Sistemas que analisam até 40 amostras por mês	Ausência em 100 ml em 95% das amostras examinadas
Sistemas que analisam mais de 40 amostras por mês	Apenas uma amostra poderá mensalmente apresentar resultado positivo em 100 mL

**Fonte: MINISTERIO DA SAÚDE, 2001.**

<sup>1</sup> Valor máximo permitido.

<sup>2</sup> Água para consumo humano em toda e qualquer situação, incluindo fontes individuais como, dentre outras, poços, minas e nascentes.

<sup>3</sup> A detecção de *Escherichia coli* deve ser preferencialmente adotada.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVOS GERAIS

- Analisar microbiologicamente a qualidade da água de poços artesianos particulares localizados na cidade de Bauru/SP, de acordo com os padrões de potabilidade.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Efetuar análises microbiológicas buscando identificar os coliformes totais, coliformes termotolerantes e *Escherichia coli* presentes na água.
- Verificar se os poços artesianos particulares da região Bauru/SP estão de acordo com a legislação vigente.
- Relacionar os resultados obtidos nos anos de 2010 a 2011, com os resultados obtidos pelo Departamento de Água e Esgoto de Bauru (DAE) nos anos de 2005 a 2009, com relação à precisão do método de análise.

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 COLETA DA AMOSTRA

O procedimento de coleta seguiu protocolo conforme o Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (APHA, 1995). Para as amostras microbiológicas, utilizaram-se bolsas tipo Nasco® esterilizadas, contendo 0,1 mL de tiosulfato de sódio ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ) a 10% para cada 100 mL de água coletada. A adição desse composto ao frasco teve por finalidade impedir a ação do cloro residual.

#### 3.2 TÉCNICA DE ANÁLISE

##### 3.2.1 Presença Ausência (PA)

Todas as amostras foram submetidas a um ensaio presuntivo utilizando-se o teste Presença – Ausência (PA). Este teste qualitativo é uma modificação simples da técnica dos tubos múltiplos. A técnica se baseia na adição de um substrato enzimático, utilizado para a detecção simultânea de coliformes totais e termotolerantes (*Escherichia coli*).

O meio de cultura (substrato enzimático) é disponível em frasconetes com quantidade suficiente para a análise em 100 mL de amostra. Comercialmente são conhecidos como Colilert da marca IDEXX Laboratories, Inc., Westbrook, Me e o Colitag da marca CPI International, EUA (ANEXO A).

O teste de substrato de enzima utiliza substratos hidrolisáveis para a detecção simultânea de coliformes totais e *Escherichia coli*. Quando a técnica de enzima é usada, o grupo de coliformes totais é definido como todas as bactérias que possuem a enzima  $\beta$ -D-galactosidase, onde hidrolisa o substrato cromogênico, resultando na liberação do cromogênio. *Escherichia coli* são definidas como bactérias que dão uma resposta positiva para coliformes totais contendo a enzima  $\beta$ -glucoronidase, na qual hidrolisa o substrato cromogênico, resultando na liberação do fluorogênio.

As bactérias do grupo coliforme possuem uma enzima denominada  $\beta$ -Galactosidase, que hidrolisa a porção nutriente (substrato) do composto  $\beta$ -D-Galactopiranoside do ONPG (orto-nitrofenil- $\beta$ -D-galactopiranosídeo), presente

no meio de cultura, liberando a porção indicadora ortonitrofenol que torna o meio amarelo, caracterizando a presença de coliformes totais em 24 horas sem procedimentos adicionais, conforme a Figura 3, a seguir.

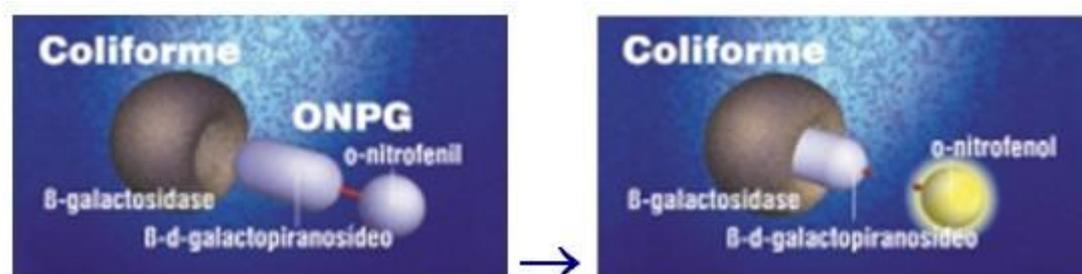


Figura 3: Detecção de Coliformes Totais.  
Fonte: COLILERT, 1998.

Na Figura 4, a bactéria *Escherichia coli* possui uma enzima denominada  $\beta$ -D-Glucuronidase, que hidrolisa a porção nutriente  $\beta$ -D-Glucoronide do MUG (4-metil-umbeliferil- $\beta$ -D-glucoronídeo) presente no meio de cultura, liberando a porção indicadora 4-metil-umbeliferona que torna o meio azul fluorescente quando exposto à luz ultravioleta com comprimento de onda de 365nm e 6 W de potencia.

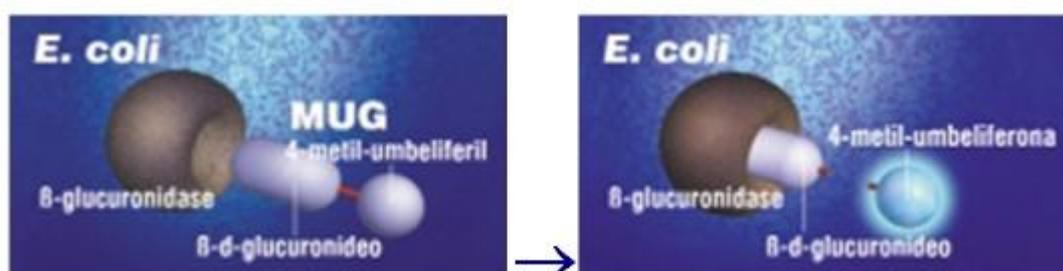


Figura 4: Detecção da *Escherichia coli*.  
Fonte: COLILERT, 1998.

### 3.2.2 Materiais e Equipamento

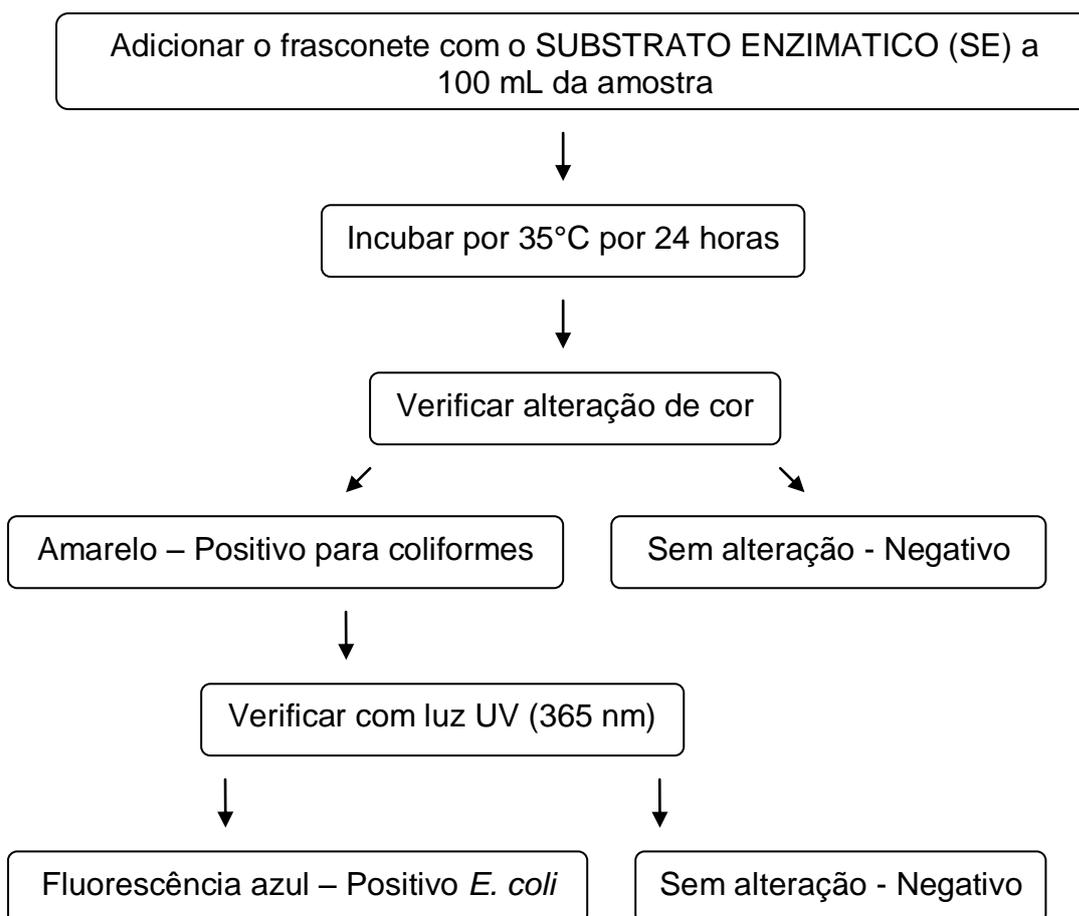
- Frasconete contendo o substrato enzimático;
- Bolsa tipo Nasco® esterilizada, contendo tiosulfato de sódio;
- Estufa regulada a 35 °C;
- Lâmpada UV de 365nm e 6 W de potência.

### 3.2.3 Procedimento

- Foram coletados 100 mL da amostra em bolsa estéril contendo tiosulfato de sódio;

- Adicionou-se todo o conteúdo do frascote de substrato enzimático;
- Fechou-se a bolsa e agitou-se até dissolver completamente o reagente;
- Este foi incubado por 24 horas a 35 °C.

Na figura 5, a seguir, esta representado através de um fluxograma o método Presença – Ausência (PA).



**Figura 5: Representação esquemática do método Presença Ausência (PA).**  
Fonte: SALOMÃO, 2006.

As análises realizadas neste trabalho foram intituladas de poços 1, 2, 3, 4 e 5 e as análises obtidas do DAE, foram intitulados de poços A a D.

#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Esse estudo foi realizado em cinco poços particulares localizados na região de Bauru, nos anos de 2010 e 2011, visando analisar a presença de coliformes totais, coliformes termotolerantes e *Escherichia coli*.

Buscando uma forma de comparação com os resultados obtidos para os poços estudados, foi solicitado ao Departamento de Água e Esgoto de Bauru (DAE), a última análise estatística. Foi-nos fornecido uma planilha com análises realizadas entre os anos de 2005 a 2009 dos poços sobre sua fiscalização.

A Portaria nº 518 do Ministério da Saúde, estabelece como padrão de potabilidade, para a água destinada ao consumo humano, incluindo fontes individuais como poços, a ausência de coliformes termotolerantes e *Escherichia coli*. Os padrões estabelecidos pela legislação brasileira para os parâmetros estudados estão citados na Tabela 3.

**Tabela 3: Padrões estabelecidos para coliformes totais e termotolerantes.**

Parâmetro	Coliformes Totais	Coliformes Termotolerantes
VMP <sup>1</sup>	Ausência em 95% das amostras/mês	Ausência em 100mL/Todas as amostras

**Fonte: CAMPOS, FILHO e FARIA, 2002.**

<sup>1</sup> Valor Máximo permitido.

De acordo com as análises realizadas em poços artesianos de Bauru, intitulados Poços 1 a 5, uma amostra de cada poço foi coletada entre os anos de 2010 e 2011, verificou-se que a maioria das amostras atendiam os limites propostos pela legislação brasileira, com relação as contaminações microbiológicas, coliformes totais e coliformes termotolerantes.

Entretanto, estavam fora do padrão de potabilidade, dois poços dos cinco amostrados, indicando a presença de coliformes totais. Portanto, essas amostras são consideradas impróprias para o consumo humano segundo a citada portaria.

**Tabela 4: Resultados para coliformes termotolerantes.**

Coliformes Termotolerantes			
AMOSTRA	RESULTADOS	VMP	UNIDADES
1	Ausente	Ausência/100 mL	PA/100 mL
2	Ausente	Ausência/100 mL	PA/100 mL
3	Ausente	Ausência/100 mL	-
4	Ausente	Ausência/100 mL	-
5	Ausente	Ausência/100 mL	PA/100 mL

**Tabela 5: Resultados para coliformes totais.**

Coliformes Totais			
AMOSTRA	RESULTADOS	VMP	UNIDADES
1	Ausente	Ausência/100 mL	PA/100 mL
2	Ausente	Ausência/100 mL	PA/100 mL
3	Presente	Ausência/100 mL	-
4	Presente	Ausência/100 mL	-
5	Ausente	Ausência/100 mL	PA/100 mL

**Tabela 6: Resultados para *Escherichia coli*.**

<i>Escherichia coli</i>			
AMOSTRA	RESULTADOS	VMP	UNIDADES
1	Ausente	Ausência/100 mL	PA/100 mL
2	Ausente	Ausência/100 mL	PA/100 mL
3	Ausente	Ausência/100 mL	-
4	Ausente	Ausência/100 mL	-
5	Ausente	Ausência/100 mL	PA/100 mL

A presença de coliformes na água indica contaminação por esgotos domésticos ou de resíduos de animais, com os riscos da presença de organismos patogênicos (SIQUEIRA et al. 2010), a densidade de indicadores indica também o grau de poluição/contaminação (GONÇALVES, 2003). Os indicadores de contaminações patogênicas devem ser extremamente de origem fecal, se apresentar em maior número e mais resistência que os patogênicos, não se produzirem no meio ambiente e serem de fácil identificação.

Ocorrem no mundo, cerca de quatro bilhões de casos de diarreia por ano, com 2,2 milhões de mortes, sendo a maioria crianças de até cinco anos (OTENIO et al, 2007). Segundo o mesmo autor, se as águas destinadas ao consumo humano apresentassem ausência para qualquer risco significativo à saúde, pode ser reduzida de um quarto a um terço os casos de doenças diarreicas.

De acordo com as análises realizadas pelo Departamento de Água e Esgoto de Bauru, intituladas Poços A a D, entre os anos de 2005 a 2009, as Tabelas 7 a 10, a seguir indicam que vários poços urbanos apresentam contaminações por coliformes.

**Tabela 7: Resultados coliformes totais e termotolerantes, para Poço A.**

Poço Artesiano A		
Ano de análise	Coliformes Totais	Coliformes Termotolerantes
2006	Ausência	Ausência
2007	Ausência	Ausência
2008	Não consta	Não consta
2009	Presença	Ausente

Fonte: DEPARTAMENTO DE ÁGUA E ESGOTO (DAE), 2011.

**Tabela 8: Resultados coliformes totais e termotolerantes, para Poço B.**

Poço Artesiano B		
Ano de análise	Coliformes Totais	Coliformes Termotolerantes
2006	Presença	Ausência
2007	Não consta	Não consta
2008	Ausência	Ausência
2009	Ausência	Ausência

Fonte: DEPARTAMENTO DE ÁGUA E ESGOTO (DAE), 2011.

**Tabela 9: Resultados coliformes totais e termotolerantes, para Poço C.**

Poço Artesiano C		
Ano de análise	Coliformes Totais	Coliformes Termotolerantes
2005	Ausência	Ausência
2006	Presença	Presença
2007	Não consta	Não consta

Fonte: DEPARTAMENTO DE ÁGUA E ESGOTO (DAE), 2011.

**Tabela 10: Resultados coliformes totais e termotolerantes, para Poço D.**

Poço Artesiano D		
Ano de análise	Coliformes Totais	Coliformes Termotolerantes
2005	Ausência	Ausência
2006	Não consta	Não consta
2007	Presença	Presença
2008	Ausência	Ausência
2009	Ausência	Ausência

Fonte: DEPARTAMENTO DE ÁGUA E ESGOTO (DAE), 2011.

As Tabelas 8 e 7 apresentam positividade para coliformes totais nos anos 2006 e 2009, respectivamente. Já as Tabelas 9 e 10 apresentam coliformes totais e termotolerantes nos anos de 2006 e 2007, respectivamente. Entende-se que nos anos anteriores, as contaminações por coliformes eram maiores, com relação aos anos de 2010 e 2011, indicando a falta de qualidade microbiológica das águas.

Atualmente, a Inspeção Sanitária em Abastecimento de Água, determinada pelo Ministério da Saúde, estabelece que a água destinada ao consumo humano deva obedecer ao padrão de potabilidade e está sujeita à vigilância de sua qualidade, exercida pelas autoridades de saúde pública, as inspeções sanitárias devem ser realizadas em qualquer sistema e solução alternativa (coletivos) ou individual de abastecimento de água.

As águas insuficientemente tratadas, por exemplo, sem a garantia de residual de cloro, ou infiltrações podem permitir o acúmulo de sedimentos ou matéria orgânica e promover o desenvolvimento de bactérias, incluindo as do grupo coliforme (BRASIL, 2006).

Segundo o Jornal da Cidade de Bauru (2011), ocorreu um surto infeccioso da bactéria *Escherichia coli*, na Europa e nos Estados Unidos, que deixou ao menos 22 mortos e contaminou mais de 2200 pessoas, tendo como principal fonte de contaminação, brotos de feijão cultivos no norte da Alemanha, que podem estar contaminados com a bactéria *Escherichia coli*.

A deposição de resíduos orgânicos no solo diariamente aumenta os riscos de contaminações das águas subterrâneas. O período de chuva é o que mais contribui para ocorrerem mudanças na qualidade microbiológica, pelo fato de as chuvas arrastarem excretas humanas e de animais (AMARAL et al, 2003).

De acordo com uma avaliação realizada pelo DAE no ano de 2007, os pontos mais críticos analisados na cidade de Bauru, estavam localizados na região central da cidade, em locais mais antigos, constatando uma maior fonte de poluição urbana (GIAFFERIS; OLIVEIRA, 2007). Isto se deve ao destino final de esgotos domésticos ou industriais em fossas sépticas, disposição inadequada de resíduos sólidos urbanos e industriais e até mesmo postos de combustíveis, que representam fontes de contaminações das águas subterrâneas, por bactérias patogênicas, coliformes totais e termotolerantes (SILVA; ARAUJO, 2003).

## 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Atualmente, na cidade de Bauru/SP, os poços particulares localizados no aquífero Bauru, devido ao aumento da fiscalização e a conscientização dos proprietários de poços apresentam melhorias na qualidade da água consumida no que diz respeito à presença de coliformes, sendo assim adequadas a diversos usos, incluindo o consumo humano, já que atendiam aos padrões de potabilidade, estabelecidos na Portaria do Ministério da Saúde nº 1.469/00.

Devido ao crescimento populacional, as águas contaminadas por esgotos descartados incorretamente e pela falta de tratamentos, indicam que há a presença de bactérias na água que podem gerar problemas gravíssimos, como o ocorrido recentemente na Europa, onde 22 pessoas morreram além de muitas outras que foram infectadas pela bactéria *Escherichia coli*.

No entanto, ainda há alguns poços que mostram a presença de coliformes, sendo então necessário que a vigilância continue em conjunto com a conscientização da população que utiliza tais poços, garantindo assim que as águas sejam suficientemente tratadas, não permitindo o desenvolvimento de bactérias, incluindo a do grupo de coliformes.

## REFERÊNCIAS

- AMARAL, L. A.; BARROS, L. S. S.; FILHO A. N. et al. Água de consumo humano como fator de risco à saúde em propriedades rurais. **Rev. Saúde Pública**. Jaboticabal, SP, v.37, n.4, p.510-514, 2003.
- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 19<sup>th</sup> ed. Washington, APHA/WEF/AWWA, 1995. 1400p.
- BRANCO, S. M. **Água origem, uso e preservação**. 1.ed. São Paulo: Moderna, 1993. 69p.
- BRANCO S. M. **Hidrobiologia aplicada à engenharia sanitária**. 3.ed. São Paulo: CETESB,1986.
- BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução nº 357 de 17 de março de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes e dá outras providências. **Diário Oficial [da] União**, Brasília, v. 1, n. 53, p. 58-63, Seção 1, 18 mar. 2005.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 1469, de 29 de Dezembro de 2000. Estabelece os procedimentos e responsabilidades relativos ao controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade, e dá outras providências. **Fundação Nacional da Saúde**, Brasília, p.9, outubro.2001
- BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 518, de 25 de março de 2004. Estabelece os procedimentos e responsabilidades relativas ao controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade, e dá outras providências. **Diário Oficial [da] União**, Brasília, v. 141, n. 59, p. 266, Seção 1, 25 mar. 2004.
- Broto de feijão pode ser origem de bactéria. **Jornal da Cidade**, Bauru, 6 jun. 2011. Internacional. p. 16.
- CETESB. **Uso das águas subterrâneas para abastecimento público no Estado de São Paulo**. São Paulo, 1997. 48 p.
- EUA registram casos de surtos infecciosos. **Jornal da Cidade**, Bauru, 2 jun. 2011. Internacional. p. 27.
- GIAFFERIS, G. P.; OLIVEIRA, E. L. Gestão da Qualidade das águas subterrâneas pela autarquia municipal de água no Município de Bauru – SP. In: XVII SIMPÓSIO BRASILEIRO DE RECURSOS HÍDRICOS, 2007; São Paulo. **Resumos...** XVII Simpósio Brasileiro de Recursos Hídricos, 2007. p. 1-9.

GIAFFERIS, G. P.; SCRIPTORE, M. L. A.; PAES, N. D. B. **Levantamento do potencial de possíveis focos de risco de contaminação de águas subterrâneas no município de Bauru**. 2000. 86 f. Monografia (Gestão Ambiental). Faculdade de Saúde Pública, USP, São Paulo, 2000.

GONÇALVES, R. F (Coord.). **Desinfecção de efluentes sanitários**. Rio de Janeiro: ABES, 2003. 438p.

IDEXX Laboratories. **Colilert**. Washington, DC, 1998.

IRITANI, M. A.; EZAKI, S. **As águas subterrâneas do Estado de São Paulo, Governo do Estado de São Paulo Secretaria do Meio Ambiente Instituto Geológico**. São Paulo, 2008. 104p.

OTENIO, M. H.; RAVANHANI, C.; CLARO, E, M, T. Qualidade da água utilizada para consumo humano de comunidades rurais do município de Bandeirantes-PR. **Salusvita**, Bauru, v. 26, n. 2, p.85-91, 2007.

PELCZAR, M. J. Jr.; CHAN, E. C. S.; KRIEG, N. R. **Microbiologia conceitos e aplicações**. 2. ed. São Paulo: Pearson, 2009. 517p.

REBOUÇAS, A. C.; BRAGA, B.; TUNDISI, J. G. **Águas doces no Brasil**. São Paulo: Escrituras, 1999. 717p.

SALOMÃO, L. A. **Ensaio bacteriológicos em águas de abastecimento público**. Bauru: DAE, 2006.

SCHOLTEN C. **Dinâmica temporal da poluição fecal nas águas do córrego rico, manancial de abastecimento da cidade de Jaboticabal-SP**. 2009. 41 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Faculdades de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2009.

SILVA, R. C. A.; ARAÚJO, T. M. Qualidade da água do manancial subterrâneo em áreas urbanas de Feira de Santana (BA). **Ciência & saúde coletiva**. São Paulo, v.8, n.4, p.1019-1028, 2003.

SIQUEIRA, L. P.; SHINOHARA, N. K. S.; LIMA, R. M. T. Avaliação microbiológica da água de consumo empregada em unidades de Alimentação. **Ciência e Saúde Coletiva**, v. 15, n. 1, p.63-66, 2010.

SPERLING, M. V. **Introdução a qualidade das águas e ao tratamento de esgotos**. 2. ed. Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais, 1996. 243p.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 8. ed. São Paulo: Artmed, 2005. 893p.

## **ANEXO A: COLILERT TEST KIT**

### **Introduction**

Colilert simultaneously detects total coliforms and E. coli in water. It is based IDEXX's patented Defined Substrate Technology (DST). When total coliforms metabolize Colilert's nutrient-indicator, ONPG, the sample turns yellow. When E. coli metabolize Colilert's nutrient-indicator, MUG, the sample fluoresces. Colilert can simultaneously detect these bacteria at 1cfu/100ml within 24hours even with as many as 2 million heterotrophic bacteria per 100ml present.

### **Contents**

WP020I contains 20 snap Packs for 100ml samples.

WP200I contains 200 Snap Packs for 100 ml samples.

W050I contains 20 Snap Packs for 50 ml samples.

W050BI contains 200 Snap Packs for 50 ml samples.

### **Storage**

Store at 2°- 30°C away from light.

### **Presence/Absence (P/A) Procedure**

1. Add contents of one pack to a 100 ml sample (50ml for W050I and W050BI) in a sterile, transparent, non fluorescing vessel.
2. Cap vessel and shake.
3. Incubate at 35°C +- 0.5°C for 24 hours.
4. Read results according to Result interpretation table below.

### **Quanti-Tray Enumeration Procedure (WP020I and WP200I only)**

1. Add contents of one pack to a 100 ml water sample in a sterile vessel.
2. Cap vessel and shake until dissolved.
3. Pour sample/reagent mixture into a Quanti-Tray or Quanti-Tray/2000 and seal in an IDEXX Quanti-Tray Sealer.
4. Place the sealed tray in a 35°C +- 0.5°C incubator for 24hours.

5. Read results according to the Result Interpretation table below. Count the number of positive wells and refer to the MPN table provided with the trays to obtain a Most Probable Number.

### Result Interpretation

Appearance	Result
Less yellow than the comparator	Negative for total coliforms and <i>E. coli</i>
Yellow equal to or greater than the comparator	Positive for total coliforms
Yellow and fluorescence equal to or greater than the comparator.	Positive for <i>Escherichia coli</i>

- Look for fluorescence with a 6-watt, 365-nm UV light within 5 inches of the sample in a dark environment. Face light away from your eyes and towards the sample.
- Colilert results are definitive at 24-28 hours. In addition, positives for both total coliforms and *E. coli* observed before 24 hours and negatives observed after 28 hours are also valid.

### Procedural Notes

- This insert may not reflect your local regulations. For compliance testing, be sure to follow appropriate regulatory procedures.
- Colilert can be run in any multiple tube formats. Standard Methods for the examination of Water and Wastewater MPN tables should be used to find Most Probable Numbers (MPNs).
- If a water sample has some background color, compare inoculated Colilert sample to a control blank of the same water sample.
- If sample dilutions are made, multiply the MPN value by the dilution factor to obtain the proper quantitative result.
- Use only sterile, non buffered, oxidant-free water for dilutions.
- Colilert is a primary water test. Colilert performance characteristics do not apply to samples altered by any pre-enrichment or concentration.

- In samples with excessive chlorine, a blue flash may be seen when adding Colilert.
  - If this is seen, consider sample invalid and discontinue testing.
  - Aseptic technique should always be followed when using Colilert. Dispose of in accordance with Good Laboratory Practices.

### **Quality Control Procedures**

The following quality control procedure is recommended for each lot of Colilert:

1. Inoculate 3 sterile vessels filled with 100 ml sterile water with the following:
  - A. *One with Quanti-Cult E. coli or a sterile loop of ATCC 25922 or 11775 (E. coli).*
  - B. *One with Quanti-Cult Klebsiella pneumoniae or a sterile loop of ATCC 31488 (total coliform)*
  - C. *One with Quanti-Cult Pseudomonas aeruginosa or a sterile loop of ATCC 10145 or 27853 (noncoliform).*
2. Follow the P/A Procedure or Quanti-Tray Enumeration Procedure above.
3. Results should match the Result Interpretation table above.