

**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

Comparação de metodologias para a estimativa do número mais provável (NMP) de coliformes em amostras de água

Marina Chiarelli Marquezi

Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestre em Ciências. Área de concentração: Ciência e
Tecnologia de Alimentos

**Piracicaba
2010**

Marina Chiarelli Marquezi
Bacharel em Ciências dos Alimentos

**Comparação de metodologias para a estimativa do número mais provável (NMP)
de coliformes em amostras de água**

Orientador:
Prof. Dr. **CLÁUDIO ROSA GALLO**

Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestre em Ciências. Área de concentração: Ciência e
Tecnologia de Alimentos

**Piracicaba
2010**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - ESALQ/USP**

Marquezi, Marina Chiarelli

Comparação de metodologias para a estimativa do número mais provável (NMP) de coliformes em amostras de água / Marina Chiarelli Marquezi. - - Piracicaba, 2010.
113 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2010.
Bibliografia.

1. Água 2. Bactérias 3. Coliformes 4. Escherichia coli 5. Qualidade da água - Metodologia
Título

CDD 628.16
M357c

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte - O autor"

À Deus,
que me deu a vida e a sabedoria para chegar até aqui.

Aos meus pais,
pelo carinho, compreensão e apoio.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Prof. Dr. Cláudio Rosa Gallo pela amizade, dedicação, orientação e apoio.

À CAPES, pela concessão da bolsa de mestrado.

À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” e ao Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição pela oportunidade e colaboração para o desenvolvimento deste trabalho.

Aos meus pais, *Carlinhos* e *Cristina* por terem me dado a vida, e pelo amor, carinho, dedicação e compreensão. Por dividirem sempre comigo as alegrias de minhas conquistas e me apoiarem nos momentos difíceis de minha vida. Pelo exemplo de dignidade e honestidade. Por sempre acreditarem em mim.

Ao meu irmão *Fábio* e minha cunhada *Fabiana*, pela força, união, amizade e apoio.

Aos meus amigos *Amanda*, *Filipe*, *Jean*, *Lívia*, *Luciana* e *Maíra* que sempre me deram força para conseguir chegar aonde cheguei e por estarem sempre ao meu lado. E a todos os outros amigos não citados pela amizade, companheirismo e apoio.

Às colegas de mestrado *Bruna Mengai*, *Bruna Travagin*, *Tarsila*, *Milla*, *Ana Paula*, pela ajuda e amizade. À *Danielle*, pela convivência quase diária no laboratório, pela ajuda constante e amizade.

Às técnicas do laboratório *Cléo*, *Cecília* e *Rose*, pelas ajudas indispensáveis no laboratório, pela amizade e convivência, pela força e dedicação. Sem vocês seria impossível chegar até aqui.

Ao Prof. Dr. *Carlos Tadeu dos Santos Dias*, pela valiosa ajuda nas análises estatísticas.

SUMÁRIO

RESUMO.....	9
ABSTRACT.....	11
LISTA DE FIGURAS.....	13
LISTA DE TABELAS.....	15
1 INTRODUÇÃO	17
2 DESENVOLVIMENTO.....	19
2.1 Objetivos.....	19
2.2 Revisão de Literatura.....	19
2.2.1 Recursos hídricos.....	19
2.2.2 Água e saúde pública.....	25
2.2.3 Contaminação da água.....	29
2.2.4 Águas de superfície.....	32
2.2.5 Água tratada.....	34
2.2.6 Nascentes (bicas)	38
2.2.7 Microrganismos indicadores.....	40
2.2.7.1 Grupo coliforme.....	42
2.2.7.2 <i>Escherichia coli</i>	43
2.2.8 Métodos para a avaliação da água.....	45
2.2.8.1 Métodos convencionais para a avaliação da água.....	46
2.2.8.1.1 Técnica da fermentação em tubos múltiplos.....	46
2.2.8.2 Métodos rápidos – substratos cromogênicos e fluorogênicos.....	48
2.2.8.2.1 Colilert (IDEXX).....	50
2.2.8.2.2. Colitag (HEXIS).....	53
2.3 Material e métodos.....	54
2.3.1 Amostragem.....	54
2.3.2 Coleta das amostras.....	54
2.3.3 Preparação das amostras para análise.....	55
2.3.4 Análise de coliformes.....	56

2.3.4.1 Técnica da fermentação em tubos múltiplos (FTM).....	56
2.3.4.2 Colilert.....	59
2.3.4.3 Colitag.....	62
2.3.5 Análise estatística.....	62
2.4 Resultados e discussão.....	62
2.4.1 Comparação das metodologias para análise de coliformes totais e <i>E. coli</i>	62
2.4.1.1 Comparação de metodologia em cada ponto analisado.....	75
2.4.1.2 Análise estatística dos métodos.....	79
2.4.1.3 Discussão dos resultados da comparação das metodologias.....	85
2.4.2 Comparação entre coliformes termotolerantes e <i>E. coli</i> pelo método fermentação em tubos múltiplos (FTM).....	90
3 CONCLUSÃO.....	101
REFERÊNCIAS.....	103

RESUMO

Comparação de metodologias para a estimativa do número mais provável (NMP) de coliformes em amostras de água

Em quase todos os ambientes aquáticos são encontrados diversos microrganismos, entre eles alguns patogênicos ao homem, que tem como rota de transmissão o ciclo fecal-oral. Pelo fato de a água ser o alimento mais consumido pela população, ela está associada a diversos casos de doenças e de riscos à saúde pública. Assim, o controle da qualidade da água antes do seu consumo é essencial, e para a garantia de sua qualidade devem ser feitas análises que buscam indicar a contaminação por material de origem fecal. O grupo de bactérias mais usado para a determinação de contaminação fecal é o grupo coliformes totais, que tem como subgrupo os coliformes termotolerantes. A bactéria *Escherichia coli* é integrante do grupo coliforme termotolerante, e é a mais indicada para determinação de contaminação fecal pelo fato de estar presente em grande quantidade em fezes de humanos e animais de sangue quente. Para a análise de bactérias do grupo coliformes totais e *E. coli* há diversos métodos, entre eles o método convencional de fermentação em tubos múltiplos (FTM) e os métodos rápidos Colilert e Colitag. Este trabalho teve como objetivo comparar estes três métodos para tais análises em amostras de água provenientes de pontos com contaminações distintas (abastecimento, bica e rio), assim como comparar as contagens encontradas de coliformes termotolerantes e *E. coli* pelo método FTM. Os métodos rápidos Colilert e Colitag se mostraram equivalentes ao FTM nas análises de coliformes totais em amostras de água provenientes de bica e de abastecimento, e nas análises de *E. coli* em amostras de água de abastecimento, da bica e do rio. Para as análises de coliformes totais em amostras de água do rio o método FTM apresentou uma diferença significativa em relação ao método Colilert e Colitag. Ambos os métodos rápidos não diferiram entre si. A diferença encontrada entre estes métodos nestas análises pode ter ocorrido devido à presença de *Aeromonas* nas amostras, que podem ter gerado resultados falso-positivos nos métodos rápidos, superestimando a contagem de coliformes totais; ou pela maior capacidade dos métodos rápidos em recuperar células injuriadas de coliformes totais, detectando uma quantidade maior destas bactérias. Na comparação das contagens encontradas para coliformes termotolerantes e *E. coli* nas mesmas amostras foi encontrada uma diferença significativa. Este resultado é explicado pelo fato de o grupo coliforme termotolerante incluir bactérias de origem não exclusivamente fecal, tais como *Enterobacter* e *Klebsiella*, o que pode superestimar a contaminação fecal da amostra. Já a *E. coli* tem origem exclusivamente fecal, sendo mais indicada para tal análise. Assim, como os métodos rápidos se mostraram equivalentes ao método convencional estudado, deve-se preferir o uso dos métodos rápidos, que dão o resultado em 24 horas, indicando a qualidade da água a tempo de evitar o uso desta pela população. Na escolha entre as bactérias do grupo coliformes termotolerantes e a *E. coli* para a indicação da contaminação fecal, deve-se preferir o uso da *E. coli*.

Palavras-chave: Água; Coliformes; Metodologia

ABSTRACT

Comparison of methodologies for estimating the most probable number (MPN) of coliform in water samples

In almost all aquatic environments are found in various microorganisms, including some pathogenic to man, which route of transmission is the fecal-oral cycle. Because the water is the food most consumed by people, it is associated with several cases of diseases and risks to public health. Thus, control of water quality prior to consumption is essential, and to guarantee its quality must be made analysis seeking to indicate contamination by fecal material of origin. The group of bacteria most commonly used for the determination of fecal contamination is the total coliform group, which has as subgroup thermotolerant coliforms. The bacterium *Escherichia coli* is a member of the group thermotolerant coliform, and is most suitable for determination of fecal contamination by being present in large quantities in feces of humans and warm-blooded animals. For the analysis of bacteria of the group coliform and *E. coli* there are several methods, including the conventional method Multiple Tube Fermentation (MTF), and the rapid methods Colilert and Colitag. This study aimed to compare these three methods for analysis in water samples from different points with different contamination (supply, fountain and river) and compare the count found for thermotolerant coliform and *E. coli* by the method FTM. The methods Colilert, Colitag and FTM were equivalent in the analysis of total coliform in water samples from the fountain and supply, and the analysis of *E. coli* in samples of supply, fountain and river. For analysis of total coliform in water samples from the river, FTM method shows a significant difference compared to the methods Colilert and Colitag. Both rapid methods did not differ. The difference between these methods in these tests may be due to the presence of *Aeromonas* in the samples, which may have generated false-positive results in rapid methods, overestimating the total coliform count; or the largest capacity of rapid methods in recovering injured cells of coliforms, detecting a larger amount of these bacteria. Comparing the scores found for thermotolerant coliform and *E. coli* in the same samples was found a significant difference. This result is explained by a thermotolerant coliform group include bacteria not exclusively fecal origin, such as *Klebsiella* and *Enterobacter*, which may overestimate the faecal contamination of the sample. Since *E. coli* is exclusively fecal origin, being more suitable for such analysis. So, as rapid methods showed to be equivalent to the conventional method studied, one should prefer the use of rapid methods that give results in 24 hours, indicating the water quality in time to prevent its use in the population. In choosing between coliform thermotolerant bacteria and *E. coli* for the indication of fecal contamination, it is preferable to use *E. coli*.

Keywords: Water; Coliforms; Methodology

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Total de água na Terra.....	20
Figura 2 - Distribuição de água doce na Terra.....	20
Figura 3 - Distribuição de recursos hídricos no mundo.....	21
Figura 4 - Distribuição de recursos hídricos no Brasil.....	22
Figura 5 - Mecanismo de detecção de coliformes totais.....	51
Figura 6 - Mecanismo de detecção de <i>E. coli</i>	52
Figura 7 - Resultados da análise pelo Colilert.....	53
Figura 8 - Esquema da determinação do NMP de coliformes totais, coliformes termotolerantes e <i>E. coli</i> pela fermentação em tubos múltiplos.....	56
Figura 9 - Tubo contendo caldo LST e o tubo de Durhan.....	57
Figura 10 - Tubo com o Caldo CVBLB positivo.....	58
Figura 11 - Tubos com o Caldo EC em banho-maria.....	58
Figura 12 - Tubos com o Caldo EC positivo e negativo respectivamente.....	58
Figura 13 - Tubos com o Caldo EC sob luz UV.....	59
Figura 14 - Esquema da determinação da presença/ausência de coliformes totais e <i>E. coli</i> pelo Colilert.....	59
Figura 15 - Determinação do NMP de coliformes totais e <i>E. coli</i> pelo Colilert.....	60
Figura 16 - Tubos positivos e negativos para coliformes totais pelo método Colilert.....	62
Figura 17 - Tubo negativo e positivo respectivamente para <i>E. coli</i> pelo método Colilert.....	62
Figura 18 - Médias das contagens de coliformes totais nos diferentes pontos analisados, incluindo os diferentes métodos utilizados.....	72
Figura 19 - Médias das contagens de <i>E. coli</i> nos diferentes pontos analisados, incluindo os diferentes métodos utilizados.....	73
Figura 20 - Médias das contagens de coliformes totais pelos métodos utilizados na escala transformada (incluindo todos os pontos).....	74
Figura 21 - Médias das contagens de <i>E. coli</i> pelos métodos utilizados na escala transformada (incluindo todos os pontos).....	75

Figura 22 - Médias das contagens para coliformes totais e <i>E. coli</i> em amostras de água provenientes da bica na escala transformada.....	76
Figura 23 - Médias das contagens para coliformes totais e <i>E. coli</i> em amostras de água provenientes do rio na escala transformada.....	78
Figura 24 - Contagens de coliformes totais em cada método dentro de cada ponto.....	81
Figura 25 - Médias das contagens para <i>E. coli</i> em amostras de água de abastecimento.....	82
Figura 26 - Médias das contagens para <i>E. coli</i> em amostras de água da bica.....	83
Figura 27 - Médias das contagens de <i>E. coli</i> em amostras de água do rio.....	84
Figura 28 - Médias encontradas para as análises de coliformes termotolerantes e <i>E. coli</i>	96
Figura 29 - Médias encontradas nas análises de água da bica.....	97
Figura 30 - Médias encontradas nas análises de água do rio.....	99

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Distribuição de recursos hídricos e da população no Brasil.....	21
Tabela 2 - Principais microrganismos patogênicos na água de consumo.....	28
Tabela 3 - Padrão microbiológico de potabilidade da água para consumo humano.....	36
Tabela 4 - Resultados das análises de coliformes totais pelos métodos Colilert, Colitag e FTM em amostras de água da bica e as médias das contagens encontradas em cada dia de coleta (NMP/100mL).....	64
Tabela 5 - Resultados das análises de <i>E. coli</i> pelos métodos Colilert, Colitag e FTM em amostras de água da bica e as médias das contagens encontradas em cada dia de coleta (NMP/100mL).....	66
Tabela 6 - Resultados das análises de coliformes totais e <i>E. coli</i> pelos métodos Colilert, Colitag e FTM em amostras de água de abastecimento (NMP/100mL).....	68
Tabela 7 - Resultados das análises de coliformes totais pelos métodos Colilert, Colitag e FTM em amostras de água do rio (NMP/100mL).....	69
Tabela 8 - Resultados das análises de <i>E. coli</i> pelos métodos Colilert, Colitag e FTM em amostras de água do rio (NMP/100mL).....	71
Tabela 9 - Contagens de coliformes totais em cada método dentro de cada ponto.....	80
Tabela 10 - Médias das contagens para <i>E. coli</i> em amostras de água da bica.....	83
Tabela 11 - Médias das contagens para <i>E. coli</i> em amostras de água do rio.....	84
Tabela 12 - Resultados das análises de coliformes termotolerantes e <i>E. coli</i> pelo método FTM em amostras de água de abastecimento (NMP/100mL).....	91
Tabela 13 - Resultados das análises de coliformes termotolerantes e <i>E. coli</i> pelo método FTM em amostras de água da bica (NMP/100mL).....	92
Tabela 14 - Resultados das análises de coliformes termotolerantes e <i>E. coli</i> pelo método FTM em amostras de água do rio (NMP/100mL).....	94
Tabela 15 - Médias encontradas para as análises de coliformes termotolerantes e <i>E. coli</i>	95
Tabela 16 – Médias encontradas nas análises de água da bica.....	97
Tabela 17 – Médias encontradas nas análises de água do rio.....	98

1 INTRODUÇÃO

A água é considerada um bem essencial para as atividades humanas e indispensável para a sobrevivência do homem (SILVA; SALGUEIRO, 2001). Porém, por ser o alimento mais consumido pela população, a água está associada a grandes riscos à saúde pública. Uma vez contaminada com microrganismos patogênicos pode causar diversos tipos de doenças, podendo até mesmo levar à morte. Assim, a água também pode ser considerada um importante veículo de transmissão de doenças (MACEDO, 2007).

Os microrganismos são encontrados em quase todos os ambientes aquáticos, desde pequenos riachos aos grandes oceanos, uma vez que estes ambientes oferecem uma grande variedade de habitação e nichos ecológicos (MENDONÇA-HAGLER; HAGLER, 1991).

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), cerca de 80% das doenças relatadas em países em desenvolvimento tem como veículo de transmissão a água de má qualidade, sendo o seu tratamento uma importante ferramenta contra essas enfermidades (MACEDO, 2007). Por isso, no final do século XIX e início do século XX, a qualidade da água destinada ao consumo humano se tornou uma questão de saúde pública (D'ÁGUILA et al., 2000; SANTOS, 2007).

Muitos microrganismos veiculados pela água têm como meio de transmissão a rota fecal-oral, onde os mesmos são eliminados nas fezes de humanos e animais contaminados. Assim, a disseminação de patógenos pela água ocorre através da contaminação desta com esgoto não tratado ou tratado inadequadamente. Uma vez contaminada com fezes de humanos ou animais, a água se torna um reservatório para diversos patógenos, especialmente aqueles que causam doenças gastrointestinais, tais como cólera, shigelose e leptospirose (TORTORA; FUNKE; CASE, 2005).

A importância da água para o homem não se restringe apenas no consumo direto, mas também em atividades como a produção de alimentos, energia, bens de consumo, transporte e lazer, além de seu papel na manutenção e no equilíbrio ambiental dos ecossistemas terrestres (LIMA, 2001).

Diversos métodos microbiológicos são empregados no controle da qualidade da água, e os níveis de contaminantes toleráveis e padrões de qualidade são pré-

estabelecidos de acordo com seu destino (MACEDO, 2007). Assim, é necessário o controle da qualidade da água usada pelo homem, seja ela usada para o consumo, recreação, irrigação, aquicultura ou outros (RIBEIRO, 2006).

Devido ao fato de ser mais difícil identificar os patógenos presentes na água, dá-se preferência para análise dos microrganismos indicadores de contaminação, tais como as bactérias do grupo coliforme (FRANCO; LANDGRAF, 2008). A análise deste grupo de microrganismos é a mais importante na classificação de uma amostra em potável ou não (RIEDEL, 1992)

Dentre as vantagens de usar como indicador de contaminação fecal as bactérias do grupo coliforme estão os fatos de estas estarem presentes normalmente no intestino humano e de animais, e serem eliminadas em grandes quantidades nas fezes destes ($3,0 \times 10^8$ UFC/g). Essas bactérias também prevalecem nos esgotos, podendo ser quantificadas em água contaminada recentemente e por métodos simples. Dentre as limitações pode-se citar o fato deste grupo incluir espécies de origem não fecal que também são capazes de se multiplicar em águas poluídas (SILVA et al., 2005).

As densidades de bactérias do grupo coliforme e *E. coli* são usadas para avaliar o grau de poluição e a qualidade sanitária da água. Esses resultados têm sido utilizados como padrões para a qualidade bacteriológica de água (HUNT; RICE, 2005).

Desta forma, a metodologia utilizada para a análise de bactérias do grupo coliforme em água é extremamente importante e deve ser precisa.

Dentre os métodos usados para a análise de coliformes estão a técnica de fermentação em tubos múltiplos (FTM) e os métodos rápidos Colilert (IDEXX) e Colitag (HEXIS). Segundo Greggi (2005), a primeira técnica é muito trabalhosa, e envolve grandes quantidades de meios de cultura, vidrarias, repiques e necessita de um longo tempo de incubação (até 96 horas para a enumeração de coliformes totais e fecais). Os demais métodos são mais rápidos e práticos, conseguindo-se os resultados em 24 horas.

2 DESENVOLVIMENTO

2.1 Objetivos

O objetivo principal deste trabalho foi comparar três diferentes métodos para determinação do número mais provável (NMP) de coliformes (técnica da fermentação em tubos múltiplos, Colilert e Colitag) em amostras de água oriundas de três diferentes pontos (abastecimento, bica e rio) quanto à equivalência de seus resultados.

O objetivo secundário foi comparar as contagens de coliformes termotolerantes e de *E. coli* encontradas em amostras de água de diferentes pontos (abastecimento, bica e rio) pelo método de fermentação em tubos múltiplos.

2.2 Revisão de literatura

2.2.1 Recursos hídricos

A água é considerada um bem renovável devido ao ciclo hidrológico que envolve esta substância em seu estado líquido, sólido e gasoso. As águas dos rios, oceanos, mares, lagos e transpiração vegetal são evaporadas, formando as nuvens que precipitam em forma de chuva. Parte da água da chuva atinge o solo, infiltra e abastece as reservas aquíferas, e parte tem como destino os rios, lagos, mares e oceanos, reiniciando assim o ciclo (CONSOLI et al., 2006).

A importância da água para todos os seres vivos também é digna de nota, sendo sua presença essencial para o funcionamento das atividades celulares e orgânicas. Além disso, corresponde a 2/3 da massa corporal do ser humano (VASCONCELOS; AQUINO, 1995).

No dia a dia, dentre os diversos usos da água podem ser citados o abastecimento público, industrial e agropecuário, a preservação da vida aquática, a recreação e o transporte (VENDEMIATTI, 2003).

Segundo a Universidade da Água (UNIAGUA) (2008) apesar de, no Planeta Terra, 2/3 ser constituído de água, nos oceanos e mares são encontrados 97,5% desse total, nas geleiras ou regiões subterrâneas de difícil acesso estão 2,5% e apenas 0,007% da água é doce e disponível para o uso, em lagos, rios e atmosfera.

A Figura 1 mostra o total de água na Terra, e a Figura 2, a distribuição da água doce.

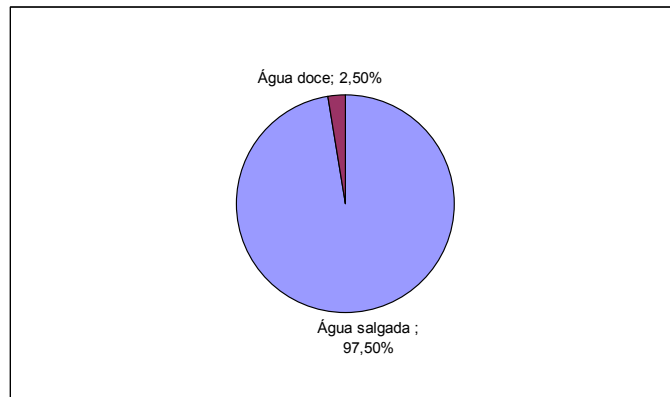


Figura 1 - Total de água na Terra
Fonte: LIMA, 2001

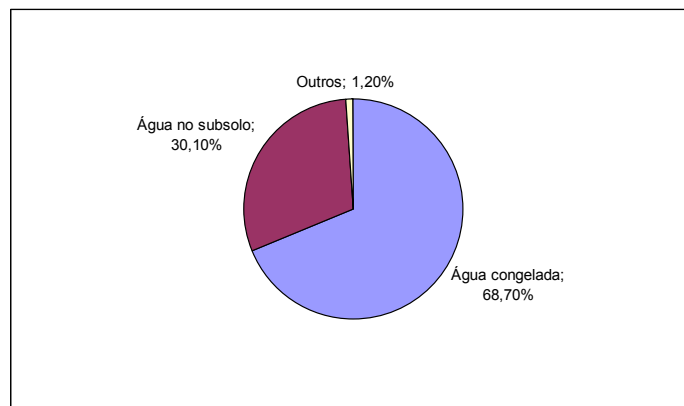


Figura 2 - Distribuição de água doce na Terra
Fonte: LIMA, 2001

O consumo de água no mundo no ano 2000 foi estimado em 3.940 km^3 , volume inferior a 10% da água disponível no mundo. Este dado dá a falsa sensação de que não há problemas com escassez de água, porém, como esta é distribuída desigualmente em todo o mundo, assim como a população mundial, algumas áreas sofrem permanentemente com a sua falta (LIMA, 2001).

No Brasil estão 11,6% da água doce superficial disponível no planeta, porém em nosso território ela se encontra distribuída desigualmente, assim como a população (Tabela 1) (UNIAGUA, 2008).

Tabela 1 – Distribuição dos recursos hídricos e da população no Brasil

REGIÃO	% RECURSOS HÍDRICOS	% DA POPULAÇÃO
Norte	68,5	6,98
Centro-Oeste	15,7	6,41
Sul	6,5	15,05
Sudeste	6	42,65
Nordeste	3,3	28,91

Fonte: UNIAGUA, 2008.

A água tem diversos destinos, sendo o principal em todo o mundo a agricultura (70%), seguido pelas indústrias (22%), como parte dos produtos elaborados, na limpeza de matérias-primas e instalações ou na geração de energia (vapor), entre outros. Apenas 8% são destinados ao uso municipal ou residencial, e esse uso é desigual para ricos e pobres (Figura 3) (DAVID et al., 1999; JULIÃO, 2003; ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS - ONU, 2005; UNIAGUA 2008). A Figura 4 mostra esta distribuição no Brasil.

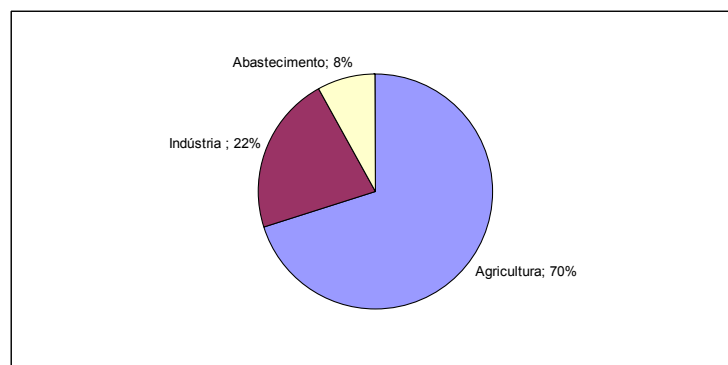


Figura 3 – Distribuição dos recursos hídricos no mundo
Fonte: Adaptação UNIAGUA (2008)

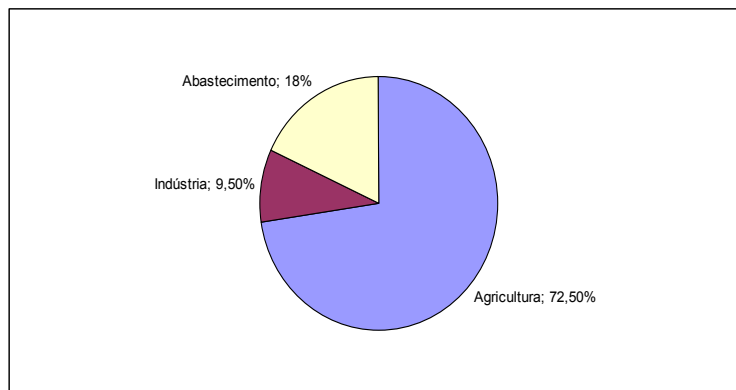


Figura 4 – Distribuição dos recursos hídricos no Brasil
Fonte: LIMA (2001)

Com o crescimento da população aumenta também a demanda por alimentos, pressionando a agricultura a produzir mais e conseqüentemente a utilizar mais água na irrigação. Caso não ocorra o aprimoramento dos meios de irrigação, em 2050 a Organização das Nações Unidas (ONU) estima que a demanda da água para a agricultura passará de 70% para 90% (RELATÓRIO..., 2009).

O uso da água na agricultura freqüentemente não é sustentável, esgotando as reservas de aquíferos subterrâneos e degradando o ecossistema. Em média, para a produção de 1 quilo de arroz são gastos 2.400 litros de água, sendo que na Índia são gastos 3.700 litros de água para obter a mesma produção (ONU, 2005).

Segundo Macedo (2007),^f em países desenvolvidos a porcentagem de água utilizada na indústria supera a da agricultura.

Apesar dos apelos para armazenar e diminuir o uso da água, este bem está se tornando cada vez mais escasso e de qualidade inferior a desejável (FREITAS; BRILHANTE; ALMEIDA, 2001).

Esse decréscimo na qualidade da água utilizada pela população, tanto para consumo como para recreação e outras atividades, tem sido relacionado ao desenvolvimento industrial, ao crescimento demográfico e à ocupação de forma intensa e acelerada do solo, que tem como conseqüência o comprometimento de recursos hídricos disponíveis para consumo humano. Este fato é observado principalmente em países em desenvolvimento (KINDLER, 1992). Segundo o Programa das Nações Unidas para o Desenvolvimento - PNUD (2006), cerca de 1,1 bilhão de pessoas no

mundo (um quinto da população) não tem acesso à água potável, e 40% da população mundial não tem condições sanitárias básicas.

Segundo a Organização das Nações Unidas (ONU), 29 países já não possuem mais água doce para toda a população. Em 2025, estima-se que esse problema seja enfrentado por 48 países e, em 2050, por cerca de 50 países. O consumo de água em países onde a disponibilidade deste recurso atinge níveis críticos é menor, como observado em países africanos onde o consumo é de 10 a 15 litros/habitante/dia. Em New York (EUA) o consumo de água per capita diário é de 2.000L (ÁGUA...1999; COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL – CETESB, 2001).

De acordo com a ONU, estima-se que a população mundial em 2012 chegue a 7 bilhões e em 2050 passe de 9 bilhões. A população em países em desenvolvimento em 2009 era de 5,6 bilhões e em 2050 deve chegar a 7,9 bilhões. Nas regiões mais desenvolvidas, a população em 2009 atingiu 1,23 bilhões, e em 2050 deve atingir 1,28 bilhões. O aumento da população nestes países se deve às imigrações de países em desenvolvimento, pois sem este fator estima-se que a população diminuiria para 1,15 bilhões. Com o aumento na população mundial aumentam também a demanda por água, alimentos e moradia (CENTRO REGIONAL DE INFORMAÇÕES DAS NAÇÕES UNIDAS – UNRIC, 2010; LIMA, 2001).

Cerca de 1/5 da população mundial não tem acesso à água potável (ONU, 2006) e de acordo com um artigo publicado no jornal O Globo, Relatório...(2009), a ONU prevê que mais da metade da população mundial (cerca de 3 bilhões de pessoas), sofrerá com a escassez de água em 2025. Este será o resultado das secas, do aumento populacional, da crescente urbanização, das mudanças climáticas, da proliferação indiscriminada do lixo e da má administração dos recursos.

Cerca de 300 milhões de pessoas na África já não tem mais acesso à água potável e meio bilhão de pessoas sofrem com falta de saneamento básico. Países como Mauritânia, Tunísia, Uzbequistão e Jordânia apresentam as mais baixas disponibilidades hídricas por habitante (menos de 500m³/hab/ano), seguidos da Argélia, Paquistão e Líbano (de 500 a 1000m³/hab/ano). Em 11 países da África e em 9 do Oriente Médio já não há mais água suficiente, e no México, Hungria, Índia, China,

Tailândia e Estados Unidos a situação já é crítica (LIMA, 2001; ONU, 2005; RELATÓRIO..., 2009; UNIAGUA, 2008).

O consumo médio de água no mundo aumenta com o aumento da renda “per capita”, sendo que para a população de baixa renda o consumo é de 386m³/habitante/ano, para a de média renda, 453m³/habitante/ano e de alta renda 1.167 m³/habitante/ano (UNIAGUA, 2008).

Apesar da água ser um dos poucos produtos que é consumido por toda a população, sem exceção (PARSEKIAN, 1998), nem todos tem acesso à água de qualidade, sendo que três bilhões de pessoas usam águas contaminadas, principalmente por poluição biológica devido à descarga de esgotos domésticos em rios sem o devido tratamento. Em países em desenvolvimento, aproximadamente 90% dos esgotos “*in natura*” são lançados nos cursos d’água, resultando em mais de 5 milhões de mortes anuais devido a doenças de veiculação hídrica. Pelo menos ¼ da humanidade ainda não tem acesso a água potável e saneamento (JULIÃO, 2003).

De acordo com a World Health Organization (WHO) (2009), 2,4 bilhões de indivíduos não têm acesso ao saneamento básico, sendo a maioria dessas pessoas encontrada em países em desenvolvimento. Cerca de 1,5 milhões de crianças morrem por ano de diarreia, o que corresponde a 15% das mortes de crianças de até 5 anos em países em desenvolvimento.

De acordo com o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) (2009a), no Brasil há 56,3 milhões de domicílios, onde 16,7% não são atendidos pela rede geral de abastecimento de água, 26,4% não possuem rede geral de esgoto sanitário e 12,5% não tem coleta de lixo.

Dos municípios urbanos, 91,4% tem abastecimento de água, e dos rurais, 25,7%. A coleta de esgoto atende 75% dos municípios urbanos e 16% dos rurais. Apenas 14% dos municípios brasileiros possuem estações de tratamento de esgoto e apenas 35% de todo o esgoto coletado recebe algum tipo de tratamento. Estes dados revelam que milhões de pessoas não tem acesso à água potável, o que leva à grande maioria desta população a consumir águas oriundas de poços e nascentes. É neste quadro de falta de distribuição de água potável e de coleta e tratamento de esgoto que são registrados inúmeros casos de doenças intestinais e outras (BRASIL, 1998; BRASIL, 2006).

Conflitos bélicos devido à escassez de água já são registrados em algumas regiões do mundo, sendo o mais grave vivenciado por israelenses e palestinos, pois seus mananciais dependem de acordos entre Jordânia, Síria, Líbano, Egito e Arábia Saudita. O território palestino, que é controlado por Israel desde 1967, é a área de recarga dos aquíferos da região, que é caracterizada pela escassez em recursos hídricos (LIMA, 2001).

2.2.2 Água e saúde pública

Dentre todas as substâncias ingeridas pelo homem, a água é a que aparece em maior quantidade e também a principal substância excretada pelo homem. Diariamente o ser humano chega a ingerir mais de 2 litros de água, ou cerca de 3% de seu peso corporal, e em torno de 80% deste peso é água. Assim, a água está sempre em contato direto com o homem, o que justifica o fato de os parasitas micro e macroscópicos a escolherem para então entrarem em contato com o homem e assim contaminá-lo. O homem fica freqüentemente exposto aos contaminantes químicos e microbiológicos presentes na água (RIEDEL, 1992).

Em países em desenvolvimento, o maior veículo de transmissão de microrganismos patogênicos é a água distribuída à população, embora a falta de saneamento e os alimentos também sejam importantes veículos (ASHBOLT, 2004).

Em 2000, o número de pessoas atendidas pela rede de abastecimento público de água era de 4,9 bilhões (82% da população mundial), e 3,6 bilhões de pessoas (60%) tinham acesso ao saneamento básico. Das doenças diarréicas ocorridas em todo o mundo, 88% são decorrentes do consumo de água de má qualidade, falta de saneamento ou higiene (WHO, 2002). Segundo a ONU, cerca de 87% da população mundial tem acesso à água potável e 40% (2,6 bilhões de pessoas) não tem acesso a instalações sanitárias adequadas (ONU, 2010).

A grande maioria das doenças em países em desenvolvimento (80%) é devido à qualidade insatisfatória da água, resultando em 3 milhões de mortes precoces por ano. Por dia morrem cinco mil crianças de diarreia em todo o mundo, sendo que 10% destes casos poderiam ser evitados com saneamento básico e melhores condições de higiene (DI BERNARDO; DI BERNARDO DANTAS, 2005; RELATÓRIO..., 2009). Nestes locais

ainda são encontradas áreas urbanas densamente povoadas e com saneamento ainda precário, onde a água é apontada como a responsável por um grande número de doenças de veiculação hídrica (FREITAS; BRILHANTE; ALMEIDA, 2001).

Aproximadamente 3,1% das mortes em todo o mundo (1,7 milhões) são atribuídas à má qualidade da água, saneamento ou higiene. Cerca de 99,8% destas mortes são em países em desenvolvimento, sendo que 90% destas são de crianças (WHO, 2002).

De acordo com Kindhauser (2003), em 2001, 14,7 milhões de pessoas morreram no mundo em decorrência de doenças infecciosas, sendo que o simples acesso à água e alimentos livres de contaminação fecal seria suficiente para evitar quase 2 milhões de mortes. Das 14,7 milhões de mortes, 1,9 milhões foram decorrentes de doenças diarreicas, 3,9 milhões por doenças respiratórias, 2,9 milhões por AIDS, 1,6 milhões por tuberculose e 1,1 milhão por malária. Estas 5 doenças foram responsáveis por aproximadamente 78% das mortes devido às doenças infecciosas.

No Brasil, 60% das internações hospitalares estão relacionadas com a deficiência de saneamento básico, sendo que cerca de 90% destas doenças ocorrem devido à falta de água em quantidade e/ou qualidade satisfatória para o consumo. No Brasil, em algumas regiões é comum a distribuição de água que não atende aos padrões de potabilidade (DI BERNARDO; DI BERNARDO DANTAS, 2005).

De acordo com a OMS, no Brasil, cerca de 20 mil crianças menores de 5 anos morrem anualmente como consequência de diarreias, vômitos e desnutrição devido ao consumo de água contaminada. Esse elevado número de doenças de veiculação hídrica ocorre especialmente devido à falta de saneamento básico em cerca de 54% dos domicílios do país (SILVA; SALGUEIRO, 2001).

De acordo com uma pesquisa realizada pelo IBGE (2002), no Brasil cerca de 97,9% dos municípios são atendidos pelo serviço de abastecimento de água. Apenas 116 municípios não são atendidos, sendo a maioria situada na região norte e nordeste. Porém, nesta pesquisa não foi divulgada a cobertura, eficácia ou número de ligações domiciliares, ou seja, o fato do município ser atendido pela rede de abastecimento de água não significa que toda a população deste município seja atendida.

Em relação aos domicílios, 63,9% dos recenseados em 2000 eram atendidos pela rede de abastecimento de água. Porém este atendimento é desigual, sendo que na região sudeste, 70,5% dos domicílios eram atendidos; na região sul, 69,1%; na região centro-oeste 66,3%; na região nordeste 52,9% e na região norte 44,3% (IBGE, 2002).

Em 2008, o percentual de domicílios atendidos pela rede de abastecimento de água foi de 83,9%, 0,7% a mais que em 2007. A coleta de lixo atendeu 87,9% dos domicílios (50,6 milhões), o que significou um aumento de 0,6% em relação a 2007 (IBGE, 2009b).

Muitas cidades não possuem água potável para toda a população devido a falhas ou deficiência de projeto ou por operação e manutenção inadequadas (DI BERNARDO; DI BERNARDO DANTAS, 2005).

Dos serviços de saneamento básico oferecidos, o que abrange uma menor parcela da população é o esgotamento sanitário. Segundo dados do IBGE (2002), apenas 52,2% dos municípios eram atendidos por este serviço, sendo que somente 33,4% dos domicílios eram atendidos pela rede geral de abastecimento de esgoto, e este abastecimento, assim como o da água, é desigual em todo o país. O menor número de municípios atendidos era encontrado na região Norte (2,4%), seguido da região nordeste (14,7%), sul (22,5%) e centro-oeste (28,1%). A região com um maior número de domicílios atendidos era a sudeste (53,0%), o que ainda é pouco, já que contempla um pouco mais da metade dos municípios da região.

Por volta de 80% do esgoto lançado em rios, mares, lagos e mananciais no Brasil não passa por nenhum tipo de tratamento, levando à contaminação e deterioração da água usada como fonte de abastecimento (DI BERNARDO; DI BERNARDO DANTAS, 2005).

Os microrganismos patogênicos encontrados na água são transmitidos principalmente pela rota fecal-oral, ou seja, são excretados nas fezes dos indivíduos contaminados, que contaminam a água e o solo. Esses microrganismos são então ingeridos através de água ou alimento contaminado, podendo causar enfermidades diarréicas. Assim, a transmissão de microrganismos patogênicos pode ocorrer de pessoa para pessoa ou até mesmo de animal para humanos (WHO, 1996).

Diversas doenças podem ser associadas à ingestão de água de má qualidade; falta de acesso e distribuição de água, assim como higiene inadequada; falta de saneamento; contato com águas contaminadas; e gerenciamento inadequado de recursos hídricos (WHO, 2002). Dentre as doenças de veiculação hídrica pode-se destacar a febre tifóide, cólera, salmonelose, shigelose, poliomielite, hepatite A, parasitoses, giardíase e amebíases. Vários surtos dessas doenças já foram registrados, e em alguns deles a taxa de mortalidade, principalmente a infantil, é elevada (FREITAS; BRILHANTE; ALMEIDA, 2001). Os principais microrganismos patogênicos encontrados na água de consumo não adequadamente tratada estão descritos na Tabela 2.

Tabela 2 – Principais microrganismos patogênicos na água de consumo

BACTÉRIAS	VÍRUS	PROTOZOÁRIOS
<i>Campylobacter jejuni</i>	Adenovírus (31 tipos)	<i>Balantidium coli</i>
<i>Escherichia coli</i>	Enterovírus (71 tipos)	<i>Entamoeba histolytica</i>
<i>Salmonella</i> (1700 spp.)	Hepatite A	<i>Giardia lamblia</i>
<i>Shigella</i> (4 spp.)	Agente de Norwalk	<i>Cryptosporidium</i> spp.
<i>Vibrio cholerae</i>	Reovírus	
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Rotavírus	
<i>Helicobacter pylori</i>	Vírus coxsackie	

Fonte: CHAVES, 2004.

Epidemias de veiculação hídrica vêm sendo relatadas em diversos países, sendo que nos Estados Unidos, entre 1990 e 1992, 1.768 casos de epidemias ocorreram, provocando 1.091 mortes (MULLER, 1999).

Devido ao fato de a água destinada para o consumo humano ser um dos mais importantes veículos de transmissão de doenças, a análise da qualidade da água é uma atividade de grande importância, sendo a detecção de bactérias indicadoras, como as do grupo coliforme, o método mais indicado, uma vez que elas revelam a possível presença de patógenos (GREGHI, 2005).

A determinação das características biológicas das águas é feita através de exames bacteriológicos e hidrobiológicos. Os exames hidrobiológicos identificam e quantificam as espécies de organismos presentes na água, tais como plânctons, algas, protozoários, rotíferos, crustáceos, vermes e larvas de insetos. Estes exames ajudam a entender as outras análises, principalmente no que diz respeito à poluição da água (DI BERNARDO; DI BERNARDO DANTAS, 2005).

A Organização Mundial de Saúde (OMS) determina que a água deve passar por análises de controle de qualidade regularmente, pois a contaminação varia muito e um exame único ou em uma pequena amostra não é capaz de determinar a contaminação desta (CHALMERS; AIRD; BOLTON, 2000).

Assim, toda água destinada ao consumo humano deve atender aos padrões de potabilidade estabelecidos pela legislação e estão sujeitas a vigilância da qualidade (DI BERNARDO; DI BERNARDO DANTAS, 2005).

2.2.3 Contaminação da água

Dentre as fontes de contaminação dos recursos hídricos, as mais importantes são os esgotos sem tratamento lançados em rios e lagos; aterros sanitários, que afetam os lençóis freáticos; defensivos agrícolas, que escoam com as águas das chuvas, atingindo rios e lagos; garimpos e indústrias, que lançam seus resíduos tóxicos e produtos químicos em rios, lagos e córregos (EMBRAPA, 1994; ROYAL SOCIETY OF CHEMISTRY - RSC, 1992).

Dentre as impurezas presentes na água, várias são inócuas, poucas são desejáveis e algumas são prejudiciais, as quais incluem os vírus, bactérias, parasitos, substâncias tóxicas e elementos radioativos (RICHTER; AZEVEDO NETTO, 1995).

As chuvas e as marés (no caso de rios que encontram o mar) afetam a contaminação da água por *E. coli*. A enxurrada formada após um período de chuva ou tempestade é capaz de carrear estes microrganismos presentes no próprio solo ou carrear as fezes de animais depositadas no solo para o rio. As marés, quando aumentam, elevam o volume de água do rio, que passa a cobrir uma parte maior de terra. Ao diminuir a maré, e conseqüentemente o volume de água do rio, o

microrganismo presente no solo encoberto é carregado para o leito do rio (SOLO-GABRIELE et al., 2000).

Sendo a *E. coli* capaz de crescer em solos secos ou úmidos, os bancos de terra que beiram os rios se tornam fontes constantes de contaminação por este microrganismo (SOLO-GABRIELE et al., 2000).

Segundo Santos (2007), os aumentos da população e das atividades econômicas aumentam ainda mais as impurezas encontradas nas águas, o que torna insegura para consumo direto qualquer fonte de água superficial, sendo necessária a realização de um tratamento prévio desta.

Quando usada como via para a eliminação de excretas e outros dejetos orgânicos a água passa a ser um importante veículo de transmissão de muitos microrganismos, especialmente as bactérias intestinais. Desta forma, o controle sanitário exerce um papel importante na difusão destas bactérias. Exame de qualidade microbiológica da água indica a presença de certos grupos de bactérias, assim como a recente contaminação da água por material fecal ou matéria orgânica (ISAAC-MÁRQUEZ et.al., 1994)

As fontes de água devem ser protegidas de dejetos humanos ou de animais, que podem conter uma grande variedade de bactérias, vírus, protozoários e helmintos, que podem ser patogênicos ao homem. Falhas na proteção das fontes e no tratamento da água podem expor a população a riscos de desenvolverem doenças intestinais ou infecciosas. Os grupos de riscos para estas doenças são principalmente crianças, idosos, pessoas com a saúde debilitada ou que vivem em condições de saneamento precário. Para essas pessoas, a dose infectiva é menor que para o resto da população (WHO, 1996).

Como o risco de adquirir tais doenças está relacionado com o consumo de água contaminada com excretas humanas ou de animais, o fornecimento de água de qualidade microbiológica satisfatória para toda a população reduz estes riscos (WHO, 1996).

Dos agentes biológicos encontrados na água contaminada, os principais são as bactérias patogênicas causadoras de doenças, como enterites, diarreias infantis, doenças epidêmicas (febre tifóide e cólera, por exemplo). Também podem ser

encontrados vírus, como os da poliomielite e da hepatite infecciosa. Dentre os parasitas ingeridos com as águas contaminadas podem estar a *Entamoeba histolytica* causadora da amebíase (D'ÁGUILA et al., 2000) e a *Giardia lamblia*, causadora da giardíase.

As doenças relacionadas com a água são classificadas em doenças de transmissão hídrica e doenças de origem hídrica. As doenças de transmissão hídrica geralmente são causadas por microrganismos patogênicos presentes nas fezes humanas e de animais, que contaminam a água ao entrar em contato com ela. Neste caso, a água atua como veículo do agente infeccioso. Essas doenças geralmente causam problemas no aparelho gastrointestinal e são causadas por bactérias, vírus, protozoários e helmintos (VERTONI; GALLO, 1994).

As doenças de origem hídrica são aquelas causadas por substâncias químicas, orgânicas ou inorgânicas, presentes na água em concentrações inadequadas. Essas substâncias podem ser originárias do próprio manancial ou resultarem de poluição. Alguns exemplos dessas doenças são: saturnismo (provocada pelo excesso de chumbo na água), a meta-hemoglobinemia (altas concentrações de nitrato) e outras doenças com efeitos a curto ou longo prazo (VERTONI; GALLO, 1994)

A qualidade da água é definida por sua composição química, física e microbiológica, sendo que as características exigidas dependem da sua utilização. Para o consumo humano a água deve ser livre de qualquer matéria suspensa visível, cor, gosto e odor, organismos patogênicos e substâncias orgânicas ou inorgânicas prejudiciais à saúde (RICHTER; AZEVEDO NETTO, 1995).

A água pode ser classificada em potável, poluída, nociva e contaminada. Para ser considerada potável a água deve seguir os padrões encontrados na Portaria nº 518 de 25 de março de 2004 (BRASIL, 2004). A água poluída é aquela que apresenta modificações físicas ou químicas que tornam esta água imprópria para determinados fins, porém não necessariamente prejudicial à saúde. A água nociva é aquela que, devido à presença de certos agentes físicos, químicos ou biológicos, se torna prejudicial à saúde. A água contaminada é considerada um veículo de transmissão de doenças por conter bactérias, ovos ou larvas de helmintos ou vírus (RIEDEL, 1992).

O controle das doenças veiculadas pela água se baseia na interrupção do ciclo: fezes humanas ou de animais → suprimento de água → consumo por humanos, que

poderão adoecer e eliminar estes microrganismos em suas fezes, recomeçando o ciclo (PELCZAR; CHAN; KRIEG, 1996).

Em relação aos alimentos, a água utilizada na lavagem, manipulação e preparo destes não deve ser um veículo de transmissão de microrganismos ou substâncias químicas que podem causar danos à saúde do consumidor. Desta forma, deve-se fazer o uso de água potável para estes fins. Na agricultura, a qualidade da água também deve ser monitorada, devendo-se evitar o uso de água contaminada ou nociva, para que estas não ajam como veículo de transmissão de microrganismos para as plantas, que serão posteriormente consumidas pelo homem (RIEDEL, 1992).

2.2.4 Águas de superfície

Com o aumento populacional e da industrialização a contaminação dos mananciais tem se intensificado cada vez mais, tornando indispensável o tratamento da água antes do consumo (DI BERNARDO; DI BERNARDO DANTAS, 2005).

De acordo com David et al. (1999), para que as águas superficiais de rios e lagos possam ser usadas para abastecimento público e consumo humano elas devem estar dentro de certos padrões físicos, químicos e microbiológicos, para então serem consideradas potáveis.

As características do manancial a ser utilizado para a captação de água a ser tratada estão intimamente ligadas com a possibilidade ou não da água, depois de tratada, ser considerada potável (MACEDO, 2007).

O Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) classifica os mananciais de água para abastecimento público em todo o Brasil através da Resolução nº357 de 17 de março de 2005 e, em cada classe são estabelecidos limites para parâmetros de qualidade (BRASIL, 2005).

No Brasil, um dos maiores problemas de contaminação na água se deve ao fato de 80% do esgoto ser lançado em rios e mares (ALVES, 2007). Dentre os microrganismos de origem intestinal ou de esgoto encontrados na água podem ser citados: *Salmonella*, *Shigella*, *Streptococcus*, *Clostridium*, *Escherichia*, *Aerobacter*, *Proteus* (AMERICAN WATER WORLD ASSOCIATION, 1964).

As alterações de suprimento alimentar, temperatura, luz, sedimentação e atuação de outros seres na água afetam o crescimento e desenvolvimento das bactérias (AMERICAN WATER WORLD ASSOCIATION, 1964).

Segundo Solo-Gabriele et al. (2000), o número de *E. coli* na água de rios é bastante variável, e a maior fonte deste microrganismo é o próprio solo. Fatores ambientais como temperatura e regime de chuvas podem levar a um aumento neste número, uma vez que as chuvas são capazes de carregar as fezes localizadas nas margens ou em bancos de areias de rios e represas ou infiltrarem nos solos, criando uma conexão indireta com o rio. O número de *E. coli* no rio se eleva após uma tempestade.

Muller (1999) analisou diferentes tipos de água (superficial e água tratada) em duas estações de tratamento de água (ETA) na região metropolitana de São Paulo. Foram encontrados coliformes totais e *E. coli* em todas as amostras de água superficial (que abasteciam as ETAs estudadas). Em uma das ETAs, a contagem de *E. coli* em todas as amostras de água bruta analisadas estava acima do tolerado pela Resolução nº20 de 18 de junho de 1986 do CONAMA, vigente no período (BRASIL, 1986). Para águas superficiais captadas para abastecimento, tal legislação (revogada) previa que a contagem de coliformes fecais não deveria exceder 1000/100mL de água em 80% ou mais de pelo menos 5 amostras mensais colhidas em qualquer mês. Caso não houvesse a possibilidade de se realizar as análises de coliformes fecais, o índice limite era de até 5000 coliformes totais/100mL de água em 80% ou mais de pelo menos 5 amostras mensais colhidas em qualquer mês.

A resolução nº 357 de 17 de março de 2005, do CONAMA, que revoga a resolução anterior e está em vigor atualmente, prevê que, para água destinada ao abastecimento não deverá exceder o limite de 1000 coliformes termotolerantes/100 mL de água em 80% ou mais de pelo menos 6 ou mais amostras coletadas durante o período de um ano, com frequência bimestral. A detecção de *E. coli* pode ser usada como substituta para a detecção de coliformes termotolerantes (BRASIL, 2005).

2.2.5 Água tratada

Nem sempre a água encontrada na natureza é considerada potável, sendo então necessários tratamentos que a torne adequada ao consumo humano e que garantam sua qualidade desde a saída da estação de tratamento até o consumo (RIEDEL, 1992).

As águas destinadas ao abastecimento público são provenientes de mananciais superficiais, tais como rios e lagos, que apresentam uma grande variabilidade na salinidade, presença de metais e não metais, substâncias em suspensão, presença de colóides e microrganismos. Desta forma, antes de serem usadas pela população elas devem estar dentro de padrões químicos, físicos e microbiológicos, para então serem consideradas potáveis (DAVID et al., 1999; PARSEKIAN, 1998).

A água tratada destinada ao abastecimento público é captada de mananciais superficiais e bombeada para a estação de tratamento de água, onde produtos químicos são adicionados a fim de tratá-la (PARSEKIAN, 1998).

Nesta etapa de tratamento a água é submetida à filtração (eliminação de impurezas de grande dimensão), adição de coagulante (auxilia a precipitação de impurezas), decantação (separa as impurezas precipitadas), adição de alcalinizantes (neutraliza os coagulantes) e desinfecção (elimina os microrganismos) (DAVID et al., 1999).

O objetivo principal do tratamento de água é torná-la adequada para o consumo humano, uma vez que esta deve ser potável quando chega ao consumidor. Porém, grande parte desta água é destinada para outros fins, tais como lavagem, jardinagem, usos industriais, e recreação (PARSEKIAN, 1998; RIEDEL, 1992).

Devido à contínua queda na qualidade dos recursos hídricos, a avaliação da qualidade higiênico sanitária da água produzida pelas estações de tratamento é uma atividade de extrema importância (CANTUSIO NETO, 2001).

A qualidade da água que chega para a população depende da seleção e proteção eficaz e permanente dos mananciais, do tratamento adequado, da concepção, construção e exploração correta de sistemas de distribuição, manutenção de redes de tubos e reservatórios de armazenamento, diagnóstico periódico e sistemático da qualidade da água distribuída e da realização de ações corretivas caso seja diagnosticada alguma inadequação no processo. O diagnóstico de inadequação é feito

por freqüentes análises físicas, químicas e microbiológicas da água desde a recepção desta na estação de tratamento até a sua distribuição, o que inclui as etapas do tratamento (CHAVES, 2004).

A qualidade da água que chega à população nem sempre é a mesma de quando ela saiu da ETA. Isto ocorre devido à contaminação por bactérias nas paredes das tubulações e nos reservatórios, por falhas no processo de tratamento ou por possíveis fontes de contaminação no sistema de distribuição. Estas bactérias podem resistir às etapas de tratamento da água através da associação com outros organismos ou partículas em suspensão, formando comunidades microbianas denominadas biofilmes. Sob a forma de biofilmes, os microrganismos resistem à cloração e as demais etapas de tratamento de água e podem ser introduzidos à água circulante por arraste ou por erosão, podendo causar danos à saúde da população (ALVES, 2007; BURBARELLI, 2004; CHAVES, 2004).

Muitos microrganismos podem não ter capacidade de se desenvolverem e multiplicarem no sistema de distribuição de água, porém podem ser capazes de sobreviverem neste ambiente por longos períodos e, assim que encontram um ambiente viável, voltam a se desenvolver (ALEGRE, 1994 apud CHAVES, 2004). Mas nem todos os microrganismos encontrados na água são prejudiciais ao homem (CHAVES, 2004).

O Ministério da Saúde, através da Portaria nº 518 de 25 de março de 2004, determina o número mínimo de amostras ou planos de amostragem, além dos padrões para água potável restritos ao trecho que se inicia na captação e se encerra nas ligações domiciliares. A água potável é definida como a água destinada ao consumo humano cujos parâmetros microbiológicos, físicos, químicos e radioativos atendam ao padrão de potabilidade e não ofereça riscos à saúde (BRASIL, 2004). Os padrões microbiológicos da água potável estão descritos na Tabela 3.

Tabela 3 - Padrão microbiológico de potabilidade da água para consumo humano

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

FONTE: Brasil (2004)

NOTAS: (1) Valor máximo permitido.

(2) água para consumo humano em toda e qualquer situação, incluindo fontes individuais como poços, minas, nascentes, dentre outras.

(3) a detecção de *Escherichia coli* deve ser preferencialmente adotada.

A presença de qualquer microrganismo do grupo coliforme na água tratada indica que o tratamento feito foi inadequado ou que a água foi contaminada após a desinfecção. O grupo coliforme é considerado um indicador realista da eficiência do tratamento da água, e indica a possível presença de patógenos no sistema de distribuição desta (COVERT et al., 1989).

Alves (2007) analisou amostras de água ao longo dos sistemas de abastecimento no município de Piracicaba, desde a sua captação, tratamento, distribuição e estocagem residencial, a fim de observar os possíveis pontos de contaminação até o seu consumo. Este estudo evidenciou alguns problemas, tais como a baixa concentração de cloro residual nos reservatórios domiciliares, o que aumenta o risco de proliferação de microrganismos e a presença de microrganismos resistentes ao tratamento da água, que apesar de ser considerado eficiente nessa cidade, a presença desses microrganismos e a sua disseminação na rede de distribuição compromete a qualidade desta e conseqüentemente a saúde da população.

O Instituto Tecnológico do Estado de Pernambuco – ITEP realizou, em 1993, avaliações da potabilidade da água consumida nas residências, empresas e hospitais, com o objetivo de traçar um perfil higiênico-sanitário. Foram observadas contaminações com coliformes totais (64%), *Pseudomonas aeruginosa* (33%), coliformes fecais (25%) e *Staphylococcus aureus* (13%). Nas empresas, 64% das amostras foram consideradas insatisfatórias. Nas residências, 50% apresentaram contaminação por coliformes. Estes altos índices de contaminação foram devido à falta de manutenção da higiene em redes internas de fornecimento, ou seja, cisternas, caixas d'água, torneiras e bebedouros (ALVES; ODORIZZI; GOULART, 2002).

Outro problema enfrentado é a ocupação desordenada e o uso inadequado do solo nas proximidades dos mananciais, que levam à poluição destes, aumentando o uso de produtos químicos e de tecnologias mais avançadas para tornar a água potável. Estes processos refletem no aumento do custo da água para o consumidor (PARSEKIAN, 1998).

2.2.6 Nascentes (bicas)

Normalmente águas oriundas de poços rasos e nascentes são fontes susceptíveis à contaminação. Nesses locais, a água de escoamento superficial contribui para o decréscimo da qualidade microbiológica da água consumida, uma vez que, com ela, são também arrastadas as fezes humanas e de animais, contaminando as fontes e nascentes. Como essa água não passa por um tratamento antes de ser consumida, aumentam os casos de doenças de veiculação hídrica (AMARAL et al., 2003).

No caso da água subterrânea (poços, fontes ou nascentes) ser considerada potável, esta deve ser protegida contra novas contaminações, ou seja, o local de saída da água deve ser protegido contra a entrada de água da superfície (enxurrada) e contra poeira, insetos e seres vivos (RIEDEL, 1992).

Águas subterrâneas que brotam nas superfícies dando origem às nascentes são predominantemente colonizadas por bactérias e algas, prevalecendo os gêneros bacterianos *Alcaligenes*, *Flavobacterium*, *Acinetobacter*, *Moraxella*, *Pseudomonas*, *Micrococcus*, *Nocardia*, e *Cytophaga*, além das bactérias ramificadas como *Hypomicrobium*, *Caulobacter* e *Gallionella*. Em nascentes com alto teor de matéria orgânica a propagação de espécies das famílias *Pseudomonadaceae*, *Enterobacteriaceae* e *Bacillaceae* aumenta (BATISTA, 1996).

O consumo de águas subterrâneas tem aumentado muito nas últimas décadas, e a tendência é aumentar ainda mais (LIMA, 2001). Esta fonte de abastecimento e consumo é importante para a população que não tem acesso à rede pública ou o fornecimento de água é irregular (FREITAS; BRILHANTE; ALMEIDA, 2001). De acordo com o IBGE (1994) no Brasil aproximadamente 6,5 milhões de domicílios (19% do total) eram abastecidos por aquíferos subterrâneos, sendo que destes, 68,78% estavam localizados em áreas rurais e englobavam 11,94% de toda a população.

Dentre os municípios brasileiros onde se faz o uso de água de poços destacam-se São Luís (MA), Natal e Mossoró (RN), Maceió (AL), e cerca de 76% das cidades do estado de São Paulo, 90% das cidades do Paraná e Rio Grande do Sul (LIMA, 2001).

Assim como os mananciais, a qualidade das águas subterrâneas é cada vez mais precária. Este quadro é ainda mais grave em regiões onde o tratamento e distribuição de água são deficientes, o que resulta em sérios problemas de saúde

pública (DI BERNARDO; DI BERNARDO DANTAS, 2005). Desta forma, a maioria das doenças de veiculação hídrica em pessoas que consomem águas originárias de poços ou nascentes pode ser reduzida com o aumento do monitoramento da qualidade da água, assim como um maior acesso à água potável (MISRA, 1975).

As águas subterrâneas estão sujeitas às contaminações por ações antrópicas uma vez que não existe solo ou rocha completamente impermeável (VENDRAMEL, 2004). Dentre as fontes de contaminação estão os próprios poços, ou seja, a forma que o poço é construído é fundamental para a qualidade da água captada. Dentre as contaminações que podem surgir estão: contaminação por parte das rochas mais superficiais, e conseqüentemente mais vulneráveis à contaminação; ausência de lajes de proteção sanitária na boca do poço; proximidade de fossas, postos de gasolina e lixões, que são fontes potenciais de contaminação; falta de desinfecção do poço após a construção. A presença de coliformes em águas provenientes de poços está diretamente relacionada a poços mal construídos, sem laje de proteção e tubo de boca, situados em locais inadequados ou mal protegidos (BRASIL, 2007; CETESB, 2004).

A falta de saneamento também pode ser um fator de contaminação da água subterrânea, uma vez que a infiltração de fossas negras e escoamento superficial podem infiltrar no solo e atingir a água subterrânea. Este problema é detectado pela presença de nitrato na água e surgimento de bactérias patogênicas e vírus (BRASIL, 2007).

Os resíduos sólidos em aquíferos e a falta de coleta de lixo, que pode vir a produzir chorume, também são fontes de contaminação. Esta decomposição anaeróbica da matéria orgânica produz gases, como sulfídrico, metano e mercaptano. Esses gases apresentam odores desagradáveis e, no caso do metano, ainda é inflamável. O chorume pode infiltrar no solo e atingir a água subterrânea. Uma solução seria a coleta de lixo e impermeabilização de aterros sanitários, sendo o lixão uma forma não muito apropriada para depósito de lixo (BRASIL, 2007);

A proximidade da água subterrânea de cemitérios leva à contaminação da água, já que os microrganismos provenientes da decomposição de corpos podem vir a atingi-las. Estes microrganismos podem ser patogênicos, sendo a água então considerada um veículo de transmissão de doença, que pode ter como sintomas alguns distúrbios

gastrintestinais como vômito, náuseas e diarreia. Dentre as doenças mais comuns nestes casos estão: hepatite, leptospirose, febre tifóide e cólera. Para regulamentar esta situação, em 2003 foi publicada pelo CONAMA a Resolução nº335, que dispõe sobre o licenciamento para a construção de cemitérios (BRASIL, 2007).

Em Piracicaba, é comum o consumo de águas de nascentes (bicas) pela população. Um estudo avaliou a qualidade de 18 amostras quinzenais de 8 nascentes neste município quanto à presença de dois indicadores de contaminação fecal: coliformes e *Enterococcus*. Destas, apenas 1 nascente não apresentou contaminação por coliformes fecais e *Enterococcus*, e foi considerada potável, as outras 7 se encontraram fora dos padrões de potabilidade bacteriológica, sendo então impróprias para o consumo humano. A incidência de coliformes variou entre os períodos de chuva e estiagem, sendo que nos primeiros a incidência foi maior devido ao arraste de excrementos e contaminantes pelas enxurradas para o local da coleta da água (BATISTA, 1996).

2.2.7 Microrganismos indicadores

Os microrganismos indicadores refletem a qualidade microbiológica de um alimento, tendo assim relação com a sua vida de prateleira e segurança, uma vez que podem indicar a presença de microrganismos patogênicos (JAY, 2005).

Como os microrganismos patogênicos veiculados pela água e por alimentos são de origem fecal, ou seja, são provenientes de fontes intestinais, os indicadores sanitários foram usados visando à detecção de contaminação por fezes. A presença destes microrganismos na água indica a ocorrência de contaminação de origem fecal e conseqüentemente a possível presença de patógenos intestinais (FRANCO; LANDGRAF, 2008; JAY, 2005).

Os microrganismos indicadores são usados para avaliar a qualidade microbiológica da água, seja ela para consumo, residuária ou destinada à recreação (ASHBOLT; GRABOW; SNOZZI, 2001).

Embora já seja possível detectar a presença de diversos patógenos em água, os métodos de isolamento e enumeração destes são complexos e demorados, tempo suficiente para que muitas pessoas consumam essa água possivelmente contaminada.

Além disso, estes microrganismos estão presentes apenas esporadicamente no ambiente hídrico, e sobrevivem sob essas condições por um período de tempo curto. Desta forma, fazer a análise de microrganismos patogênicos em água se torna inviável para o monitoramento da sua qualidade. Assim, a análise de microrganismos normalmente presentes em fezes de humanos ou animais de sangue quente é a melhor maneira de avaliar a qualidade da água, assim como a eficácia do tratamento e desinfecção no caso de água tratada (CHAVES, 2004; PELCZAR; CHAN; KRIEG, 1996; WHO, 1996).

Um bom microrganismo indicador de contaminação fecal em água deve apresentar as seguintes características:

1. Estar presente em águas poluídas e ausentes nas não poluídas;
2. Estar presente quando microrganismos patogênicos estão presentes;
3. Ter sobrevida igual ou maior que os patógenos na água;
4. Ser inofensivo ao homem;
5. Ser facilmente detectado por testes laboratoriais rápidos, simples e precisos;
6. Ter como habitat exclusivo o trato intestinal humano e de animais;
7. Ocorrer em números muito altos em fezes;
8. Apresentar alta resistência ao ambiente extra-enteral;

(FRANCO; LANDGRAF, 2008; PELCZAR; CHAN; KRIEG, 1996).

Como nenhum microrganismo atende a todos esses requisitos, sugeriram-se alguns microrganismos que são carregados juntamente com os dejetos humanos para o ambiente, como indicadores alternativos de contaminação fecal. Tais microrganismos são: *Streptococcus faecalis* ou Enterococos, *Clostridium perfringens*, vírus entéricos, coliformes e *Escherichia coli* (BURBARELLI, 2004).

Os mais usados são os coliformes, que apresentam como vantagens o fato de estarem presentes no intestino de animais de sangue quente e serem eliminados em grandes quantidades nas fezes destes (cerca de $3,0 \times 10^8$ UFC/g). A sua presença na água também indica que a contaminação desta com material fecal é recente, e a sua quantificação é simples (HUNT; RICE, 2005; SILVA et al., 2005).

2.2.7.1 Grupo coliforme

A análise de bactérias do grupo coliforme é usada como indicador do grau de contaminação e qualidade sanitária da água há mais de meio século. Ela avalia a poluição recente da água por fezes e eventualmente a sua contaminação. Porém, a presença de coliformes na água não indica necessariamente presença de patógenos, já que para estes estarem presentes na água eles devem ser oriundos de fezes de indivíduos ou animais contaminados, enquanto que a presença de coliformes totais e termotolerantes depende apenas da existência de despejo orgânico, não estéril, estranho ao corpo receptor. Porém, quanto maior for o número de coliformes encontrados na água, maior é a probabilidade de se encontrar microrganismos patogênicos (DI BERNARDO; DI BERNARDO DANTAS, 2005; ISAAC-MARQUÉZ et al., 1994).

A ausência de bactérias do grupo coliforme indica que a água não teve contato com fezes, estando livre de bactérias patogênicas, ovos, larvas ou vírus veiculados pelas fezes (RIEDEL, 1992).

O grupo coliforme é definido como: bactérias aeróbias ou anaeróbias facultativas, Gram-negativas, não esporuladas e na forma de bastonetes. Elas fermentam a lactose produzindo gás e ácido dentro de 48 horas a 35°C (HUNT; RICE, 2005). Também são capazes de crescer na presença de sais biliares ou agentes tensoativos e podem apresentar atividade da enzima β -galactosidase (BRASIL, 2004).

São bactérias pertencentes à família *Enterobacteriaceae*, dos gêneros *Escherichia*, *Enterobacter*, *Citrobacter* e *Klebsiella*. Elas podem ser encontradas no ambiente, em solos e vegetais, ou em fezes de humanos ou animais de sangue quente (FRANCO; LANDGRAF, 2008). Assim, o uso de bactérias do grupo coliforme como indicador apresenta como limitação o fato de algumas representantes deste grupo não serem de origem fecal, mas que são capazes de se multiplicarem em águas poluídas (SILVA et al., 2005). Por este motivo, a presença de coliformes totais é utilizada como indicador de higiene (SANT'ANA et. al., 2003).

Os coliformes fecais, ou termotolerantes, são definidos da mesma forma que os coliformes totais, porém eles são capazes de fermentar a lactose com produção de gás em 24 horas em uma temperatura de 44,5 – 45,5°C. São usados para identificar uma

contaminação de origem fecal. Pelo menos três gêneros fazem parte desse grupo: *Escherichia*, *Enterobacter* e *Klebsiella*. Os gêneros *Enterobacter* e *Klebsiella* incluem algumas cepas de origem não fecal, que podem ser encontradas em águas ricas em matéria orgânica, proveniente de efluentes industriais ou material oriundo de planta em decomposição ou solo (SILVA et al., 2005; WHO, 1996).

Por este motivo, a contagem de coliformes totais em água ou alimentos é menos representativa para a determinação da contaminação fecal que os coliformes termotolerantes ou *E. coli* (SILVA et al., 2005).

A *Escherichia coli* é de origem especificamente fecal e raramente encontrada em água ou solo não contaminados com material fecal. Este fato torna a presença de coliformes termotolerantes em água e alimentos menos representativa quanto à contaminação fecal que a enumeração de *E. coli*, porém mais representativa que a contagem de coliformes totais (SILVA et al., 2005; WHO, 1996).

O número de coliformes termotolerantes e o número de *E. coli* encontrados na água apresentam uma relação devido à alta incidência de *E. coli* no grupo fecal. Assim, como o termo coliformes fecais, que é muito usado, envolve certas espécies que não tem origem necessariamente fecal, este passa a ser inapropriado, sendo mais adequado o termo coliforme termotolerante (SILVA et al., 2005; WHO, 1996).

2.2.7.2 *Escherichia coli*

Em 1855, Theodore Escherich descreveu um microrganismo que era encontrado com frequência nas fezes humanas e causava diarreia infantil, nomeando-o de *Bacterium coli*. Em 1958 esta bactéria passou a ser chamada de *Escherichia coli* em homenagem ao seu descobridor (KUHNERT; BOERLIN; FREY, 2000). Em 1892 foi proposto o uso da *E. coli* como indicador de contaminação fecal em água, uma vez que esta bactéria é encontrada no intestino humano e de animais de sangue quente (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

A *E. coli* pertence à família *Enterobacteriaceae* e ao grupo coliforme, tendo assim as características deste grupo. Além destas características, a *E. coli* é uma bactéria que pode ou não apresentar motilidade, capaz de crescer em ambientes aeróbicos ou anaeróbicos facultativos. Seu metabolismo é tanto respiratório quanto fermentativo,

produtora de ácido pela fermentação da glicose e da lactose, catalase positiva e capaz de reduzir nitrato a nitrito (WHO, 1996).

Nas fezes de humanos e de animais a contagem desta bactéria pode chegar a 10^9 bactérias por grama de fezes. Assim, a presença de *E. coli* em água é um bom indicador de contaminação potencialmente perigosa (WHO, 1996).

A *E. coli* tem como habitat primário o intestino humano e de animais de sangue quente, embora já tenha sido observada sua ausência em intestinos de porcos. Seu habitat secundário é a água, o solo e os sedimentos. Esses habitats se diferem quanto à oferta de nutrientes (maior no primário), no modo de respiração (anaeróbica no primário e aeróbica no secundário), temperatura (constante no primário – 37°C; variável no secundário) (JAY, 2005; SAVAGEAU, 1983). Na água para consumo conservada a 15 – 18°C, a *E. coli* sobrevive de 4 a 12 semanas (EDBERG et al., 2000).

Dos coliformes encontrados nas fezes humanas e de animais, 95% são *E. coli*, e dentro das bactérias do grupo coliforme termotolerante, ela é a mais conhecida e mais facilmente diferenciada dos membros não fecais. Seu isolamento e identificação em água são fáceis e podem ser feitos por técnicas simples e rápidas, seu período de sobrevivência é semelhante ao dos patógenos mais comuns, porém não são tão resistentes quanto os vírus intestinais. Devido a essas características, essa bactéria é considerada a melhor indicadora de contaminação fecal. Atualmente, a tendência é usar a detecção específica de *E. coli* (JAY, 2005; SILVA et al., 2005).

Devido à grande degradação dos recursos hídricos, a investigação de *E. coli* em águas tem se tornado cada vez mais necessária e para isto, esta investigação deve ser rápida e precisa (CANTUSIO NETO, 2001). Como consequência, diversos métodos rápidos para a enumeração desta espécie vêm sendo desenvolvidos

A maioria das linhagens desta bactéria é comensal, porém, algumas de suas linhagens são enterotoxigênicas (GALLO, 1992). Essas linhagens podem causar doenças gastrintestinais e se ligam nas células do epitélio intestinal através das fímbrias especializadas presentes nelas. Algumas também podem produzir toxinas que provocam distúrbios intestinais (TORTORA; FUNKE; CASE, 2005). As linhagens de *E. coli* consideradas patogênicas são: *E. coli* enteropatogênica clássica (EPEC), *E. coli*

enteroinvasiva (EIEC), *E. coli* enterotoxigênica (ETEC), *E. coli* entero-hemorrágica (EHEC) e *E. coli* enteroagregativa (EA_gEC) (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

As ETECs não são invasivas, porém produzem toxinas que causam uma diarreia aquosa, lembrando um tipo de cólera. As EIECs invadem a parede intestinal, causando inflamação, febre e disenteria similar a causada pela *Shigella* (TORTORA; FUNKE; CASE, 2005).

Nas linhagens de EHECs há diversos sorotipos, sendo o mais importante o O157:H7, que além de aderir à mucosa intestinal produz a toxina Shiga, que geralmente causa apenas uma diarreia autolimitante, porém há relatos de inflamação no cólon com sangramento profuso e síndrome hemolítico-urêmica (sangue na urina, que muitas vezes leva à insuficiência renal) (TORTORA; FUNKE; CASE, 2005).

Assim como as outras bactérias causadoras de infecções alimentares, a *E. coli* é ingerida através de alimentos ou água contaminados com fezes de humanos ou animais (RIBEIRO, 2006).

2.2.8 Métodos para a avaliação da água

As análises relacionadas à determinação da sanidade da água devem ser simples e rápidas na detecção da bactéria indicadora de contaminação fecal (ASHBOLT; GRABOW; SNOZZI, 2001).

Existem diversos métodos para a análise de bactérias do grupo coliforme e *E. coli* em água, entre eles a técnica do Número Mais Provável (NMP), que estima aproximadamente o número de microrganismos presentes na amostra original. Em tubos de ensaio são adicionados os meios e alíquotas de amostras das diversas diluições. Após o período de incubação os tubos são caracterizados como positivos ou negativos. Com o auxílio da tabela do Número mais Provável é possível saber aproximadamente quantos dos microrganismos que foram analisados estão presentes na amostra (HUNT; RICE, 2005).

Este método é usado para análises de coliformes em água e alimentos, assim como de *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus* e *Clostridium perfringens* (SILVA et al., 2005).

Os meios de crescimento, as condições de incubação e a natureza da amostra de água podem influenciar as espécies isoladas e sua contagem. Desta forma, a padronização de métodos e procedimentos laboratoriais é de extrema importância na uniformização dos critérios para a avaliação microbiológica da qualidade da água em laboratórios de diferentes países (WHO, 1996).

2.2.8.1 Métodos convencionais para a avaliação da água

Os métodos convencionais foram desenvolvidos há muitos anos, e são utilizados como métodos oficiais em diversos laboratórios brasileiros e em outros países. São métodos descritos em diversas publicações internacionais e considerados como referências (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

Para coliformes totais e fecais, dentre os métodos convencionais estão a técnica de fermentação em tubos múltiplos e a técnica da membrana filtrante. Esses métodos analisam a capacidade do microrganismo em fermentar a lactose, produzindo colônias típicas, gás ou ácido e gás (COVERT et al., 1989; ECKNER, 1998). Ambos os métodos necessitam de testes confirmatórios e não isolam as espécies, ou seja, detectam apenas a presença e enumeram os coliformes totais e termotolerantes (EDBERG; ALLEN; SMITH, 1988).

Por serem demorados, ao serem usados na monitoração da qualidade da água, estes métodos podem não impedir o consumo da água antes que os resultados sejam obtidos. Dessa forma, se no caso a água estivesse contaminada com patógenos, poderia causar doenças (HSIEH, 2008).

2.2.8.1.1 Técnica da fermentação em tubos múltiplos

Esta técnica foi inicialmente adotada como padrão pelo primeiro US Public Health Service Drinking Water Standard em 1914, e era aplicada a todas as fontes de água. Este método é simples e requer 48 horas para o teste presuntivo, seguido de 48 horas para o teste confirmativo (WOLF 1972).

É indicada para a determinação de alguns microrganismos, como coliformes totais e termotolerantes, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus*, *Clostridium perfringens* e *S. aureus*. O que diferencia uma análise de outra é o meio a

ser utilizado, que é específico para cada microrganismo (FRANCO; LANDGRAF, 2008; SILVA et al., 2005).

É um método de análise quantitativa que permite saber o Número Mais Provável de microrganismos pela distribuição de alíquotas em séries de tubos contendo o meio de cultura diferenciado para o microrganismo alvo. Por cálculo de probabilidade, pode-se estimar a densidade inicial dos microrganismos, através dos tubos positivos e negativos (SILVA et al., 2005).

A precisão do método está relacionada com a quantidade de tubos utilizados por série (3 ou 5) (HUNT; RICE, 2005).

Para a contagem presuntiva de coliformes por esta metodologia o meio de cultivo utilizado é o Caldo Lauril Sulfato Triptose (LST), que permite um enriquecimento seletivo dos coliformes, recuperando as células injuriadas. O crescimento com produção de gás nos tubos de Durhan indica positividade (HAJDENWURCEL, 1998).

Para a confirmação de coliformes totais o meio de cultivo utilizado é o Caldo Verde Bile Brilhante, que apresenta em sua formulação sais biliares, que inibem o crescimento de microrganismos Gram positivos, e a lactose, que é utilizada como substrato para a produção de gás pelos coliformes. A positividade neste teste é indicada pelo crescimento com produção de gás no tubo de Durhan (HAJDENWURCEL, 1998).

Para a confirmação de coliformes termotolerantes o meio de cultivo utilizado é o Caldo EC (*Escherichia coli*), que é seletivo para os microrganismos Gram positivos devido à presença de sais biliares. A incubação à temperatura de 45°C em banho-maria por 24 horas permite evidenciar a presença de coliformes termotolerantes uma vez que eles apresentam a capacidade de fermentar lactose com produção de gás à temperaturas mais elevadas (HAJDENWURCEL, 1998).

São considerados coliformes aqueles microrganismos que, por esta técnica, sejam capazes de fermentar lactose nos testes presuntivos e confirmativos, com produção de gás a 35°C e a 45°C (BRASIL, 1990).

2.2.8.2 Métodos rápidos – substratos cromogênicos e fluorogênicos

A partir da década de 70, com a necessidade de obter dados analíticos mais rapidamente, e assim aumentar a produtividade laboratorial, começaram a ser desenvolvidos os métodos rápidos. Esses métodos simplificaram o trabalho e reduziram os custos das análises. Dependendo do método utilizado, a sensibilidade e especificidade destes são ainda maiores que a dos métodos convencionais (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

Os métodos rápidos, além de estimar mais rapidamente a qualidade bacteriológica da água, devem dar resultados reais e ter sensibilidade igual aos métodos convencionais utilizados rotineiramente para a análise do mesmo microrganismo (HUNT; RICE, 2005).

A descoberta de uma metodologia que detecta a presença de uma determinada enzima usando um substrato apropriado (cromogênico e fluorogênico) levou ao desenvolvimento de diversos métodos para identificação de microrganismos (MANAFI, 2000).

Os métodos que utilizam substratos definidos não apresentam agentes seletivos nos meios, e sim substratos, que permitem a identificação de microrganismos alvos. Naqueles que utilizam os substratos cromogênicos e/ou fluorogênicos, os substratos são modificados por determinadas enzimas específicas da bactéria alvo. Depois desta modificação, os substratos cromogênicos levam a uma alteração na cor do meio e o fluorogênico na fluorescência do mesmo (ASHBOLT; GRABOW; SNOZZI, 2001).

Tanto a detecção de bactérias do grupo coliforme como de *E. coli* são importantes indicadores de contaminação em água. Desta forma, a detecção simultânea de coliformes totais e *E. coli* garante um melhor controle da qualidade da água. Diversos meios foram desenvolvidos neste sentido (MANAFI, 2000), destacando os métodos Colilert e Colitag.

O substrato cromogênico utilizado nesses métodos é orto-nitrofenil- β -D-galactopiranosídeo (ONPG), e o fluorogênico, 4-metilumbeliferil- β -D-glucoronídeo (MUG) (SILVA et al., 2005). A alteração da cor do meio pela ação do substrato cromogênico ocorre devido às reações químicas. O substrato fluorogênico MUG é solúvel em água e altamente sensível e específico. Devido à sua dependência do pH,

alta difusão em meios sólidos e necessidade de uma fonte de luz UV, o uso do MUG se torna limitado (MANAFI, 2000).

As análises de *E. coli* pelos métodos convencionais utilizados são complicadas, e sua detecção envolve meios complexos e incubação à uma temperatura restrita (44°C – 45°C) em combinação com a produção de ácido e gás, reações bioquímicas específicas como a produção de indol, o teste de atividade da β -glucoronidase, e a ausência de atividade da urease (WHO, 1996). Assim, a análise da ação da enzima β -glucoronidase tem sido muito utilizada em todo o mundo para a detecção de *E. coli* tanto em amostras de água como de alimentos, facilitando assim a detecção de contaminação fecal desses produtos (MANAFI, 2000). Alguns métodos que utilizam este mecanismo tem se mostrado mais específicos que aqueles que utilizam a fermentação da lactose e produção de indol a 44°C (FRICKER et al., 2008a).

Por detectar simultaneamente as bactérias do grupo coliforme total e *E. coli*, o uso de meios que utilizam a detecção de enzimas constituintes destes microrganismos tem sido cada vez mais difundido. Como a enzima β -glucoronidase não é específica da *E. coli*, ou seja, outros microrganismos também a possuem, os meios devem ser formulados de modo a minimizar os resultados falsos-positivos. Alguns meios inibem as bactérias Gram-positivas. Além dos falso-positivos serem indesejados, no caso de análise de água potável os falso-negativos são ainda mais preocupantes (FRICKER et al., 2008b).

Nos últimos anos diversos métodos que detectam simultaneamente coliformes totais e *E. coli* tem sido desenvolvidos e aprovados pelos órgãos responsáveis para a análise de água. Durante a década de 90 foram aprovados pela United States Environmental Protection Agency (USEPA) os métodos Colilert, Colilert-18 e Colisure. Recentemente, outros sete métodos foram aprovados, o MI Ágar (USEPA Federal Register 1998), m-Coli Blue 24, E*Colite (USEPA Federal Register 1999), ReadyCult Coliforms 100, Chromocult (USEPA Federal Register 2002), Colitag (USEPA Federal Register 2004) e Coliscan (USEPA Laboratory Certification Manual 2005) (OLSTADT et al., 2007).

2.2.8.2.1 Colilert (IDEXX)

A Técnica do Substrato Cromogênico Enzimático Colilert surgiu com o objetivo de superar as limitações e problemas enfrentados pelos métodos tradicionais. Este método se baseia na identificação dos microrganismos pela análise de suas enzimas constitutíveis (COVERT et al., 1989).

Ele contém os substratos cromogênico orto-nitrofenil- β -D-galactopiranosídeo (ONPG) e o fluorogênico 4-metilumbeliferil- β -D-glucoronídeo (MUG), que detectam simultaneamente as bactérias do grupo coliforme total e *E. coli* em amostras de água (MANAFI, 2000).

A detecção destes microrganismos por este método é mais fácil que a análise de colônias típicas, e não há necessidade de se realizar testes confirmatórios ou complementares nem isolar culturas puras, necessitando apenas de uma estufa a 35°C e uma luz ultravioleta (365nm) (ASHBOLT; GRABOW; SNOZZI, 2001; EDBERG; ALLEN; SMITH, 1988). Uma outra vantagem desse método é o tempo de análise, que é relativamente rápido e possibilita a correção de problemas possivelmente existentes antes que o produto chegue ao consumidor (IDEXX, 2009).

O substrato cromogênico ONPG é usado na detecção da enzima típica do grupo coliformes totais, a β -galactosidase, que hidroliza o ONPG a orto-nitrofenol resultando na alteração da cor do meio para amarelo (GREGHI, 2005; HUNT; RICE, 2005; SILVA et al., 2005), conforme mostra a Figura 5.

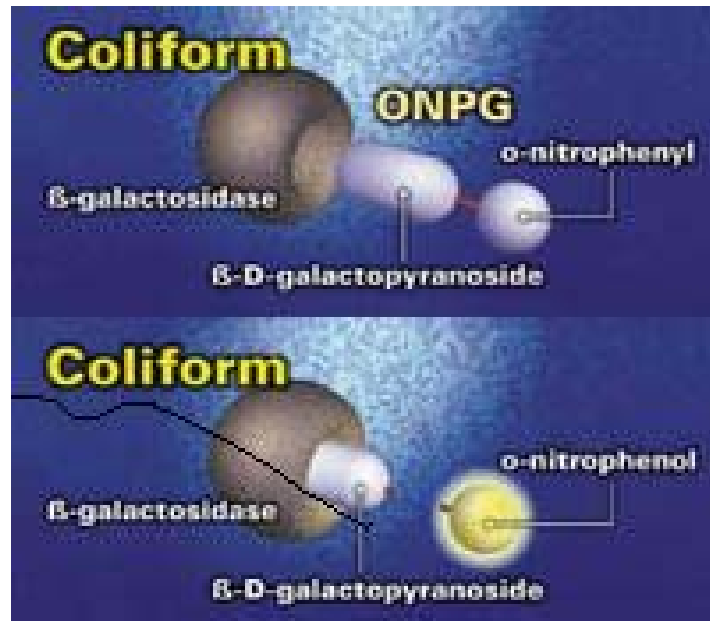


Figura 5 – Mecanismo de detecção de coliformes totais
Fonte: IDEXX (2009).

Para a detecção de *E. coli*, o substrato MUG sofre a ação da enzima β -glucuronidase, que é característica desta bactéria. Ao ser degradado, o MUG libera a 4-metilumbeliferona que, quando submetida à luz ultravioleta, apresenta fluorescência (COVERT et al., 1989; SILVA et al., 2005), conforme a Figura 6.



Figura 6 – Mecanismo de detecção de *E. coli*
 Fonte: IDEXX, (2009).

A enzima β -glucuronidase está presente em 94-96% das cepas de *E. coli* e também em algumas de *Salmonella*, *Shigella* e *Yersinia* spp. (HARTMAN, 1989). Porém, a *E. coli* O157:H7, um patógeno importante para os seres humanos, apesar de ser da espécie *E. coli*, não fermenta D-sorbitol em 24 horas, não apresenta a enzima β -glucuronidase, nem é capaz de crescer a 45,5°C (MANAFI, 2000).

Como resultado pode-se concluir que, se o meio permanecer incolor, indica a ausência de bactérias do grupo coliforme e de *E. coli* na amostra. Se o meio tiver sua cor alterada para amarelo e não apresentar fluorescência sob luz UV, indica presença de bactérias do grupo coliforme e ausência de *E. coli* na amostra. Caso a cor do meio seja alterada para amarela e este apresentar fluorescência sob luz UV, significa que bactérias do grupo coliforme e *E. coli* estão presentes na amostra analisada. A Figura 7 mostra os possíveis resultados deste teste.



Figura 7 - Resultados da análise pelo Colilert
Fonte: IDEXX (2009).

Segundo Alves, Odorizzi, Goulart (2002), o método Colilert de análise de coliformes em água apresenta alta sensibilidade e especificidade.

3.8.2.2 Colitag (HEXIS)

A detecção de coliformes e *E. coli* por esse método demora também apenas 24 horas, e é específico para *E. coli*, e não para coliformes termotolerantes (HSIEH, 2008). Outras vantagens observadas nesse método é a necessidade de apenas um meio enquanto outros métodos necessitam de mais (HUNT; RICE, 2005) e seu custo é menor que o da técnica da fermentação em tubos múltiplos (HSIEH, 2008).

O Colitag é um meio seletivo e diferencial de determinação de presença e ausência de coliformes e *E. coli* em água. O meio já é pronto para ser utilizado e não há necessidade de realizar testes confirmativos.

O mecanismo de ação desse método segue o mesmo princípio do Colilert, ou seja, ele usa o substrato orto-nitrofenil- β -D-galactopiranosídeo (ONPG) e o 4-metilumbeliferil- β -D-glucoronídeo (MUG) para a detecção simultânea de coliformes totais e *E. coli*. A enzima β -galactosidase, presente nos coliformes totais, decompõe o ONPG, que é incolor, alternando a cor do meio para amarelo, que pode ser claramente visto a olho nu. A enzima β -glucoronidase, presente na *E. coli*, decompõe o MUG, que torna o meio fluorescente (observado sob luz UV 365-366nm) (OLSTADT et al., 2007).

Um diferencial do Colitag é a presença em sua composição do tampão TMAO (óxido de N-trimetilamina), que é transformado em trimetilamina. Este composto básico neutraliza o pH baixo, ajudando na recuperação de células injuriadas pelo cloro (OLSTADT et al., 2007).

A United States Environmental Protection Agency (USEPA) aprovou o uso do Colitag para a reativação e posterior detecção de *E. coli* danificadas pelo cloro. O

resultado pode ser expresso como presença/ausência ou por quantificação do Número mais Provável (NMP) de coliformes totais e *E. coli* na água. Por recuperar a célula danificada e reativar o seu crescimento, possibilitando a detecção de *E. coli* danificada pelo cloro, o Colitag se destaca dos outros métodos que não as detectam.

Esta técnica é capaz de detectar diferentes cepas de *E. coli* em 24 horas (HSIEH, 2008).

2.3 Material e métodos

2.3.1 Amostragem

As amostras de água foram obtidas na cidade de Piracicaba, localizada no Estado de São Paulo. As coletas foram realizadas entre os dias 09 de fevereiro de 2009 (teste preliminar) e 15 de junho de 2009.

Foram coletadas amostras de águas provenientes de 3 diferentes pontos, a fim de analisar a equivalência dos métodos em diferentes níveis de contaminação. Os pontos escolhidos foram:

1. Sistema de abastecimento público (tratada):
Abastecimento Público Municipal (SEMAE);
2. Água de superfície:
Rio Piracicamirim;
3. Água subterrânea:
Bica localizada na Rua Silva Jardim.

Foram feitas 3 coletas em cada ponto, e em cada coleta foram analisadas 10 amostras, totalizando em 30 amostras de cada ponto e 90 amostras no total.

2.3.2 Coleta das amostras

Para a coleta das águas de abastecimento e bica foram utilizados frascos erlenmeyers de 4L esterilizados em estufa de esterilização (170°C/2h).

As coletas das amostras de água foram realizadas de acordo com Silva et al. (2005). Para as amostras da bica (nascente), foram previamente esterilizadas as áreas externas da saída da água com álcool 70% e flambadas. A água fluiu por 2 a 3 minutos,

com a finalidade de eliminar toda a coluna de líquido na canalização. Após esses procedimentos, procedeu-se a coleta da amostra.

Para a coleta de água tratada, a torneira foi desinfetada com álcool 70% e flambada. Logo após, a água escoou por 2 a 3 minutos, e foi reduzida a meio fio e então, a amostra foi coletada. Para as amostras de água tratada foi adicionado antes da coleta 0,1mL de uma solução 1,8% de tiosulfato de sódio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) para cada 100mL de amostra, com a finalidade de neutralizar o cloro residual presente na amostra, e impedir a continuação do seu efeito bactericida.

Para a coleta das amostras de água de superfície (rio), foi utilizado um caldeirão metálico de 5L amarrado em um cordão de nylon. O caldeirão foi previamente esterilizado em autoclave a 121°C/30min, sendo aberto apenas na hora da coleta. O caldeirão foi arremessado de uma ponte no leito do rio e foi posicionado contra a corrente e por volta de 30 cm da superfície, para evitar a captação de contaminantes superficiais. A água colhida no caldeirão foi transferida para o erlenmeyer de 4L, também previamente esterilizado, e este foi fechado, sendo aberto somente na hora da análise (CETESB, 1988).

Em todos os casos os frascos não foram completamente enchidos; foi deixado um espaço de $\frac{1}{4}$ para facilitar a mistura da amostra e posterior retirada das unidades analíticas (SILVA et al., 2005).

Após a coleta, os frascos foram lacrados e identificados.

As amostras foram então acondicionadas em caixas isotérmicas (HUNT; RICE, 2005) e transportadas para o laboratório de Microbiologia de Alimentos, no Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição, na ESALQ-USP em Piracicaba, onde foram realizadas as análises, logo após a chegada.

2.3.3 Preparação das amostras para análise

Os frascos contendo as amostras foram agitados, invertendo-os 25 vezes num arco de 30cm para homogeneização (SILVA et al., 2005).

Preparação das diluições:

O diluente utilizado foi a água peptonada 0,1% (água de diluição). Para a primeira diluição foram transferidos 10mL da amostras em frascos contendo 90mL da

água peptonada 0,1%. Dessa primeira diluição foram retirados 10mL e transferidos para um outro frasco contendo 90mL e assim sucessivamente até o preparo de todas as diluições.

O número de diluições para cada amostra de água foi definido após os testes preliminares. Para as amostras de água da bica foram preparadas as diluições 10^{-1} ; 10^{-2} e 10^{-3} . Para as análises de água do rio foram preparadas as diluições 10^{-1} ; 10^{-2} ; 10^{-3} e 10^{-4} . Para as análises de água de abastecimento foi preparada apenas a diluição 10^{-1} .

2.3.4 Análise de coliformes

2.3.4.1 Técnica da fermentação em tubos múltiplos (FTM)

A determinação do Número Mais Provável de coliformes por este método foi realizada segundo Hunt; Rice (2005) (Figura 8).

NMP - Fermentação em Tubos Múltiplos

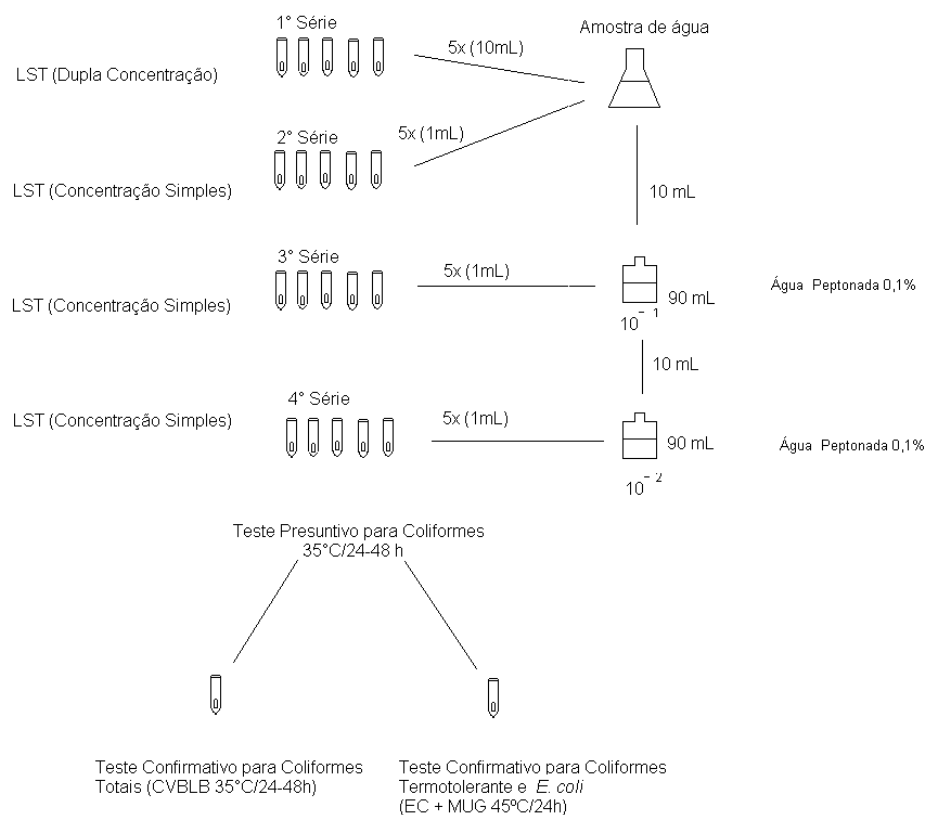


Figura 8 - Esquema da determinação do NMP de coliformes totais, coliformes termotolerantes e *E. coli* pela fermentação em tubos múltiplos

Para o teste presuntivo de coliformes foi utilizado como meio o Caldo Lauril Sulfato Triptose (LST) em tubos de ensaio contendo em seu interior tubos de Durhan (Figura 9). Para cada série foram utilizados 5 tubos.



Figura 9 – Tubo contendo o caldo LST e o tubo de Durhan

Na 1ª série foram transferidos 10mL da amostra bruta em cada tubo contendo o meio Caldo Lauril Sulfato Triptose em dupla concentração, totalizando 5 tubos.

Na 2ª série foi transferido 1mL da amostra de água para os tubos contendo meio LST em concentração simples.

Nas próximas séries foram utilizadas alíquotas de 1mL para cada tubo das demais diluições, ou seja, para a 3ª série foi transferido 1mL da diluição 10^{-1} para cada tubo; para a 4ª série, 1mL da diluição 10^{-2} , e assim sucessivamente até a última diluição.

Os tubos foram incubados a $35^{\circ}\text{C}/24\text{-}48$ horas. Nos tubos que apresentaram turvação e gás nos tubos de Durhan, o que indica que o resultado foi positivo, foi realizado o teste confirmativo para coliformes totais, termotolerantes e *E. coli*.

Para o teste confirmativo para coliformes totais foi utilizado o meio CVBLB (Caldo Verde Brilhante Lactose Bile) e tubos de ensaio contendo tubos de Durhan. Uma alçada dos tubos que apresentaram resultados positivos no teste presuntivo (LST) foi transferida para os tubos com o meio CVBLB, anotando sempre o código da amostra e a série. Os tubos foram então incubados a $35^{\circ}\text{C}/24\text{-}48$ horas.

Assim como no teste presuntivo, a presença de gás nos tubos de Durhan significa que o resultado foi positivo para coliformes totais (Figura 10).



Figura 10 – Tubo com o Caldo CVBLB positivo

Para o teste confirmativo para coliformes termotolerantes e *E. coli*, uma alçada dos tubos positivos do teste presuntivo (LST) foi transferida para os tubos contendo o caldo *E. coli* (EC) + MUG. Esses tubos, depois de identificados, foram incubados a 45°C em banho-maria (Figura 11).



Figura 11 – Tubos com o caldo EC em banho-maria

A positividade para coliformes termotolerantes foi determinada pela turvação do meio e produção de gás nos tubos de Durham (Figura 12) e a positividade para *E. coli* foi determinada pela fluorescência do meio sob luz UV 365 nm (Figura 13).



Figura 12 – Tubos com o Caldo EC positivo e negativo respectivamente

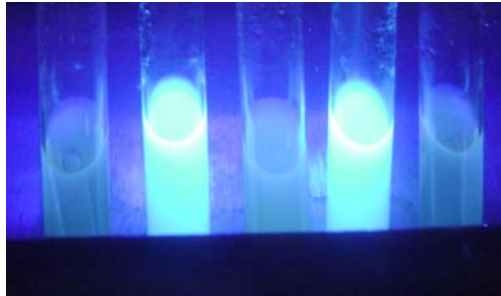


Figura 13 – Tubos com o Caldo EC sob luz UV

A determinação do Número Mais Provável de coliformes totais, coliformes termotolerantes e *E. coli* /100 mL de água foi feita com o auxílio de uma tabela de NMP apropriada às diluições inoculadas (HUNT; RICE, 2005).

Para as amostras de água de abastecimento público, devido à baixa contaminação, foram usados apenas 10 tubos grandes contendo LST dupla concentração, onde foram inoculados 10mL da amostra bruta em cada tubo, de acordo com Silva et al. (2005).

2.3.4.2 Colilert

O teste de presença/ausência usando este método foi realizado conforme Hunt; Rice (2005) (Figura 14):



Figura 14 - Esquema da determinação da presença/ausência de coliformes totais e *E. coli* pelo Colilert

1. O conteúdo de uma ampola foi adicionado a um frasco contendo 100mL da amostra de água;
2. Agitou-se o frasco para a diluição do conteúdo da ampola;
3. O frasco foi incubado a 35°C/24 horas;
4. Após a incubação, foi realizada a leitura, onde:
 - incolor significa ausência de coliformes;
 - amarelo (olho nu) e azul fluorescente em luz UV 365nm, presença de coliformes totais e *E. coli*;
 - amarelo (olho nu) e não fluorescente na luz UV 365nm, presença de coliformes totais e ausência de *E. coli*.

A determinação do NMP de coliformes por esse método foi realizada segundo Hunt; Rice (2005) (Figura 15):

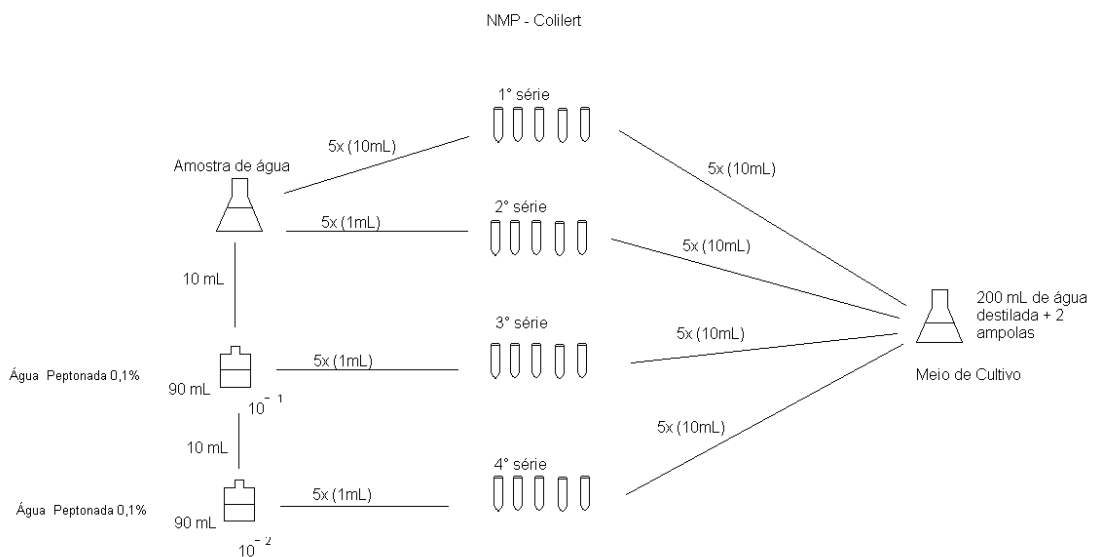


Figura 15 - Determinação do NMP de coliformes totais e *E. coli* pelo Colilert

1. Foi adicionada 1 ampola de Colilert a cada 100mL de água destilada e esterilizada necessária para cada tipo de água, que foi o meio de cultivo. A quantidade de meio de cultivo variou de acordo com a origem da amostra de água, sendo o cálculo feito com base nas diluições necessárias para cada tipo;
2. Os erlemeyers foram agitados para a total dissolução do conteúdo das ampolas;
3. 10ml desse meio foram transferidos para os tubos de ensaio, com o auxílio de uma pipeta;
4. Para a primeira série, foram adicionados 10mL da amostra em 5 tubos grandes contendo o meio;
5. Para a segunda série, foi adicionado 1mL da amostra em cada um dos 5 tubos médios contendo o meio;
6. Para a terceira série, foi adicionado 1mL da diluição 10^{-1} em 5 tubos médios contendo o meio;
7. Para a quarta série, foi adicionado 1mL da diluição 10^{-2} em 5 tubos médios contendo o meio; e assim sucessivamente até a série desejada.
8. Os tubos foram então incubados a 35°C/24 horas;
9. Após a incubação, foi observada a cor (olho nu) e a fluorescência (UV 365 nm) dos tubos. Através do número de tubos amarelos de cada diluição, e com o auxílio da tabela apropriada, disponível em Hunt; Rice (2005), foi determinado o NMP de coliformes totais. Para a determinação do NMP de *E. coli* foi realizado o mesmo procedimento usado para a determinação de coliformes totais, porém foram usados os tubos que apresentaram fluorescência sob a luz UV (365nm).

A Figura 16 mostra os tubos positivos e negativos para coliformes totais, e a Figura 17 para *E. coli*.



Figura 16 – Tubos positivos e negativos para coliformes totais pelo método Colilert

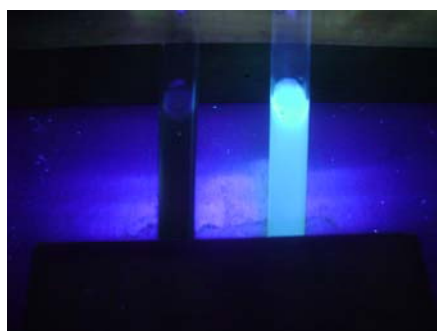


Figura 17 – Tubo negativo e positivo respectivamente para *E. coli* pelo método Colilert

2.3.4.3 Colitag

Os testes usando o Colitag foram realizados da mesma forma que os realizados com o Colilert (item 2.3.4.2) segundo Hunt; Rice (2005).

2.3.5 Análise estatística

Para a análise estatística foi feita a análise de variância e aplicou-se o teste de Tukey usando o sistema computacional SAS (1997).

2.4 Resultados e discussão

2.4.1 Comparação das metodologias para análise de coliformes totais e *E. coli*

Todas as amostras de água de abastecimento analisadas não apresentaram contaminação por coliformes (nem totais e nem *E. coli*), tanto nos testes de

presença/ausência (Colilert e Colitag), como nos testes de quantificação do NMP pelos métodos Colilert, Colitag e FTM. Isto mostra a equivalência entre os métodos e, face a similaridade dos resultados obtidos, qualquer um poderia ser escolhido para análise de coliformes para este tipo de água.

Todas as amostras de água da bica e do rio apresentaram contaminação por coliformes totais e *E. coli*. Mais uma vez, houve coerência quando comparados os testes de presença/ausência (Colilert e Colitag), que mostraram presença de coliformes totais e de *E. coli* em todas as amostras, com os métodos de quantificação do NMP (Colilert, Colitag e FTM).

A Tabela 4 apresenta os resultados das análises de coliformes totais pelos métodos Colilert, Colitag e fermentação em tubos múltiplos (FTM) em amostras de água da bica (NMP/100mL).

Tabela 4 – Resultados das análises de coliformes totais pelos métodos Colilert, Colitag e FTM em amostras de água da bica e as médias das contagens encontradas em cada dia de coleta (NMP/100mL)

DATA	AMOSTRA	COLIFORMES TOTAIS		
		COLILERT	COLITAG	FTM
16/02/09	1	$2,4 \times 10^4$	$9,4 \times 10^4$	$7,9 \times 10^3$
	2	$1,6 \times 10^4$	$5,4 \times 10^3$	$7,0 \times 10^3$
	3	$9,2 \times 10^3$	$9,2 \times 10^3$	$7,9 \times 10^3$
	4	$5,4 \times 10^3$	$3,5 \times 10^3$	$3,1 \times 10^3$
	5	$9,2 \times 10^3$	$5,4 \times 10^3$	$1,3 \times 10^4$
	6	$5,4 \times 10^3$	$9,2 \times 10^3$	$1,4 \times 10^4$
	7	$1,6 \times 10^4$	$9,2 \times 10^3$	$1,7 \times 10^4$
	8	$9,2 \times 10^3$	$5,4 \times 10^3$	$3,1 \times 10^3$
	9	$3,5 \times 10^3$	$3,5 \times 10^3$	$3,3 \times 10^3$
	10	$9,2 \times 10^3$	$3,5 \times 10^3$	$4,9 \times 10^3$
MÉDIAS		$1,1 \times 10^4$	$1,5 \times 10^4$	$8,1 \times 10^3$
09/03/09	1	$1,1 \times 10^3$	$2,4 \times 10^3$	$1,7 \times 10^3$
	2	$1,3 \times 10^3$	$2,2 \times 10^3$	$4,9 \times 10^3$
	3	$3,5 \times 10^3$	$5,4 \times 10^3$	$1,3 \times 10^3$
	4	$3,5 \times 10^3$	$7,9 \times 10^2$	$4,9 \times 10^3$
	5	$1,1 \times 10^3$	$1,1 \times 10^3$	$1,4 \times 10^3$
	6	$2,2 \times 10^3$	$3,5 \times 10^3$	$2,3 \times 10^3$
	7	$5,4 \times 10^3$	$1,4 \times 10^3$	$1,7 \times 10^3$
	8	$3,5 \times 10^3$	$2,4 \times 10^3$	$7,9 \times 10^2$
	9	$1,3 \times 10^3$	$1,7 \times 10^3$	$7,9 \times 10^2$
	10	$1,3 \times 10^3$	$1,1 \times 10^3$	$1,1 \times 10^3$
MÉDIAS		$2,4 \times 10^3$	$2,2 \times 10^3$	$2,1 \times 10^3$
23/03/09	1	$3,5 \times 10^3$	$1,7 \times 10^3$	$7,0 \times 10^3$
	2	$2,8 \times 10^3$	$1,3 \times 10^3$	$3,3 \times 10^3$
	3	$1,1 \times 10^3$	$2,2 \times 10^3$	$3,3 \times 10^3$
	4	$3,5 \times 10^3$	$2,8 \times 10^3$	$3,3 \times 10^3$
	5	$3,5 \times 10^3$	$3,5 \times 10^3$	$1,7 \times 10^3$
	6	$1,3 \times 10^3$	$1,3 \times 10^3$	$1,7 \times 10^3$
	7	$1,7 \times 10^3$	$7,9 \times 10^2$	$1,7 \times 10^3$
	8	$1,4 \times 10^3$	$1,1 \times 10^3$	$2,3 \times 10^3$
	9	$3,5 \times 10^3$	$4,9 \times 10^2$	$1,1 \times 10^3$
	10	$1,7 \times 10^3$	$7,0 \times 10^2$	$1,4 \times 10^3$
MÉDIAS		$2,4 \times 10^3$	$1,6 \times 10^3$	$2,7 \times 10^3$

Como pode ser observado pelos dados apresentados, houve muita variação nas contagens obtidas, independentemente da metodologia utilizada, o que era de certa forma esperado pela natureza do substrato. Tal fato, normalmente se deve a pobreza nutritiva da água, onde as bactérias normalmente não se multiplicam, apenas sobrevivem e são veiculadas, e se apresentam heterogeneamente dispersas, com as alíquotas pipetadas ora contendo ora não as bactérias alvo. Por isso, para análise microbiológica de água em tubos, a quantidade da amostra que é levada aos mesmos é muito maior do que para outros alimentos, o que de certa forma visa corrigir as imperfeições, trabalhando com alíquotas mais representativas.

Mesmo assim, notam-se grandes variações nas estimativas do NMP de coliformes totais, com contagens bem diferentes nas 10 amostras em cada dia de coleta.

Para as amostras coletadas no dia 16/02/09, o NMP de coliformes totais/100mL de água variou de $3,5 \times 10^3$ a $2,4 \times 10^4$ para a metodologia Colilert; de $3,5 \times 10^3$ a $9,4 \times 10^4$ para a metodologia Colitag e de $3,1 \times 10^3$ a $1,7 \times 10^4$ para a técnica FTM.

As médias obtidas para as 10 amostras neste dia foram: $1,1 \times 10^4$ NMP/100mL para a metodologia Colilert; $1,5 \times 10^4$ NMP/100mL para a metodologia Colitag e $8,1 \times 10^3$ NMP/100mL para FTM.

Para as amostras coletadas no dia 09/03/09, o NMP de coliformes totais /100mL de água variou de $1,1 \times 10^3$ a $5,4 \times 10^3$ para a metodologia Colilert; de $7,9 \times 10^2$ a $5,4 \times 10^3$ para a metodologia Colitag e de $7,9 \times 10^2$ a $4,9 \times 10^3$ para a técnica FTM.

As médias obtidas para as 10 amostras neste dia foram: $2,4 \times 10^3$ para Colilert, $2,2 \times 10^3$ para Colitag e $2,1 \times 10^3$ para FTM.

Para as amostras coletadas no dia 23/03/09 o NMP de coliformes totais/100mL de água variou de $1,1 \times 10^3$ a $3,5 \times 10^3$ para Colilert; de $4,9 \times 10^2$ a $3,5 \times 10^3$ para Colitag e de $1,1 \times 10^3$ a $7,0 \times 10^3$ para FTM.

As médias obtidas para as 10 amostras neste dia foram: $2,4 \times 10^3$ para Colilert, $1,6 \times 10^3$ para Colitag e $2,7 \times 10^3$ para FTM.

Também calculou-se as médias gerais das estimativas do NMP de coliformes totais/100mL de água para as 30 amostras analisadas para cada metodologia (10 amostras em cada um dos 3 dias de coleta), obtendo-se: $5,3 \times 10^3$ para Colilert, $6,3 \times 10^3$ para Colitag e $4,3 \times 10^3$ para FTM.

A Tabela 5 exibe os resultados das análises de *E. coli* pelos métodos Colilert, Colitag e FTM, em amostras de água da bica (NMP/100mL).

Tabela 5 - Resultados das análises de *E. coli* pelos métodos Colilert, Colitag e FTM em amostras de água da bica e as médias das contagens encontradas em cada dia de coleta (NMP/100mL)

DATA	AMOSTRA	<i>E. coli</i>		
		COLILERT	COLITAG	FTM
16/02/09	1	$7,9 \times 10^2$	$3,3 \times 10^3$	$9,4 \times 10^2$
	2	$1,1 \times 10^3$	$4,9 \times 10^2$	$4,6 \times 10^3$
	3	$7,9 \times 10^2$	$1,7 \times 10^3$	$7,9 \times 10^3$
	4	$2,4 \times 10^3$	$1,3 \times 10^3$	$7,9 \times 10^2$
	5	$7,9 \times 10^2$	$1,3 \times 10^3$	$7,0 \times 10^3$
	6	$2,4 \times 10^3$	$7,9 \times 10^2$	$1,4 \times 10^3$
	7	$7,0 \times 10^2$	$1,7 \times 10^3$	$3,1 \times 10^3$
	8	$3,5 \times 10^3$	$1,3 \times 10^3$	$7,9 \times 10^2$
	9	$1,3 \times 10^3$	$4,9 \times 10^2$	$2,3 \times 10^3$
	10	$1,1 \times 10^3$	$3,3 \times 10^2$	$3,3 \times 10^3$
	MÉDIAS	$1,5 \times 10^3$	$1,3 \times 10^3$	$3,2 \times 10^3$
09/03/09	1	$2,3 \times 10^2$	$3,3 \times 10^2$	$9,3 \times 10$
	2	$2,3 \times 10^2$	$3,3 \times 10^2$	$6,8 \times 10^2$
	3	$1,7 \times 10^2$	$7,0 \times 10^2$	$9,3 \times 10$
	4	$3,3 \times 10^2$	$2,2 \times 10^2$	$3,3 \times 10^2$
	5	$2,3 \times 10^2$	$2,3 \times 10^2$	$4,5 \times 10$
	6	$7,9 \times 10^2$	$1,7 \times 10^2$	$2,7 \times 10^2$
	7	$1,7 \times 10^2$	$1,3 \times 10^2$	$1,1 \times 10^2$
	8	$2,2 \times 10^2$	$4,9 \times 10^2$	$7,8 \times 10$
	9	$1,3 \times 10^2$	$4,9 \times 10^2$	$6,8 \times 10$
	10	$1,7 \times 10^2$	$4,9 \times 10^2$	$1,3 \times 10^2$
	MÉDIAS	$2,7 \times 10^2$	$3,6 \times 10^2$	$1,9 \times 10^2$
23/03/09	1	$4,6 \times 10^2$	$1,3 \times 10^3$	$7,0 \times 10^3$
	2	$8,4 \times 10^2$	$7,9 \times 10^2$	$4,9 \times 10^2$
	3	$7,0 \times 10^2$	$7,0 \times 10^2$	$1,1 \times 10^3$
	4	$1,3 \times 10^3$	$7,0 \times 10^2$	$1,3 \times 10^3$
	5	$1,7 \times 10^3$	$1,1 \times 10^3$	$6,8 \times 10^2$
	6	$7,9 \times 10^2$	$4,9 \times 10^2$	$1,4 \times 10^3$
	7	$1,7 \times 10^3$	$4,9 \times 10^2$	$6,8 \times 10^2$
	8	$1,4 \times 10^3$	$1,1 \times 10^3$	$7,9 \times 10^2$
	9	$7,0 \times 10^2$	$2,3 \times 10^2$	$3,3 \times 10^2$
	10	$7,0 \times 10^2$	$4,9 \times 10^2$	$6,8 \times 10^2$
	MÉDIAS	$1,0 \times 10^3$	$7,4 \times 10^2$	$1,5 \times 10^3$

Aqui também, como ocorrido com os dados anteriormente apresentados para coliformes totais e pelos mesmos motivos levantados, houve muita variação nas contagens obtidas, independentemente da metodologia utilizada.

Considerando-se os resultados por coleta (10 amostras), no dia 16/02/09 o NMP de *E. coli*/100mL de água variou de $7,0 \times 10^2$ a $3,5 \times 10^3$ para Colilert, de $3,3 \times 10^2$ a $3,3 \times 10^3$ para Colitag e de $7,9 \times 10^2$ a $7,9 \times 10^3$ para FTM.

As médias obtidas para as 10 amostras neste dia foram: $1,5 \times 10^3$ para Colilert, $1,3 \times 10^3$ para Colitag e $3,2 \times 10^3$ para FTM.

Para as amostras coletadas no dia 09/03/09, o NMP de *E. coli*/100mL de água variou de $1,3 \times 10^2$ a $7,9 \times 10^2$ para Colilert, de $1,3 \times 10^2$ a $7,0 \times 10^2$ para Colitag e $4,5 \times 10$ a $6,8 \times 10^2$ para FTM.

As médias obtidas para as 10 amostras neste dia foram: $2,7 \times 10^2$ para Colilert, $3,6 \times 10^2$ para Colitag e $1,9 \times 10^2$ para FTM.

Para as amostras coletadas no dia 23/03/09 o NMP de *E. coli*/100mL de água variou de $4,6 \times 10^2$ a $1,7 \times 10^3$ para Colilert, de $2,3 \times 10^2$ a $1,3 \times 10^3$ para Colitag e de $3,3 \times 10^2$ a $7,0 \times 10^3$ para FTM.

As médias obtidas para as 10 amostras neste dia foram: $1,0 \times 10^3$ para Colilert, $7,4 \times 10^2$ para Colitag e $1,5 \times 10^3$ para FTM.

Também foram calculadas as médias gerais das estimativas do NMP de *E. coli*/100mL de água para as 30 amostras analisadas para cada metodologia, obtendo-se: $9,2 \times 10^2$ para Colilert, $8,0 \times 10^2$ para Colitag e $1,6 \times 10^3$ para FTM.

A Tabela 6 mostra os resultados das análises de coliformes totais e *E. coli* pelos métodos Colilert, Colitag e FTM em amostras de água de abastecimento.

Tabela 6 - Resultados das análises de coliformes totais e *E. coli* pelos métodos Colilert, Colitag e FTM em amostras de água de abastecimento (NMP/100mL)

DATA	AMOSTRA	COLIFORMES TOTAIS			<i>E. coli</i>		
		COLILERT	COLITAG	FTM	COLILERT	COLITAG	FTM
13/04/09	1	<1,8	<1,8	<1,1	<1,8	<1,8	<1,1
	2	<1,8	<1,8	<1,1	<1,8	<1,8	<1,1
	3	<1,8	<1,8	<1,1	<1,8	<1,8	<1,1
	4	<1,8	<1,8	<1,1	<1,8	<1,8	<1,1
	5	<1,8	<1,8	<1,1	<1,8	<1,8	<1,1
	6	<1,8	<1,8	<1,1	<1,8	<1,8	<1,1
	7	<1,8	<1,8	<1,1	<1,8	<1,8	<1,1
	8	<1,8	<1,8	<1,1	<1,8	<1,8	<1,1
	9	<1,8	<1,8	<1,1	<1,8	<1,8	<1,1
	10	<1,8	<1,8	<1,1	<1,8	<1,8	<1,1
27/04/09	1	<1,8	<1,8	<1,1	<1,8	<1,8	<1,1
	2	<1,8	<1,8	<1,1	<1,8	<1,8	<1,1
	3	<1,8	<1,8	<1,1	<1,8	<1,8	<1,1
	4	<1,8	<1,8	<1,1	<1,8	<1,8	<1,1
	5	<1,8	<1,8	<1,1	<1,8	<1,8	<1,1
	6	<1,8	<1,8	<1,1	<1,8	<1,8	<1,1
	7	<1,8	<1,8	<1,1	<1,8	<1,8	<1,1
	8	<1,8	<1,8	<1,1	<1,8	<1,8	<1,1
	9	<1,8	<1,8	<1,1	<1,8	<1,8	<1,1
	10	<1,8	<1,8	<1,1	<1,8	<1,8	<1,1
04/05/09	1	<1,8	<1,8	<1,1	<1,8	<1,8	<1,1
	2	<1,8	<1,8	<1,1	<1,8	<1,8	<1,1
	3	<1,8	<1,8	<1,1	<1,8	<1,8	<1,1
	4	<1,8	<1,8	<1,1	<1,8	<1,8	<1,1
	5	<1,8	<1,8	<1,1	<1,8	<1,8	<1,1
	6	<1,8	<1,8	<1,1	<1,8	<1,8	<1,1
	7	<1,8	<1,8	<1,1	<1,8	<1,8	<1,1
	8	<1,8	<1,8	<1,1	<1,8	<1,8	<1,1
	9	<1,8	<1,8	<1,1	<1,8	<1,8	<1,1
	10	<1,8	<1,8	<1,1	<1,8	<1,8	<1,1

Nota-se pelos dados desta tabela que nenhuma das amostras de água de abastecimento público da cidade de Piracicaba apresentou contaminação por coliformes, nem totais e nem *E. coli*. Portanto, todas as 30 amostras analisadas apresentaram-se como adequadas à potabilidade humana de acordo com a Portaria 518 de 25 de março de 2004 e sem nenhuma diferença nos resultados obtidos pelas 3 metodologias utilizadas.

A Tabela 7 exibe os resultados das análises de coliformes totais pelos métodos Colilert, Colitag e FTM em amostras de água do rio (NMP/100mL).

Tabela 7 - Resultados das análises de coliformes totais pelos métodos Colilert, Colitag e FTM em amostras de água do rio (NMP/100mL)

DATA	AMOSTRA	COLIFORMES TOTAIS		
		COLILERT	COLITAG	FTM
18/05/2009	1	$7,9 \times 10^4$	$9,4 \times 10^4$	$1,1 \times 10^5$
	2	$9,4 \times 10^4$	$4,9 \times 10^4$	$4,9 \times 10^4$
	3	$4,9 \times 10^4$	$1,7 \times 10^5$	$4,9 \times 10^4$
	4	$7,9 \times 10^4$	$7,9 \times 10^4$	$7,0 \times 10^4$
	5	$1,3 \times 10^5$	$7,9 \times 10^4$	$1,1 \times 10^5$
	6	$1,3 \times 10^5$	$7,9 \times 10^4$	$7,9 \times 10^4$
	7	$1,1 \times 10^5$	$4,9 \times 10^4$	$4,9 \times 10^4$
	8	$7,9 \times 10^4$	$4,9 \times 10^4$	$4,9 \times 10^4$
	9	$1,1 \times 10^5$	$7,9 \times 10^4$	$7,9 \times 10^4$
	10	$7,9 \times 10^4$	$7,0 \times 10^4$	$7,9 \times 10^4$
	MÉDIAS	$9,4 \times 10^4$	$8,0 \times 10^4$	$7,2 \times 10^4$
02/06/2009	1	$3,3 \times 10^4$	$1,3 \times 10^5$	$1,3 \times 10^4$
	2	$4,9 \times 10^4$	$7,9 \times 10^4$	$1,1 \times 10^4$
	3	$4,9 \times 10^4$	$1,7 \times 10^4$	$2,3 \times 10^4$
	4	$3,3 \times 10^4$	$1,1 \times 10^5$	$3,3 \times 10^4$
	5	$4,9 \times 10^4$	$1,3 \times 10^5$	$1,7 \times 10^4$
	6	$3,3 \times 10^4$	$4,6 \times 10^4$	$1,3 \times 10^4$
	7	$3,1 \times 10^4$	$3,1 \times 10^4$	$1,2 \times 10^3$
	8	$7,9 \times 10^4$	$2,3 \times 10^4$	$1,4 \times 10^3$
	9	$2,3 \times 10^4$	$1,3 \times 10^5$	$3,3 \times 10^4$
	10	$1,3 \times 10^5$	$7,9 \times 10^4$	$7,9 \times 10^3$
	MÉDIAS	$5,1 \times 10^4$	$7,8 \times 10^4$	$1,5 \times 10^4$
15/06/2009	1	$1,3 \times 10^5$	$5,4 \times 10^5$	$2,2 \times 10^5$
	2	$3,5 \times 10^5$	$9,2 \times 10^5$	$3,5 \times 10^5$
	3	$5,4 \times 10^5$	$1,7 \times 10^5$	$3,5 \times 10^5$
	4	$5,4 \times 10^5$	$5,4 \times 10^5$	$3,5 \times 10^5$
	5	$2,4 \times 10^5$	$5,4 \times 10^5$	$5,4 \times 10^5$
	6	$5,4 \times 10^5$	$3,5 \times 10^5$	$5,4 \times 10^5$
	7	$3,5 \times 10^5$	$3,5 \times 10^5$	$3,9 \times 10^4$
	8	$3,1 \times 10^4$	$3,5 \times 10^5$	$2,3 \times 10^4$
	9	$1,6 \times 10^6$	$9,2 \times 10^5$	$1,4 \times 10^5$
	10	$3,5 \times 10^5$	$3,5 \times 10^5$	$2,8 \times 10^5$
	MÉDIAS	$4,7 \times 10^5$	$5,0 \times 10^5$	$2,8 \times 10^5$

Da mesma forma que ocorreu com os resultados das análises para amostras de água da bica, aqui também houve uma grande variação nas contagens obtidas, independentemente da metodologia utilizada.

Para as amostras coletadas no dia 18/05/09, o NMP de coliformes totais/100mL de água variou de $4,9 \times 10^4$ a $1,3 \times 10^5$ para Colilert, de $4,9 \times 10^4$ a $1,7 \times 10^5$ para Colitag e de $4,9 \times 10^4$ a $1,1 \times 10^5$ para FTM.

As médias obtidas para as 10 amostras neste dia foram: $9,4 \times 10^4$ para Colilert, $8,0 \times 10^4$ para Colitag e $7,2 \times 10^4$ para FTM.

Para as amostras coletadas no dia 02/06/09, o NMP de coliformes totais/100mL de água variou de $2,3 \times 10^4$ a $1,3 \times 10^5$ para Colilert, de $1,7 \times 10^4$ a $1,3 \times 10^5$ para Colitag e de $1,2 \times 10^3$ a $3,3 \times 10^4$ para FTM.

As médias obtidas para as 10 amostras neste dia foram: $5,1 \times 10^4$ para Colilert, $7,8 \times 10^4$ para Colitag e $1,5 \times 10^4$ para FTM.

Para as amostras coletadas no dia 15/06/09, o NMP de coliformes totais/100mL de água variou de $3,1 \times 10^4$ a $1,6 \times 10^6$ para Colilert, de $1,7 \times 10^5$ a $9,2 \times 10^5$ para Colitag e de $2,3 \times 10^4$ a $5,4 \times 10^5$ para FTM.

As médias obtidas para as 10 amostras neste dia foram: $4,7 \times 10^5$ para Colilert, $5,0 \times 10^5$ para Colitag e $2,8 \times 10^5$ para FTM.

Também foram calculadas as médias gerais das estimativas do NMP de coliformes totais/100mL de água para as 30 amostras analisadas para cada metodologia, obtendo-se: $2,1 \times 10^5$ para Colilert, $2,2 \times 10^5$ pra Colitag e $1,2 \times 10^5$ para FTM.

A Tabela 8 mostra os resultados das análises de *E. coli* pelos métodos Colilert, Colitag e fermentação em tubos múltiplos em amostras de água do rio (NMP/100mL).

Tabela 8 - Resultados das análises de *E. coli* pelos métodos Colilert, Colitag e FTM em amostras de água do rio (NMP/100mL)

DATA	AMOSTRA	<i>E. coli</i>		
		COLILERT	COLITAG	FTM
18/05/2009	1	$1,1 \times 10^4$	$3,3 \times 10^4$	$1,7 \times 10^4$
	2	$1,7 \times 10^4$	$1,3 \times 10^4$	$1,7 \times 10^4$
	3	$1,3 \times 10^4$	$1,7 \times 10^4$	$4,9 \times 10^4$
	4	$3,3 \times 10^4$	$2,3 \times 10^4$	$4,6 \times 10^4$
	5	$3,3 \times 10^4$	$3,3 \times 10^4$	$1,7 \times 10^4$
	6	$7,9 \times 10^4$	$1,3 \times 10^4$	$2,2 \times 10^4$
	7	$1,1 \times 10^4$	$4,9 \times 10^4$	$2,2 \times 10^4$
	8	$3,3 \times 10^4$	$4,9 \times 10^4$	$2,2 \times 10^4$
	9	$3,3 \times 10^4$	$1,4 \times 10^4$	$4,9 \times 10^4$
	10	$1,1 \times 10^4$	$3,3 \times 10^4$	$6,8 \times 10^3$
	MÉDIAS	$2,7 \times 10^4$	$2,8 \times 10^4$	$2,7 \times 10^4$
02/06/2009	1	$1,7 \times 10^3$	$1,3 \times 10^3$	$2,3 \times 10^3$
	2	$1,3 \times 10^3$	$4,9 \times 10^3$	$6,8 \times 10^3$
	3	$4,9 \times 10^3$	$3,3 \times 10^3$	$1,7 \times 10^3$
	4	$1,7 \times 10^3$	$6,8 \times 10^2$	$1,4 \times 10^3$
	5	$7,8 \times 10^2$	$4,9 \times 10^3$	$6,8 \times 10^3$
	6	$2,2 \times 10^3$	$4,9 \times 10^3$	$4,9 \times 10^3$
	7	$7,0 \times 10^3$	$2,2 \times 10^3$	$9,3 \times 10^2$
	8	$4,9 \times 10^3$	$3,3 \times 10^3$	$9,3 \times 10^2$
	9	$2,2 \times 10^3$	$1,7 \times 10^3$	$2,3 \times 10^3$
	10	$4,9 \times 10^3$	$1,7 \times 10^3$	$4,9 \times 10^3$
	MÉDIAS	$3,2 \times 10^3$	$2,9 \times 10^3$	$3,3 \times 10^3$
15/06/2009	1	$1,7 \times 10^4$	$1,7 \times 10^4$	$6,8 \times 10^3$
	2	$1,1 \times 10^4$	$7,9 \times 10^3$	$4,9 \times 10^3$
	3	$2,3 \times 10^3$	$4,0 \times 10^3$	$4,9 \times 10^3$
	4	$3,3 \times 10^3$	$9,3 \times 10^3$	$1,1 \times 10^4$
	5	$4,0 \times 10^3$	$4,9 \times 10^4$	$1,7 \times 10^3$
	6	$6,8 \times 10^3$	$4,0 \times 10^3$	$3,3 \times 10^3$
	7	$2,3 \times 10^3$	$4,9 \times 10^3$	$3,1 \times 10^3$
	8	$4,9 \times 10^3$	$1,3 \times 10^4$	$6,8 \times 10^2$
	9	$1,3 \times 10^3$	$1,7 \times 10^3$	$3,3 \times 10^3$
	10	$2,3 \times 10^3$	$2,3 \times 10^3$	$6,8 \times 10^3$
	MÉDIAS	$5,5 \times 10^3$	$1,1 \times 10^4$	$4,7 \times 10^3$

Aqui também os resultados variaram bastante nas 10 amostras pelos mesmos motivos expostos anteriormente, quando apresentados os dados da Tabela 4.

Para as amostras coletadas no dia 18/05/09, o NMP de *E. coli*/100mL de água variou de $1,1 \times 10^4$ a $7,9 \times 10^4$ para Colilert, de $1,3 \times 10^4$ a $4,9 \times 10^4$ para Colitag e de $6,8 \times 10^3$ a $4,9 \times 10^4$ para FTM.

As médias obtidas para as 10 amostras neste dia foram: $2,7 \times 10^4$ para Colilert, $2,8 \times 10^4$ para Colitag e $2,7 \times 10^4$ para FTM.

Para as amostras coletadas no dia 02/06/09, o NMP de *E. coli*/100mL de água variou de $7,8 \times 10^2$ a $7,0 \times 10^3$ para Colilert, de $6,8 \times 10^2$ a $4,9 \times 10^3$ para Colitag e de $9,3 \times 10^2$ a $6,8 \times 10^3$ para FTM.

As médias obtidas para as 10 amostras neste dia foram: $3,2 \times 10^3$ para Colilert, $2,9 \times 10^3$ para Colitag e $3,3 \times 10^3$ para FTM.

Para as amostras coletadas no dia 15/06/09, o NMP de *E. coli*/100mL de água variou de $1,3 \times 10^3$ a $1,7 \times 10^4$ para Colilert, de $1,7 \times 10^3$ a $4,9 \times 10^4$ para Colitag e de $6,8 \times 10^2$ a $1,1 \times 10^4$ para FTM.

As médias obtidas para as 10 amostras neste dia foram: $5,5 \times 10^3$ para Colilert, $1,1 \times 10^4$ para Colitag e $4,7 \times 10^3$ para FTM.

Também foram calculadas as médias gerais das estimativas do NMP de *E. coli*/100mL de água para as 30 amostras analisadas para cada metodologia, obtendo-se: $1,2 \times 10^4$ para Colilert, $1,4 \times 10^4$ para Colitag e $1,2 \times 10^4$ para FTM.

Para a análise dos dados obtidos foi feita a transformação logarítmica na base 10. A Figura 18 ilustra as médias transformadas das contagens para coliformes totais em todas as amostras analisadas, pelas diferentes metodologias utilizadas.

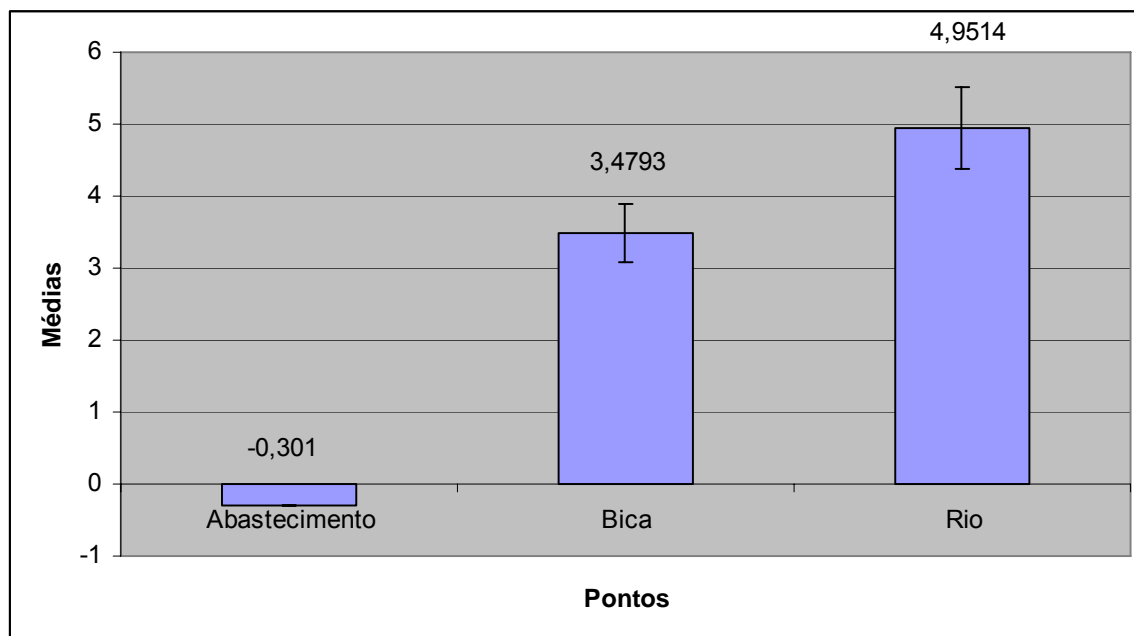


Figura 18 - Médias das contagens de coliformes totais nos diferentes pontos analisados, incluindo os diferentes métodos utilizados
Médias obtidas pela escala transformada

Nas análises de coliformes totais incluindo todos os pontos e todos os métodos a menor contagem encontrada foi -0,3010, o que corresponde à $<1,1$ NMP/100mL de

água na escala original em amostras de água de abastecimento pelo método FTM e à <1,8 NMP/100mL de água na escala original em amostras de água de abastecimento pelos métodos Colilert e Colitag. A maior contagem foi de 6,2041 (correspondente à $1,6 \times 10^6$ NMP/100mL de água na escala original) em uma amostra de água do rio pelo método Colilert.

A Figura 19 mostra as médias das contagens transformadas para *E. coli* em todas as amostras analisadas pelas diferentes metodologias utilizadas.

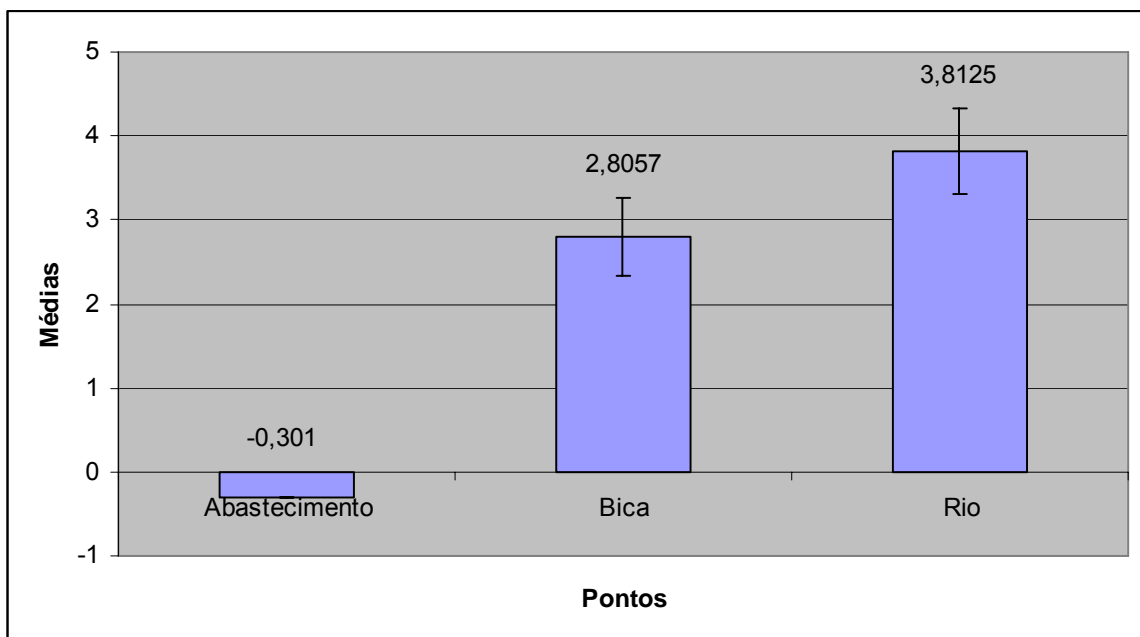


Figura 19 - Médias das contagens de *E. coli* nos diferentes pontos analisados, incluindo os diferentes métodos utilizados
Médias obtidas pela escala transformada

Nas contagens de *E. coli*, a menor encontrada foi -0,3010, que corresponde à <1,1 NMP/100mL de água na escala original em todas as amostras de água de abastecimento pelo método FTM e à <1,8 NMP/100mL de água na escala original em todas as amostras de água de abastecimento pelos métodos Colilert e Colitag. A maior contagem foi de 4,8976 (correspondente à $7,9 \times 10^4$ NMP/100mL de água na escala original) em uma amostra de água do rio, pelo método Colilert.

A Figura 20 exhibe as médias das contagens transformadas de coliformes totais pelas 3 metodologias utilizadas, incluindo todos os pontos de amostragem.

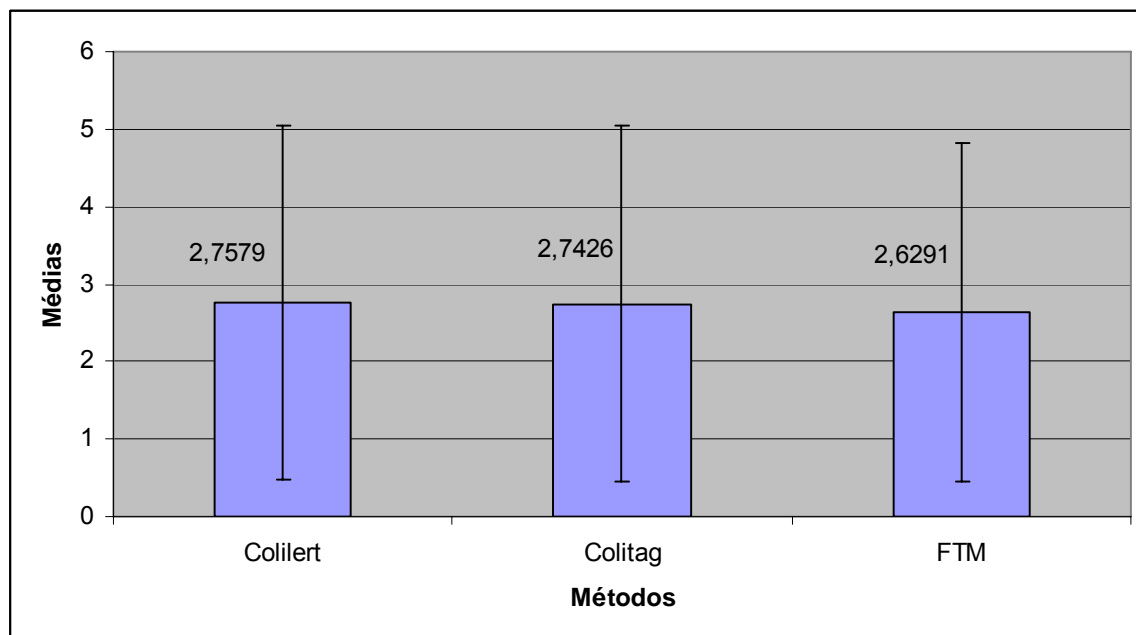


Figura 20 - Médias das contagens de coliformes totais pelos métodos utilizados na escala transformada (incluindo todos os pontos)

A menor contagem de coliformes totais encontrada pelos métodos Colilert, Colitag e FTM foi $-0,3010$, o que corresponde à $<1,8$ NMP/100mL de água na escala original encontrada pelos métodos rápidos e $<1,1$ NMP/100mL de água na escala original encontrada pelo método FTM em todas as amostras de água de abastecimento.

A maior contagem encontrada pelo método Colilert foi $6,2041$ (correspondente a $1,6 \times 10^6$ NMP/100mL de água na escala original) em uma amostra de água do rio, pelo método Colitag, $5,9638$ (correspondente à $9,2 \times 10^5$ NMP/100mL de água na escala original) em duas amostras de água do rio e pelo método FTM, $5,7324$ (correspondente à $5,4 \times 10^5$ NMP/100mL de água na escala original) em duas amostras também de água do rio.

A Figura 21 mostra as médias das contagens transformadas encontradas para *E. coli* nas 3 metodologias utilizadas, incluindo todos os pontos de amostragem.

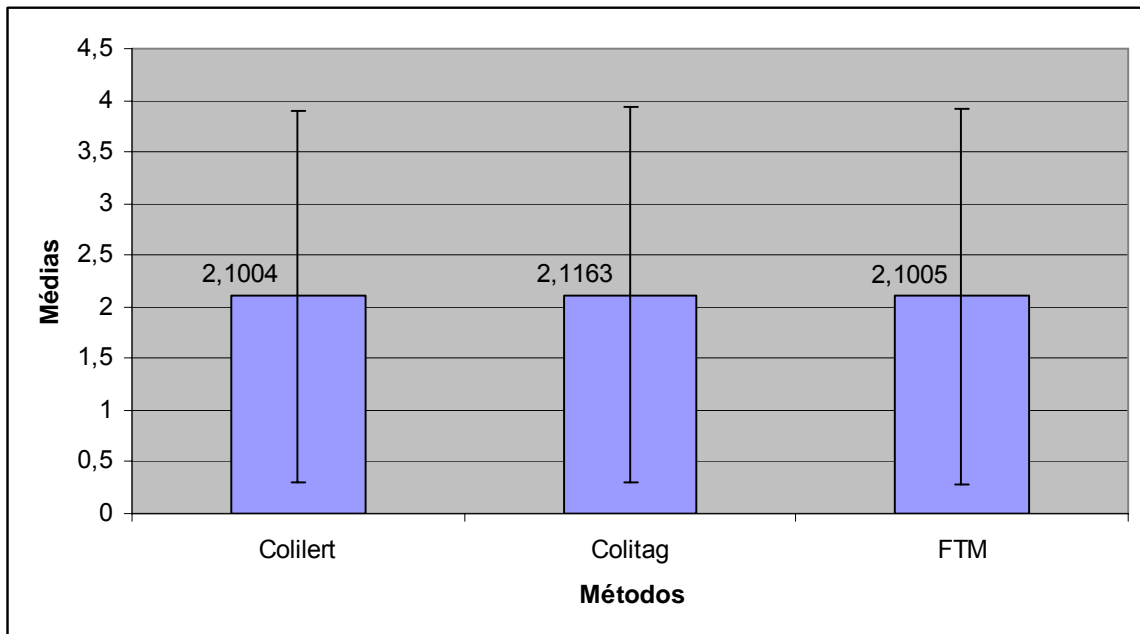


Figura 21 - Médias das contagens de *E. coli* pelos métodos utilizados na escala transformada (incluindo todos os pontos)

Em relação às contagens de *E. coli* encontradas pelos métodos utilizados, o Colilert e o Colitag apresentaram como menor contagem $-0,3010$ (correspondente à $<1,8$ NMP/100mL de água na escala original) para amostras de água de abastecimento. O método FTM também mostrou como menor contagem $-0,3010$ (correspondente à $<1,1$ NMP/100mL de água na escala original) também para todas as amostras de água de abastecimento.

A maior contagem de *E. coli* pelo método Colilert foi de 4,8976 (correspondente à $7,9 \times 10^4$ NMP/100mL de água na escala original) em uma amostra de água do rio; pelo método Colitag foi de 4,6902 (correspondente à $4,9 \times 10^4$ NMP/100mL de água na escala original) em três amostras de água do rio, e pelo método FTM foi de 4,6902 (correspondente à $4,9 \times 10^4$ NMP/100mL de água na escala original) em duas amostras de água do rio.

2.4.1.1 Comparação de metodologia em cada ponto analisado

Em todas as amostras de água de abastecimento analisadas (30) não foram encontradas bactérias do grupo coliforme, ou seja, nem coliformes totais e nem *E. coli*.

A Figura 22 exibe as médias das contagens transformadas encontradas para coliformes totais e *E. coli* em amostras de água da bica.

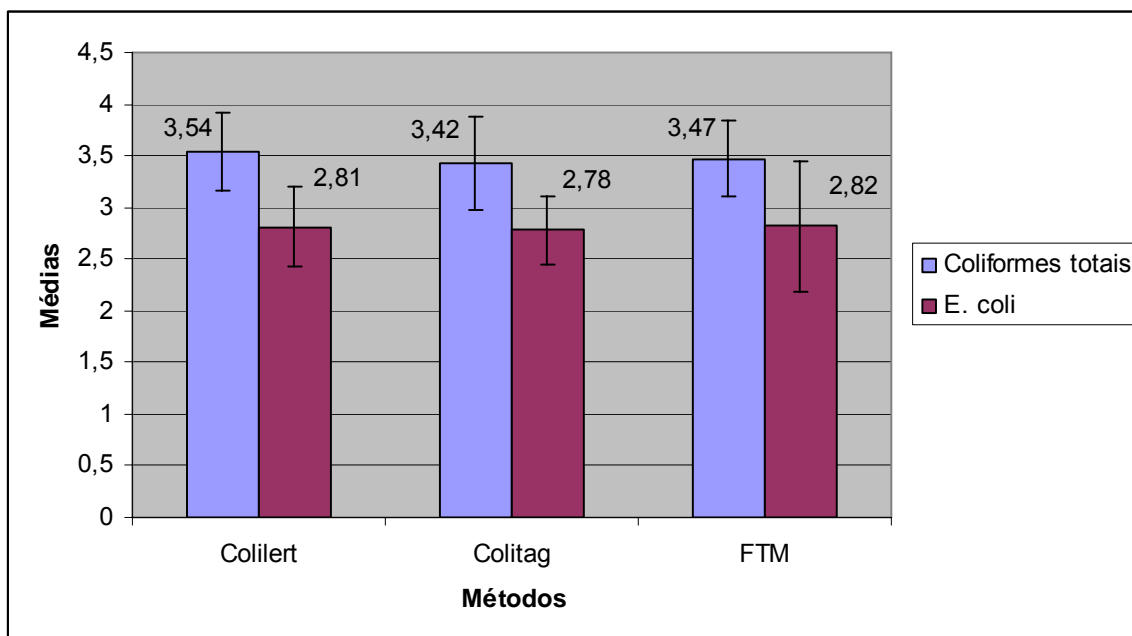


Figura 22 - Médias das contagens para coliformes totais e *E. coli* em amostras de água proveniente da bica na escala transformada

Nas amostras de água da bica, as contagens de coliformes totais encontradas em todos os métodos utilizados variaram de 2,6902 (correspondente à $4,9 \times 10^2$ NMP/100mL de água na escala original) em uma amostra pelo método Colitag a 4,9731 (correspondente à $9,4 \times 10^4$ NMP/100mL de água na escala original) em uma amostra também pelo método Colitag.

Dentro das contagens obtidas para coliformes totais pelo método Colilert, a variação foi de 3,0414 (correspondente à $1,1 \times 10^3$ NMP/100mL de água na escala original) em três amostras, a 4,3802 (correspondente à $2,4 \times 10^4$ NMP/100mL de água na escala original) em uma amostra.

No método Colitag, a variação foi de 2,6902 (correspondente à $4,9 \times 10^2$ NMP/100mL de água na escala original) em uma amostra, a 4,9731 (correspondente à $9,4 \times 10^4$ NMP/100mL de água na escala original) também em uma amostra.

Para o método FTM, a menor contagem encontrada foi de 2,8976 (correspondente à $7,9 \times 10^2$ NMP/100mL de água na escala original) em duas

amostras, e a maior contagem foi 4,2304 (correspondente à $1,7 \times 10^4$ NMP/100mL de água na escala original) em uma amostra.

Em relação às contagens de *E. coli* encontradas em todos os métodos utilizados, a menor foi 1,6532 (correspondente à $4,5 \times 10$ NMP/100mL de água na escala original) em uma amostra pelo método FTM, e a maior foi 3,8976 (correspondente à $7,9 \times 10^3$ NMP/100mL de água na escala original) em uma amostra também pelo método FTM.

Para o método Colilert, a menor contagem foi de 2,1139 (correspondente à $1,3 \times 10^2$ NMP/100mL de água na escala original) em uma amostra, e a maior de 3,5440 (correspondente à $3,5 \times 10^3$ NMP/100mL de água na escala original) em uma amostra.

A variação encontrada no método Colitag foi de 2,1139 (correspondente à $1,3 \times 10^2$ NMP/100mL de água na escala original) em uma amostra, a 3,5185 (correspondente à $3,3 \times 10^3$ NMP/100mL de água na escala original) em uma amostra.

No método FTM, a menor contagem foi de 1,6532 (correspondente à $4,5 \times 10$ NMP/100mL de água na escala original) em uma amostra e a maior foi de 3,8976 (correspondente à $7,9 \times 10^3$ NMP/100mL de água na escala original) em uma amostra.

A Figura 23 mostra as médias das contagens transformadas para coliformes totais e *E. coli* em amostras de água do rio.

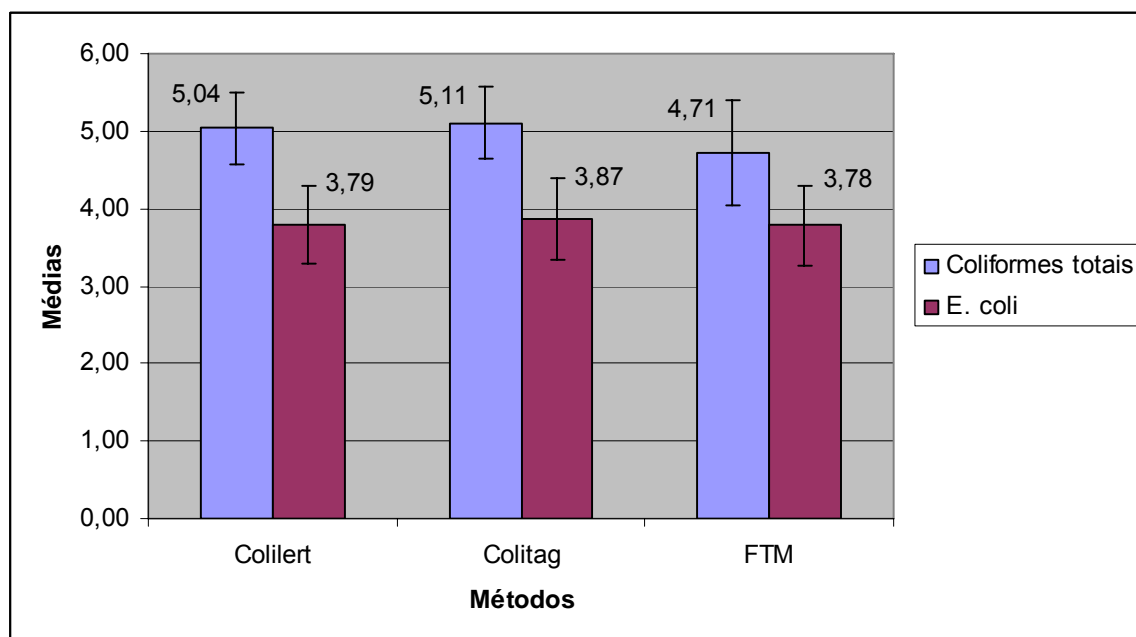


Figura 23 - Médias das contagens para coliformes totais e *E. coli* em amostras de água proveniente do rio na escala transformada

Nas amostras de água do rio as contagens de coliformes totais encontradas incluindo todos os métodos utilizados, variaram de 3,0792 (correspondente à $1,2 \times 10^3$ NMP/100mL de água na escala original) em uma amostra pelo método FTM, a 6,2041 (correspondente à $1,6 \times 10^6$ NMP/100mL de água na escala original) em uma amostra pelo método Colilert.

Pelo método Colilert, a menor contagem encontrada foi 4,3617 (correspondente à $2,3 \times 10^4$ NMP/100mL de água na escala original) em uma amostra, e a maior foi 6,2041 (correspondente à $1,6 \times 10^6$ NMP/100mL de água na escala original) também em uma amostra.

Pelo método Colitag a menor contagem foi de 4,2304 (correspondente à $1,7 \times 10^4$ NMP/100mL de água na escala original) em uma amostra, e a maior de 5,9638 (correspondente à $9,2 \times 10^5$ NMP/100mL de água na escala original) em duas amostras.

As contagens de coliformes totais pelo método FTM variaram de 3,0792 (correspondente à $1,2 \times 10^3$ NMP/100mL de água na escala original) em uma amostra, a 5,7324 (correspondente à $5,4 \times 10^5$ NMP/100mL de água na escala original) em duas amostras.

Nas análises de *E. coli* em amostras de água do rio, a variação encontrada foi de 2,8325 (correspondente à $6,8 \times 10^2$ NMP/100mL de água na escala original) em uma amostra pelos métodos Colitag e FTM, a 4,8976 (correspondente à $7,9 \times 10^4$ NMP/100mL de água na escala original) em uma amostra pelo método Colilert.

Pelo método Colilert, a menor contagem encontrada foi 2,8921 (correspondente à $7,8 \times 10^2$ NMP/100mL de água na escala original) em uma amostra, e a maior foi 4,8976 (correspondente à $7,9 \times 10^4$ NMP/100mL de água na escala original) em uma amostra.

No método Colitag, a menor contagem encontrada de *E. coli* foi de 2,8325 (correspondente à $6,8 \times 10^2$ NMP/100mL de água na escala original) em uma amostra, e a maior foi de 4,6902 (correspondente à $4,9 \times 10^4$ NMP/100mL de água na escala original) em três amostras.

Pelo método FTM, a menor contagem encontrada foi de 2,8325 (correspondente à $6,8 \times 10^2$ NMP/100mL de água na escala original) em uma amostra, e a maior foi de 4,6902 (correspondente à $4,9 \times 10^4$ NMP/100mL de água na escala original) em duas amostras.

2.4.2 Análise estatística dos métodos

Pela análise estatística exploratória foram encontrados alguns problemas, tais como escala, outliers (pontos discrepantes) e heterogeneidade de variâncias. Para resolver estes problemas foi utilizado o método de transformação potência ótima de Box; Cox (1964) o qual sugeriu a transformação logarítmica na base 10 dos dados obtidos.

A alta variabilidade encontrada nos dados se deve ao fato de os três pontos escolhidos para as análises apresentarem contaminações diferentes, sendo um de contaminação muito baixa (abastecimento), um de contaminação intermediária (bica) e um de contaminação alta (rio). Assim, houve uma grande diferença na escala dos dados encontrados, sendo que para coliformes totais as contagens variaram de $<1,1$ NMP de coliformes totais/100mL de água (abastecimento) até $1,6 \times 10^6$ NMP de

coliformes totais/100mL de água (rio). Para *E. coli* a variação foi de <1,1 NMP de *E. coli*/100mL de água (abastecimento) a $7,9 \times 10^4$ NMP de *E. coli*/100mL de água (rio).

A variabilidade dos dados obtidos em amostras oriundas de um mesmo ponto também se deve ao fato das amostragens terem sido realizadas em três dias diferentes. Desta forma, pode ter ocorrido variações de temperatura, regime de chuva, pH da água coletada e nutrientes disponíveis, o que pode ter acarretado uma variabilidade na contagem dos microrganismos analisados. No entanto o efeito de dias foi modelado para a análise desses dados.

Os resultados da análise estatística obtidos para coliformes totais na escala transformada mostraram uma interação entre pontos e métodos; desta forma as médias de cada método foram estudadas dentro de cada ponto e vice-versa a partir do desdobramento da interação.

A Tabela 9 e a Figura 24 mostram as médias obtidas a partir da transformação logarítmica das contagens encontradas para coliformes totais em todos os pontos e por todos os métodos.

Tabela 9 - Contagens de coliformes totais em cada método dentro de cada ponto

		Métodos		
		Colilert	Colitag	FTM
Pontos	Abastecimento	-0,3010 (± 0,0) Ac	-0,3010 (± 0,0) Ac	-0,3010 (± 0,0) Ac
	Bica	3,5391 (± 0,3843) Ab	3,4233 (± 0,4531) Ab	3,4755 (± 0,3676) Ab
	Rio	5,0358 (± 0,4611) Aa	5,1055 (± 0,4628) Aa	4,7130 (± 0,6731) Ba

Notas: Médias e comparações obtidas a partir da transformação logarítmica dos dados.
Médias seguidas de mesma letra minúscula na vertical e médias seguidas da mesma letra maiúscula na horizontal não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

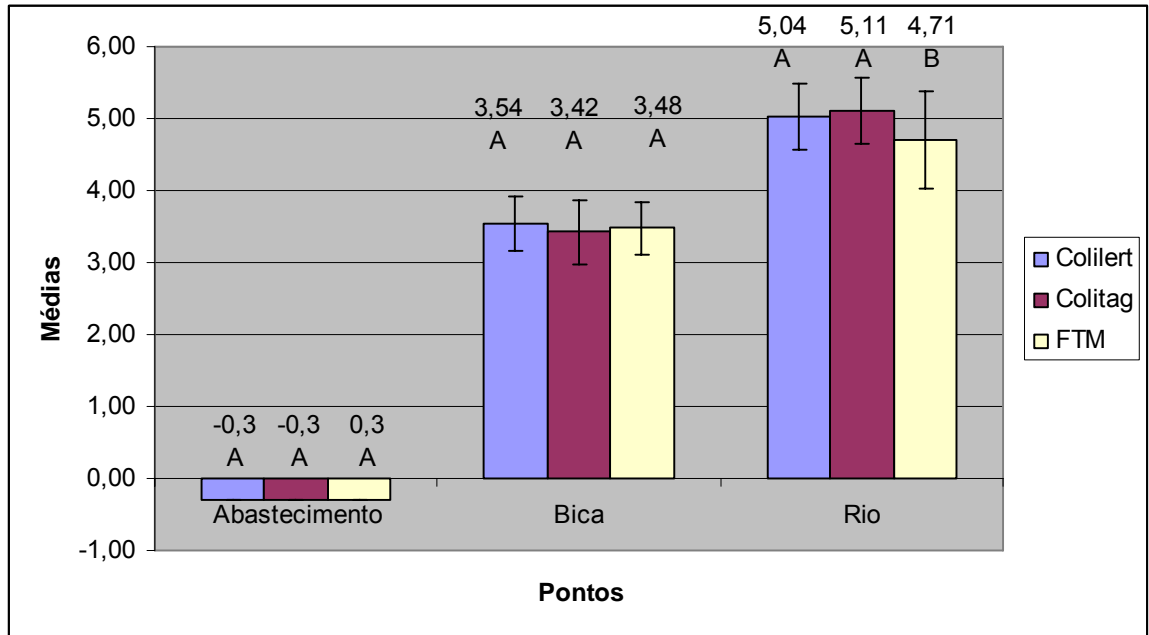


Figura 24 - Contagens de coliformes totais em cada método dentro de cada ponto. Médias e comparações obtidas a partir da transformação logarítmica dos dados. Médias seguidas de mesma letra maiúscula em um mesmo ponto não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

Nas amostras de água de abastecimento e de bica não foi encontrada diferença significativa entre os três métodos utilizados. Já nas amostras de água do rio o método FTM diferiu significativamente dos métodos Colilert e Colitag. Os dois métodos rápidos estudados não diferiram significativamente entre si.

Nas amostras de água do rio, as contagens obtidas pelo método FTM foram menores que as encontradas pelos métodos rápidos, o que pode indicar uma maior capacidade dos meios de cultivos dos métodos rápidos de recuperar melhor as células de coliformes totais injuriadas, conforme citações e discussões mencionadas na revisão de literatura colocadas no presente trabalho, utilizando tais metodologias.

Em todos os métodos utilizados foi observada diferença significativa entre as médias das contagens de coliformes totais entre as amostras de abastecimento, bica e rio. Este fato se deve a grande diferença entre as contaminações por bactérias coliformes totais encontradas nos diferentes pontos, como era esperado por contemplar amostras pouco contaminada (abastecimento), medianamente contaminada (bica) e altamente contaminada (rio). Tal fato foi pensado na escolha dos pontos de coleta, para

que pudesse ser analisada a correlação entre metodologias (diferença significativa ou não) utilizando amostras com diferentes contaminações bacterianas.

Na análise estatística dos dados obtidos nas contagens de *E. coli* na escala transformada foi observada diferença significativa entre os diferentes pontos de coleta e não foi observado o efeito de interação entre ponto e método. Portanto, a comparação de metodologia foi feita dentro de cada ponto.

Nas análises das amostras de água de abastecimento a média encontrada na escala transformada para todos os métodos foi -0,3010, já que em nenhuma amostra foi detectada a presença desta bactéria. As médias negativas se devem ao fato de terem sido feitas a partir da transformação logarítmica dos dados. Assim, na análise estatística não foi encontrada diferença significativa entre os métodos ao nível de 5% de significância, conforme mostra a Figura 25.

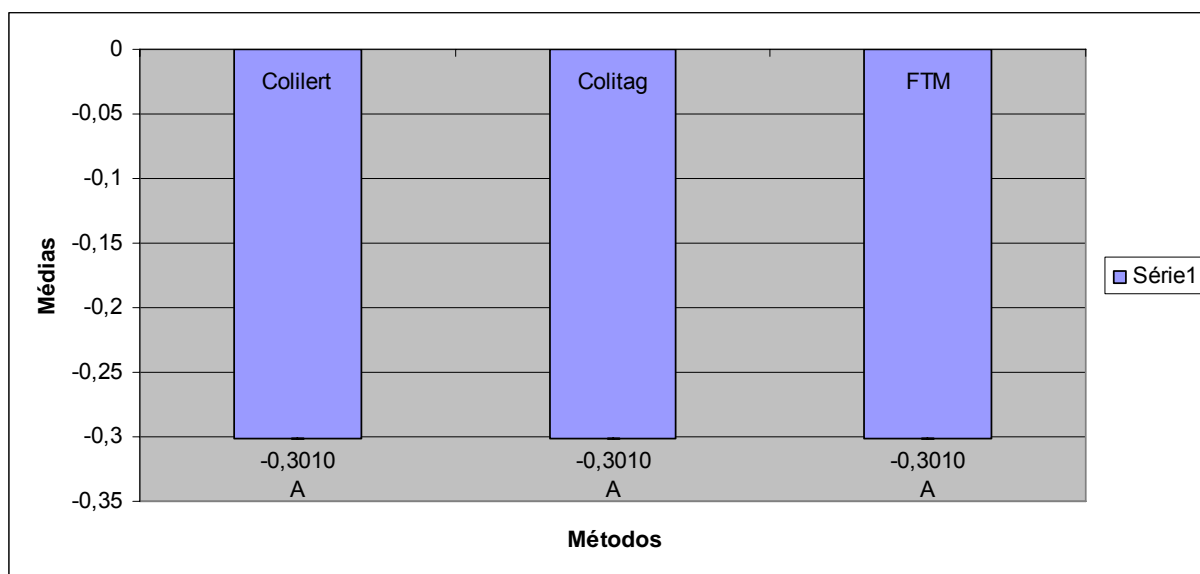


Figura 25 - Médias das contagens para *E. coli* em amostras de água de abastecimento
Médias encontradas a partir da transformação logarítmica dos dados.
Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

Para as amostras de água da bica as médias obtidas a partir dos dados transformados foram de 2,8148 para o Colilert, 2,7783 para o Colitag e 2,8240 para o FTM. A análise estatística destes dados não mostrou uma diferença significativa entre

os métodos ao nível de 5% de significância (Tabela 10 e Figura 26), o que indica que eles são equivalentes.

Tabela 10 - Médias das contagens para *E. coli* em amostras de água da bica

Método	Média (NMP/100mL de água)
Colilert	2,8148 (\pm 0,3901) a
Colitag	2,7783 (\pm 0,3282) a
FTM	2,8240 (\pm 0,6341)a

Notas: Médias encontradas a partir da transformação logarítmica dos dados.

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

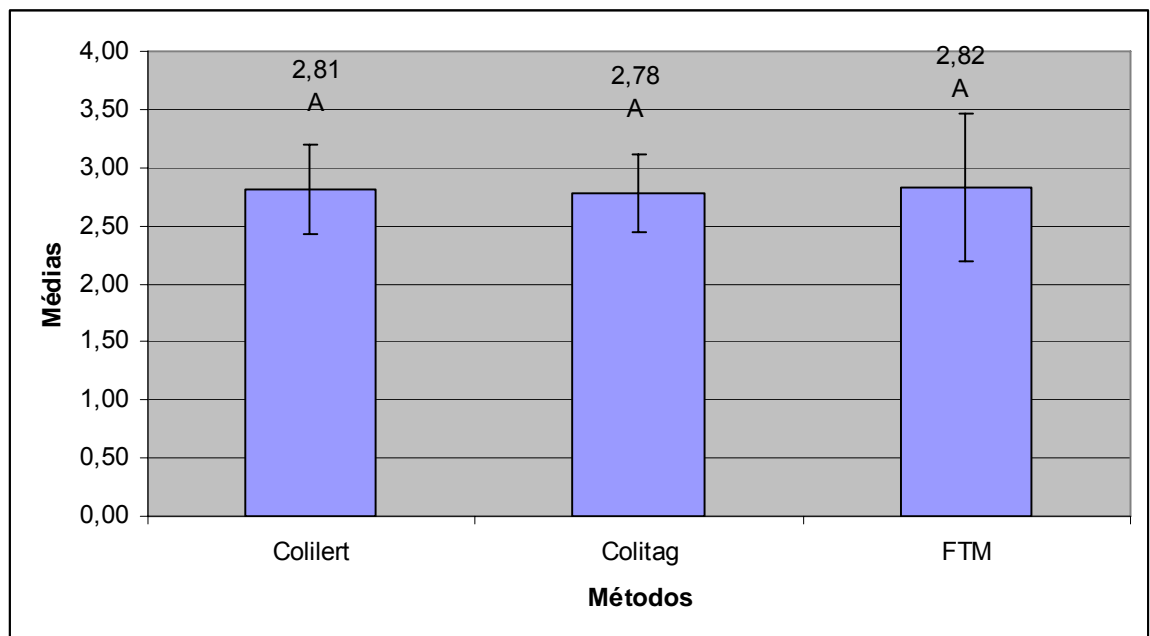


Figura 26 - Médias das contagens para *E. coli* em amostras de água da bica

Médias encontradas a partir da transformação logarítmica dos dados.

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

Nos dados encontrados para *E. coli* em amostras de água da bica pode-se observar que o método Colitag foi o que apresentou a menor média, o que indica provavelmente que ele foi o que recuperou menos células injuriadas desta bactéria. Já o método FTM foi o que teve a maior capacidade de recuperar estas células. Apesar

desta diferença na recuperação das células microbianas, não foi observada diferença significativa entre estes métodos ao nível de 5% de significância (Figura 26).

Na análise estatística das contagens de *E. coli* da água do rio após a transformação logarítmica, foram encontradas as seguintes médias para cada método: Colilert, 3,7875; Colitag, 3,8716; e FTM, 3,7786. Pelo teste de Tukey, não houve diferença significativa entre estas médias ao nível de 5% de significância (Tabela 11 e Figura 27).

Tabela 11 - Médias das contagens para *E. coli* em amostras de água do rio

Método	Média (NMP/100mL de água)
Colilert	3,7875 (\pm 0,5101) a
Colitag	3,8716 (\pm 0,5245) a
FTM	3,7786 (\pm 0,5218) a

Notas: Médias encontradas a partir da transformação logarítmica dos dados.

Médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

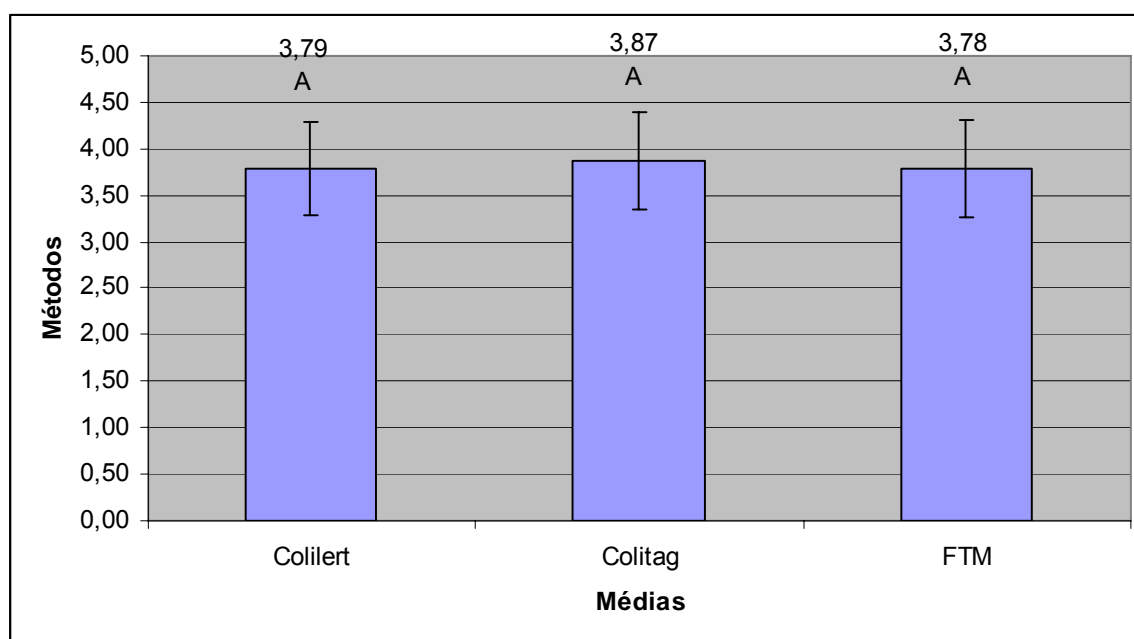


Figura 27 - Médias das contagens para *E. coli* em amostras de água do rio

Médias encontradas a partir da transformação logarítmica dos dados.

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

Dentre os métodos utilizados, o Colitag foi o que apresentou uma contagem maior de *E. coli* em amostras de água do rio, o que significa que provavelmente ele foi capaz de recuperar mais células injuriadas desta bactéria. O método FTM, ao contrário do observado nas amostras de água da bica, foi o que apresentou uma menor contagem e conseqüentemente uma menor recuperação das células injuriadas, ficando o método Colilert com contagens intermediárias. Apesar disto, não foi observada diferença significativa entre os 3 métodos ao nível de 5% de significância.

2.4.1.3 Discussão dos resultados da comparação das metodologias

Cantusio Neto (2001) avaliou as condições higiênico-sanitárias de água tratada, entre 1997 a 1998. Foram analisadas 549 amostras de água pelos métodos Colilert e fermentação em tubos múltiplos. Tanto na quantificação quanto na qualificação de coliformes totais e *E. coli* esses métodos se mostraram equivalentes, destacando a rapidez do método Colilert.

Olson et al. (1991) compararam os métodos Colilert e Coliquick com o método padrão de membrana filtrante. Foram analisadas 750 amostras de água de origens diferentes (abastecimento, reservatórios de armazenamento cobertos e descobertos, poços e afluentes para estação de tratamento de água). A concordância entre o Colilert e a membrana filtrante e entre o Coliquick e a membrana filtrante foi maior que 94,8%, o que indica que estes métodos são aceitáveis. Por se mostrarem semelhantes, tanto o Colilert quanto o Coliquick podem ser usados como alternativa ao método padrão.

Consoli et al. (2006) realizaram um estudo onde 56 amostras de água oriundas de diversas etapas da ETA foram analisadas pelas técnicas da membrana filtrante associada ao meio de cultura Petrifilm – EC e Colilert Quanti-Tray (IDEXX) para a detecção de coliformes totais e termotolerantes. Esses métodos apresentaram boa concordância (94,6%), sendo que todos os casos de discordância envolveram problemas na detecção de *E. coli* no Petrifilm.

Em outro estudo realizado comparando dois métodos para detecção de coliformes e *E. coli*, o Colilert e a técnica da membrana filtrante, foram analisadas 125 amostras de água doce de 24 pontos (rio, nascente e subterrânea). Em algumas amostras o Colilert detectou uma contagem maior de coliformes totais e de *E. coli* que a

membrana filtrante, o que sugere que o Colilert promove uma recuperação melhor das células microbianas. Apesar disto os métodos foram considerados equivalentes, o que mostra que o método Colilert pode ser usado como substituto do método da membrana filtrante, com a vantagem de ser mais rápido (CHAO; CHAO; CHAO, 2003).

Outro estudo realizado comparando as metodologias membrana filtrante e Colilert concluiu que o método rápido pode ser considerado equivalente ao método convencional. Foram analisadas 1695 amostras de água oriundas de diferentes fontes. Em algumas amostras o Colilert mostrou resultados falso-positivos devido à alta contagem de *Aeromonas* encontrada nestas amostras. A *Aeromonas* é capaz de crescer no meio e provocar reações que indicam a positividade deste método (COWBURN et al., 1994).

Outro estudo realizado por Eckner (1998) analisou 338 amostras de água, sendo 261 amostras de água potável e 77 amostras de água para recreação pelos métodos da membrana filtrante, fermentação em tubos múltiplos e Colilert. Concluiu-se que o método rápido Colilert foi mais sensível à detecção de coliformes totais que os métodos padrões membrana filtrante e fermentação em tubos múltiplos e em relação à detecção de *E. coli*, estes três métodos apresentaram sensibilidades iguais. Apesar disto, os métodos foram considerados equivalentes, destacando as vantagens do Colilert, tais como a rapidez e a não necessidade de realizar testes presuntivos.

Hsieh (2008) comparou a técnica Colitag com a da fermentação em tubos múltiplos. O método Colitag foi tão sensível quanto à técnica da fermentação em tubos múltiplos na detecção de coliformes fecais em água de recreação. As análises estatísticas mostraram uma forte correlação entres esses métodos (0,87), tanto em contagens altas como em contagens baixas de coliformes fecais. Como o método Colitag demora apenas 24 horas, quando comparado com a técnica da fermentação em tubos múltiplos, que demora 96 horas, o primeiro se torna mais vantajoso.

Gregghi (2005) analisou três diferentes métodos de detecção de coliformes e *E. coli*: técnica da fermentação em tubos múltiplos (FTM) e os métodos rápidos Colilert e Readcult, em amostras de água subterrânea, de superfície e tratada. O autor observou que as técnicas de substratos definidos apresentaram alta sensibilidade e especificidade para coliformes totais, o que indica uma boa concordância com a técnica

FTM. Para a determinação de coliformes termotolerantes a especificidade foi máxima (100%) em ambos os métodos rápidos, e a sensibilidade foi maior para o Readcult (87%) que para o Colilert (>76%). Para esta análise a concordância com o método FTM foi ótima para o Readcult (coeficiente kappa 0,85) e boa para o Colilert (0,74). A maior detecção de coliformes totais e *E. coli* pelos métodos rápidos se deve ao fato de os primeiros apresentarem uma maior capacidade de recuperação e crescimento das células de coliformes que a técnica de fermentação em tubos múltiplos, e uma maior especificidade desses meios para *E. coli*. Apesar dessas diferenças, estatisticamente estes métodos apresentaram uma boa concordância.

Chang; Hsieh (2002) analisaram 22 amostras oriundas de riachos urbanos na Califórnia pelos métodos Colitag e pelo método convencional. O Colitag se mostrou tão sensível quanto o método padrão e as análises estatísticas mostraram uma boa correlação (0,87) entre estes métodos tanto em altas como em baixas contagens de coliformes.

Olstadt et al. (2007) compararam dez métodos que usam as enzimas presentes nos coliformes totais e na *E. coli* como forma de detectá-los em amostras de água. Todos os métodos são aprovados pela USEPA, e são eles: Colilert, Colilert-18, Colisure, m-Coli Blue 24, Readyult Coliforms 100, Chromocult, Coliscan, E*Colite, Colitag e MI Ágar. Foi analisada a capacidade de cada método em detectar a presença e ausência de coliformes totais e *E. coli*, de enumerar estes microrganismos (quando o método era capaz) e de inibir *Aeromonas*, que podem levar a resultados falso-positivos. Foi observada uma grande variedade dos resultados e uma diferença significativa entre eles, indicando a necessidade de se realizar novos estudos neste sentido.

Fricker; Illingworth; Fricker (1997) analisaram amostras de água contaminadas com culturas puras de *E. coli* pelos métodos da membrana filtrante e Colilert. Apesar de o Colilert ser capaz de detectar um número maior de *E. coli*, estatisticamente não foram encontradas diferenças significativas entre estes métodos. Neste mesmo trabalho foi feita a comparação entre estes dois métodos na análise de coliformes e de *E. coli* em amostras de água potável. Foi encontrado um número maior de coliformes pelo Colilert que pela membrana filtrante, possivelmente devido ao fato de a maioria das amostras

conterem bactérias do grupo coliforme que não possui a enzima lactose permease. Apesar disso, não foi encontrada diferença significativa entre estes métodos.

Este mesmo trabalho comparou os métodos Colilert 24 e Colilert 18 (que fornece resultado em 18 horas). Foram analisadas amostras de água tratada, após a filtração e antes da cloração. Não foram encontradas diferenças significativas entre os métodos (FRICKER; ILLINGWORTH; FRICKER, 1997).

Edberg et al. (1990) comparam os métodos Colilert e fermentação em tubos múltiplos para as contagens de coliformes totais e *E. coli* em amostras de água de superfície. O método Colilert apresentou sensibilidade semelhante ao da fermentação em tubos múltiplos, e estes métodos foram considerados equivalentes.

Os resultados encontrados neste trabalho para as análises de coliformes totais em amostras de água de abastecimento e bica, e para as análises de *E. coli* em todos os pontos analisados (abastecimento, bica e rio) não apresentaram diferença significativa entre os métodos, concordando com o encontrado na literatura.

Já os resultados das análises de coliformes totais em amostras de água do rio apresentaram diferença significativa entre FTM e Colilert e entre FTM e Colitag. Esta diferença pode ter ocorrido devido à presença de microrganismos não coliformes que geram resultados falso-positivos nos métodos Colilert e Colitag, como a *Aeromonas*, nas amostras de água do rio. A presença de resultados falso-positivos pelos métodos rápidos foi destacada por Cowburn et al. (1994) e Olstadt et al. (2007).

A *Aeromonas* pode apresentar uma pequena produção da enzima β -galactosidase. Assim, em amostras de água com alta contagem deste microrganismo, quando analisada pelos métodos que utilizam esta enzima como indicadora da presença de coliformes totais, pode haver resultados falso-positivos (OLSTADT et al., 2007). Ou seja, a *Aeromonas* pode reagir com o substrato ONPG, tornando o meio amarelo, o que é considerado positivo para coliformes totais, e na verdade não haver bactérias coliformes na amostra.

Estes meios apresentam mecanismos para inibir a *Aeromonas*, mas em alguns casos esta inibição é insuficiente (OLSTADT et al., 2007).

Uma outra explicação para esta diferença significativa pode ser pela capacidade dos métodos Colilert e Colitag em recuperar células bacterianas injuriadas e permitir

seu crescimento. Desta forma, pode ser que nas amostras analisadas havia uma grande quantidade de células bacterianas injuriadas, que não foram recuperadas pelo método FTM, não sendo assim detectadas por este método, mas foram recuperadas e detectadas pelos outros métodos utilizados.

De acordo com Fricker et al. (1994) cerca de 10% dos coliformes isolados de fontes de água potável nas áreas do Thames não eram capazes de fermentar a lactose, possivelmente devido à ausência da enzima lactose permease. Segundo Fricker; Illingworth; Fricker (1997) a incapacidade destes microrganismos em fermentar a lactose os excluem do grupo coliforme.

Estudos mostraram que o Colilert é capaz de recuperar e detectar um número maior de bactérias do grupo coliforme total que os métodos convencionais, enquanto que para a recuperação e detecção de *E. coli*, a capacidade dos métodos é similar (ECKNER, 1998; FRICKER; ILLINGWORTH; FRICKER, 1997).

Na presente pesquisa, em amostras de água do rio o método FTM apresentou uma contagem menor de coliformes totais que os métodos rápidos Colilert e Colitag, concordando com o encontrado na literatura. Para contagem de *E. coli*, em amostras de água da bica, o método FTM apresentou uma contagem maior que os métodos rápidos, enquanto que em amostras de água do rio as contagens desta bactéria foram menores que nos outros métodos estudados, concordando com a literatura.

A maior capacidade de detecção de bactérias do grupo coliforme e de *E. coli* pelos métodos rápidos foi destacada em diversos trabalhos (CHAO; CHAO; CHAO, 2003; ECKNER, 1998; FRICKER; ILLINGWORTH; FRICKER, 1997; GREGHI 2005).

Neste estudo, apenas a média da contagem de *E. coli* em amostras de água da bica foi maior para o método FTM que para o Colilert e Colitag. As contagens de coliformes totais em amostras de água da bica e do rio e as contagens de *E. coli* em amostras de água do rio foram maiores em pelo menos um dos métodos rápidos analisados do que para o método FTM.

Como ora um método mostra contagens de coliformes totais e/ou *E. coli* maiores e ora menores, algumas hipóteses podem ser levantadas para justificar tal fato:

1. Devido à pobreza nutritiva da água, que normalmente não permite multiplicação bacteriana e sim apenas sobrevivência, há uma heterogeneidade muito grande

na distribuição das bactérias na amostra, o que leva a grandes diferenças contidas nas pipetagens de alíquotas para a análise;

2. Dependendo do estado fisiológico das células bacterianas e de que tipo(s) de stress/injúrias as mesmas foram submetidas, pode ser que alguns dos meios/métodos ofereçam naquele momento, melhores condições para a recuperação das injúrias metabólicas e produção das enzimas necessárias ao metabolismo responsável por um resultado positivo: β -galactosidase para coliformes totais no Colilert e no Colitag; β -glucoronidase para *E. coli* no Colilert, no Colitag e no FTM, e lactose permease para coliformes totais e termotolerantes no FTM.

2.4.2 Comparação entre coliformes termotolerantes e *E. coli* pelo método de fermentação em tubos múltiplos (FTM)

A Tabela 12 ilustra os resultados obtidos nas contagens de coliformes termotolerantes e de *E. coli* em amostras de água de abastecimento, mostrando que nenhuma das amostras analisadas se mostrou contaminada por estas bactérias.

Tabela 12 - Resultados das análises de coliformes termotolerantes e *E. coli* pelo método FTM em amostras de água de abastecimento (NMP/100mL)

DATA	AMOSTRAS	<i>E. coli</i>	COLIFORMES TERMOTOLERANTES
13/04/09	1	<1,1	<1,1
	2	<1,1	<1,1
	3	<1,1	<1,1
	4	<1,1	<1,1
	5	<1,1	<1,1
	6	<1,1	<1,1
	7	<1,1	<1,1
	8	<1,1	<1,1
	9	<1,1	<1,1
	10	<1,1	<1,1
27/04/09	1	<1,1	<1,1
	2	<1,1	<1,1
	3	<1,1	<1,1
	4	<1,1	<1,1
	5	<1,1	<1,1
	6	<1,1	<1,1
	7	<1,1	<1,1
	8	<1,1	<1,1
	9	<1,1	<1,1
	10	<1,1	<1,1
04/05/09	1	<1,1	<1,1
	2	<1,1	<1,1
	3	<1,1	<1,1
	4	<1,1	<1,1
	5	<1,1	<1,1
	6	<1,1	<1,1
	7	<1,1	<1,1
	8	<1,1	<1,1
	9	<1,1	<1,1
	10	<1,1	<1,1

A Tabela 13 exibe as contagens de coliformes termotolerantes e *E. coli* em amostras de água da bica.

Tabela 13 - Resultados das análises de coliformes termotolerantes e *E. coli* pelo método FTM em amostras de água da bica (NMP/100mL)

DATA	AMOSTRAS	<i>E. coli</i>	COLIFORMES TERMOTOLERANTES
16/02/09	1	$9,4 \times 10^2$	$2,0 \times 10^3$
	2	$4,6 \times 10^3$	$7,0 \times 10^3$
	3	$7,9 \times 10^3$	$7,9 \times 10^3$
	4	$7,9 \times 10^2$	$1,3 \times 10^3$
	5	$7,0 \times 10^3$	$1,1 \times 10^4$
	6	$1,4 \times 10^3$	$1,7 \times 10^3$
	7	$3,1 \times 10^3$	$3,1 \times 10^3$
	8	$7,9 \times 10^2$	$7,9 \times 10^2$
	9	$2,3 \times 10^3$	$2,3 \times 10^3$
	10	$3,3 \times 10^3$	$4,9 \times 10^3$
	MÉDIAS	$3,2 \times 10^3$	$4,2 \times 10^3$
09/03/09	1	$9,3 \times 10$	$2,2 \times 10^2$
	2	$6,8 \times 10^2$	$1,1 \times 10^3$
	3	$9,3 \times 10$	$9,3 \times 10$
	4	$3,3 \times 10^2$	$3,3 \times 10^2$
	5	$4,5 \times 10$	$7,8 \times 10$
	6	$2,7 \times 10^2$	$2,7 \times 10^2$
	7	$1,1 \times 10^2$	$1,1 \times 10^2$
	8	$7,8 \times 10$	$7,8 \times 10$
	9	$6,8 \times 10$	$4,5 \times 10$
	10	$1,3 \times 10^2$	$1,7 \times 10^2$
	MÉDIAS	$1,9 \times 10^2$	$2,5 \times 10^2$
23/03/09	1	$7,0 \times 10^3$	$7,0 \times 10^3$
	2	$4,9 \times 10^2$	$1,3 \times 10^3$
	3	$1,1 \times 10^3$	$1,1 \times 10^3$
	4	$1,3 \times 10^3$	$1,7 \times 10^3$
	5	$6,8 \times 10^2$	$1,1 \times 10^3$
	6	$1,4 \times 10^3$	$1,7 \times 10^3$
	7	$6,8 \times 10^2$	$6,8 \times 10^2$
	8	$7,9 \times 10^2$	$7,9 \times 10^2$
	9	$3,3 \times 10^2$	$3,3 \times 10^2$
	10	$6,8 \times 10^2$	$6,8 \times 10^2$
	MÉDIAS	$1,5 \times 10^3$	$1,6 \times 10^3$

Aqui também houve muita variação nas contagens obtidas, tanto nas realizadas nos três diferentes dias de coleta, bem como nas repetições analíticas do mesmo dia de amostragem.

Em relação à estimativa do NMP de coliformes termotolerantes/100mL de água, nas amostras coletadas no dia 16/02/09, as contagens variaram de $7,9 \times 10^2$ a $1,1 \times 10^4$ com média de $4,2 \times 10^3$. Para as amostras coletadas no dia 09/03, as contagens variaram de $4,5 \times 10$ a $1,1 \times 10^3$, com média de $2,5 \times 10^2$. Já para as amostras coletadas no dia 23/03, as contagens variaram de $3,3 \times 10^2$ a $7,0 \times 10^3$ com média de $1,6 \times 10^3$. Como média geral referente as 30 amostras analisadas, obteve-se $2,0 \times 10^3$ NMP de coliformes termotolerantes/100mL de água da bica.

Para as contagens de *E. coli*, o NMP/100mL variou de $7,9 \times 10^2$ a $7,9 \times 10^3$, com média de $3,2 \times 10^3$, para as amostras coletadas no dia 16/02/09. Para as amostras coletadas em 09/03, as contagens variaram de $4,5 \times 10$ a $6,8 \times 10^2$, com média de $1,9 \times 10^2$. Para as amostras do dia 23/03, houve variação de $3,3 \times 10^2$ a $7,0 \times 10^3$, com média de $1,5 \times 10^3$. Como média geral referente as 30 amostras analisadas, encontrou-se $1,6 \times 10^3$ NMP de *E. coli*/100mL de água da bica.

A Tabela 14 mostra as contagens de coliformes termotolerantes e *E. coli* em amostras de água do rio.

Tabela 14 - Resultados das análises de coliformes termotolerantes e *E. coli* pelo método FTM em amostras de água do rio (NMP/100mL)

DATA	AMOSTRAS	<i>E. coli</i>	COLIFORMES TERMOTOLERANTES
18/05/2009	1	$1,7 \times 10^4$	$2,6 \times 10^4$
	2	$1,7 \times 10^4$	$3,3 \times 10^4$
	3	$4,9 \times 10^4$	$4,9 \times 10^4$
	4	$4,6 \times 10^4$	$4,6 \times 10^4$
	5	$1,7 \times 10^4$	$1,7 \times 10^4$
	6	$2,2 \times 10^4$	$3,3 \times 10^4$
	7	$2,2 \times 10^4$	$2,2 \times 10^4$
	8	$2,2 \times 10^4$	$2,2 \times 10^4$
	9	$4,9 \times 10^4$	$4,9 \times 10^4$
	10	$6,8 \times 10^3$	$1,7 \times 10^4$
	MÉDIAS	$2,7 \times 10^4$	$3,1 \times 10^4$
02/06/2009	1	$2,3 \times 10^3$	$2,3 \times 10^3$
	2	$6,8 \times 10^3$	$6,8 \times 10^3$
	3	$1,7 \times 10^3$	$1,7 \times 10^3$
	4	$1,4 \times 10^3$	$1,1 \times 10^4$
	5	$6,8 \times 10^3$	$6,8 \times 10^3$
	6	$4,9 \times 10^3$	$7,9 \times 10^3$
	7	$9,3 \times 10^2$	$1,2 \times 10^3$
	8	$9,3 \times 10^2$	$9,3 \times 10^2$
	9	$2,3 \times 10^3$	$3,3 \times 10^3$
	10	$4,9 \times 10^3$	$7,9 \times 10^3$
	MÉDIAS	$3,3 \times 10^3$	$5,0 \times 10^3$
15/06/2009	1	$6,8 \times 10^3$	$1,4 \times 10^4$
	2	$4,9 \times 10^3$	$7,9 \times 10^3$
	3	$4,9 \times 10^3$	$4,9 \times 10^4$
	4	$1,1 \times 10^4$	$2,1 \times 10^4$
	5	$1,7 \times 10^3$	$2,6 \times 10^4$
	6	$3,3 \times 10^3$	$4,6 \times 10^4$
	7	$3,1 \times 10^3$	$3,1 \times 10^3$
	8	$6,8 \times 10^2$	$1,2 \times 10^3$
	9	$3,3 \times 10^3$	$2,4 \times 10^4$
	10	$6,8 \times 10^3$	$3,3 \times 10^4$
	MÉDIAS	$4,7 \times 10^3$	$2,3 \times 10^4$

Mais uma vez nota-se grande variação nas contagens obtidas, tanto nas análises realizadas em dias diferentes da coleta, bem como nas 10 amostras do mesmo dia de coleta.

Para as amostras coletadas no dia 18/05/09, a estimativa do NMP de coliformes termotolerantes/100mL de água, variou de $1,7 \times 10^4$ a $4,9 \times 10^4$ com média de $3,1 \times 10^4$. Para as amostras coletadas no dia 02/06, as contagens variaram de $9,3 \times 10^2$ a $1,1 \times 10^4$, com média de $5,0 \times 10^3$. Em relação às amostras coletadas no dia 15/06, houve variação de $1,2 \times 10^3$ a $4,9 \times 10^4$, com média de $2,3 \times 10^4$.

Como média geral para as 30 amostras analisadas, obteve-se $2,0 \times 10^4$ NMP de coliformes termotolerantes/100mL de água do rio.

Para as contagens de *E. coli*, o NMP/100mL variou de $6,8 \times 10^3$ a $4,9 \times 10^4$ para as amostras coletadas em 18/05, com média de $2,7 \times 10^4$. Para as amostras coletadas no dia 02/06, as contagens variaram de $9,3 \times 10^2$ a $6,8 \times 10^3$, com média de $3,3 \times 10^3$. Em relação às amostras coletadas no dia 15/06, houve variação de $6,8 \times 10^2$ a $1,1 \times 10^4$, com média de $4,7 \times 10^4$.

Como média geral para as 30 amostras analisadas, encontrou-se $1,2 \times 10^4$ NMP de *E. coli*/100mL de água do rio.

A Tabela 15 e a Figura 28 mostram as médias das contagens encontradas para coliformes termotolerantes e *E. coli* nos três pontos de coleta de amostras de água utilizados na presente pesquisa.

Tabela 15 - Médias encontradas para as análises de coliformes termotolerantes e *E. coli*

Ponto	Coliformes termotolerantes (NMP/100mL de água)	<i>E. coli</i> (NMP/100mL de água)
Abastecimento	<1,1 ($\pm 0,0$) Ab	<1,1 ($\pm 0,0$) Ab
Bica	$2,0 \times 10^3$ ($\pm 2,7 \times 10^3$) Bb	$1,6 \times 10^3$ ($\pm 2,2 \times 10^3$) Ab
Rio	$1,9 \times 10^4$ ($\pm 1,6 \times 10^4$) Ba	$1,1 \times 10^4$ ($\pm 1,4 \times 10^4$) Aa

Notas: Médias e comparações obtidas a partir dos dados originais.

Médias seguidas de mesma letra minúscula na vertical e médias seguidas da mesma letra maiúscula na horizontal não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

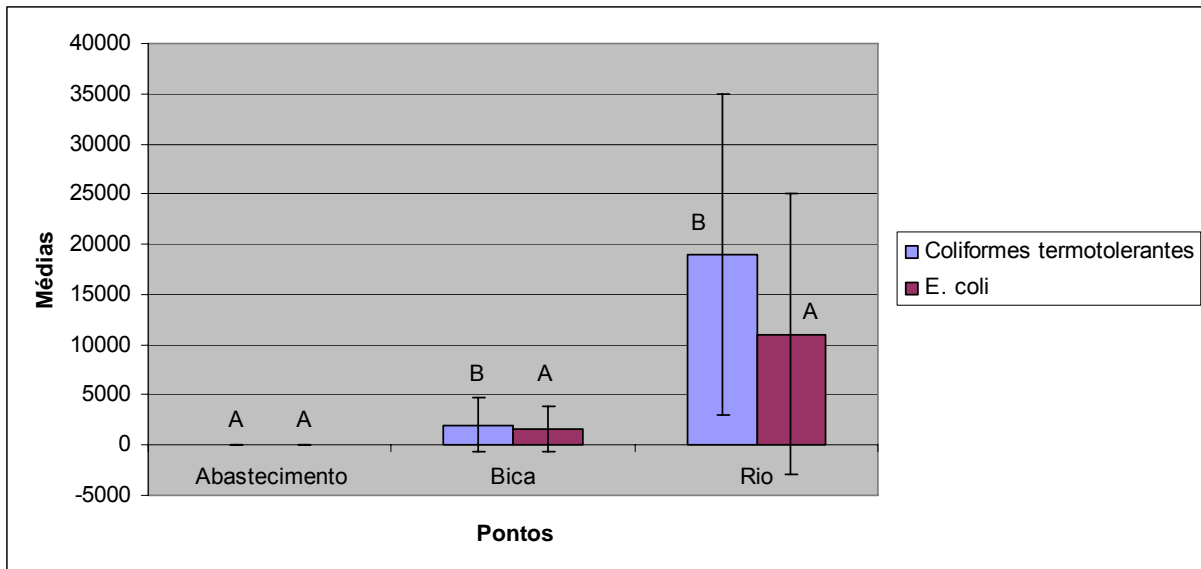


Figura 28 - Médias encontradas para as análises de coliformes termotolerantes e *E. coli*. Médias e comparações obtidas a partir dos dados originais. Médias seguidas de mesma letra no mesmo ponto não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

Foi encontrada diferença significativa ao nível de 5% de significância entre as contagens de coliformes termotolerantes e de *E. coli* tanto para as amostras de água da bica, como para as amostras de água do rio.

Para as amostras de água de abastecimento analisadas, como não houve detecção nem de coliformes termotolerantes e nem de *E. coli* em nenhuma das amostras, obviamente não houve diferença significativa ao nível de 5% de significância.

Devido ao fato de altas contaminações por coliformes termotolerantes e por *E. coli* terem sido encontradas nas amostras de água de rio, houve diferença significativa ao nível de 5% de significância entre as contagens destas bactérias quando comparadas com as amostras de água de abastecimento, que não apresentaram nem coliformes termotolerantes nem *E. coli*. Já comparando as amostras de água de bica com as de abastecimento público, não houve diferença significativa ao nível de 5% de significância pelo fato das contagens de coliformes termotolerantes e de *E. coli* em água de bica terem sido menores do que as encontradas na água de rio (Tabela 15).

Porém, de acordo com a Portaria n° 518 de 25 de março de 2004 do Ministério da Saúde (BRASIL, 2004), a água destinada ao consumo humano deve apresentar ausência de coliformes termotolerantes ou *E. coli* em 100mL de água. Assim, a água

oriunda da bica não é considerada potável, e desta forma não deve ser destinada para o consumo humano, enquanto que a água de abastecimento pode ser considerada potável e destinada ao consumo humano, apesar de não terem apresentado diferença significativa.

A Tabela 16 e a Figura 29 exibem as médias das contagens de coliformes termotolerantes e *E. coli* em amostras de água da bica.

Tabela 16 - Médias encontradas nas análises da água da bica

Microrganismo	Média (NMP/100mL)
Coliformes termotolerantes (NMP/100mL de água)	$2,0 \times 10^3 (\pm 2,7 \times 10^3)$ a
<i>E. coli</i> (NMP/100mL de água)	$1,6 \times 10^3 (\pm 2,2 \times 10^3)$ b

Notas: Médias e comparações obtidas a partir dos dados originais.

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

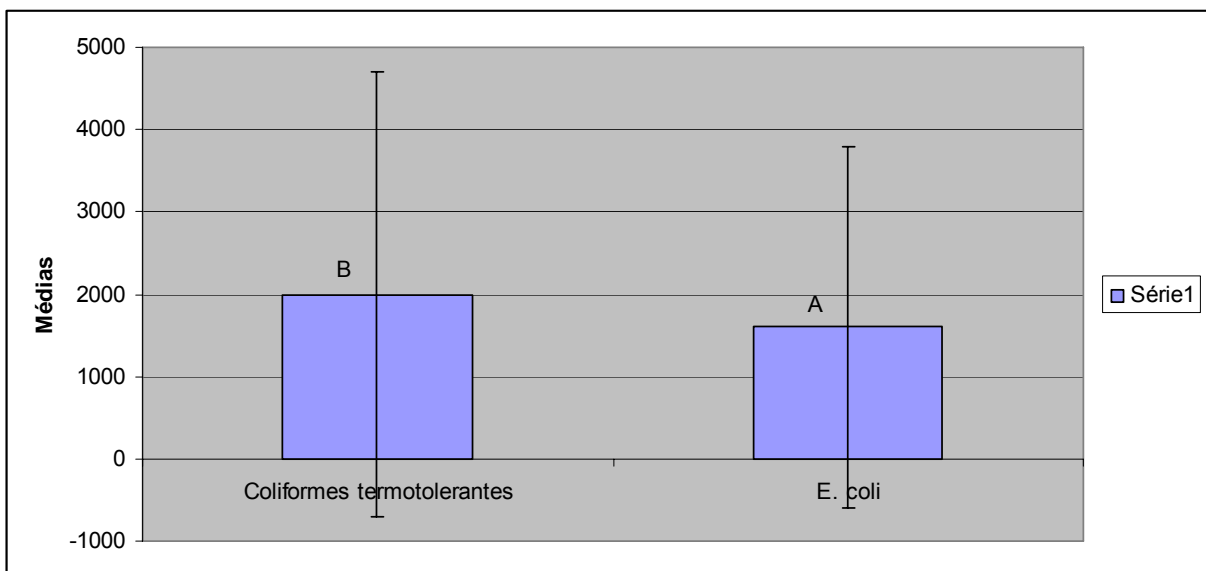


Figura 29 - Médias encontradas nas análises da água da bica

Médias e comparações obtidas a partir dos dados originais.

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

Nas análises feitas com a água oriunda da bica foi encontrada diferença significativa ao nível de 5% de significância entre as contagens de coliformes termotolerantes e de *E. coli* (valor $p = 0,0145$). As contagens encontradas para coliformes termotolerantes nestas amostras variaram de $4,5 \times 10$ NMP/100mL de água em uma amostra, a $1,1 \times 10^4$ NMP/100mL de água também em uma amostra. Em relação às contagens encontradas para *E. coli*, a menor foi de $4,5 \times 10$ NMP/100mL de água em uma amostra e a maior foi de $7,9 \times 10^3$ NMP/100mL de água em uma amostra.

A Tabela 17 e a Figura 30 mostram as médias das contagens de coliformes termotolerantes e *E. coli* em amostras de água do rio.

Tabela 17 - Médias encontradas nas análises da água do rio

Microrganismo	Média (NMP/100mL)
Coliformes termotolerantes (NMP/100mL de água)	$1,9 \times 10^4 (\pm 1,6 \times 10^4)$ a
<i>E. coli</i> (NMP/100mL de água)	$1,1 \times 10^4 (\pm 1,4 \times 10^4)$ b

Notas: Médias e comparação obtidas a partir dos dados originais
Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

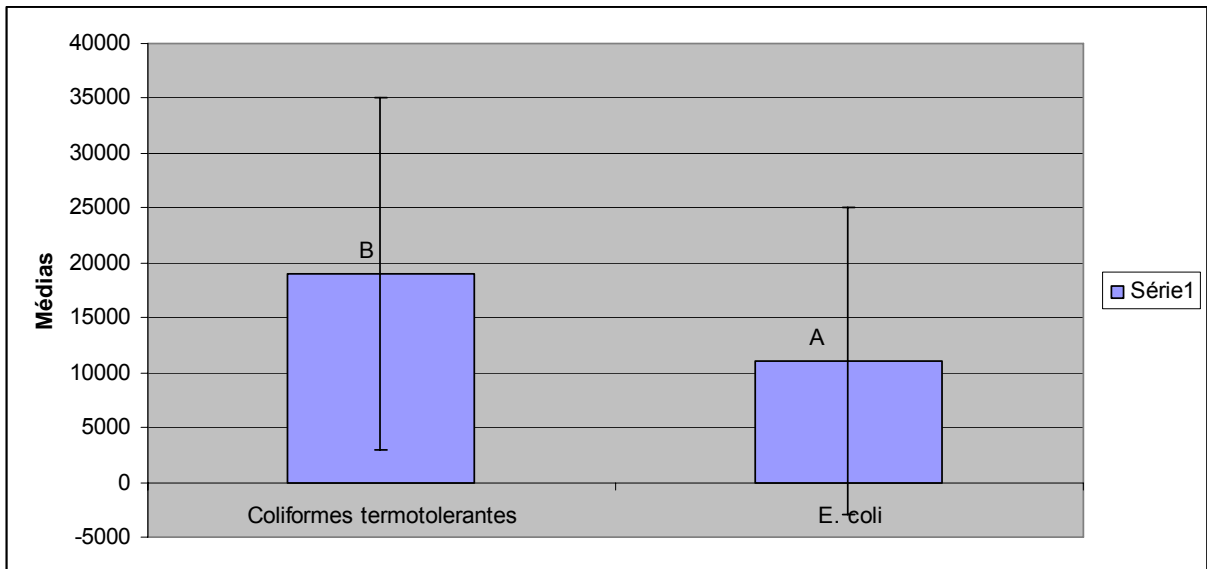


Figura 30 - Médias encontradas nas análises da água do rio
Médias e comparações obtidas a partir dos dados originais.
Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

Em relação à água do rio, também foi encontrada diferença significativa ao nível de 5% de significância entre os valores das contagens de coliformes termotolerantes e de *E. coli* (valor $p = 0,0012$). Para coliformes termotolerantes a menor contagem encontrada foi $9,3 \times 10^2$ NMP/100mL de água em uma amostra, e a maior de $4,9 \times 10^4$ NMP/100mL de água em três amostras. Para *E. coli*, a menor contagem encontrada foi $6,8 \times 10^2$ NMP/100mL de água em uma amostra, e a maior foi $4,9 \times 10^4$ NMP/100mL de água em duas amostras.

Bonilha; Falcão (1993) estudaram amostras de água de irrigação, alface não lavada e alface lavada quanto a contaminação por coliformes totais, termotolerantes e *E. coli*. As médias encontradas para a contaminação de coliformes termotolerantes da água e das alfaces analisadas foram maiores que as encontradas para *E. coli*.

Feresu; Van Stckle (1990) analisaram amostras de água do rio quanto à contaminação com coliformes totais, termotolerantes e *E. coli*. Na maioria dos casos a contagem encontrada de *E. coli* foi igual à contagem de coliformes termotolerantes, porém foram encontradas contagens de coliformes termotolerantes maiores que de *E. coli*.

Assim como os autores citados, neste trabalho também foi encontrada uma diferença entre as contagens de coliformes termotolerantes e *E. coli*. Esta diferença foi significativa pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância e se deve ao fato de o grupo coliforme termotolerante ser formado por bactérias do gênero *Escherichia*, *Enterobacter* e *Klebsiella*. Apesar de a bactéria predominante em material fecal ser a *E. coli*, os resultados encontrados indicam que outras bactérias pertencentes ao grupo coliformes termotolerantes estavam presentes nas amostras, o que elevou a contagem de bactérias deste grupo, resultando em uma diferença significativa entre estas contagens.

Como os gêneros *Enterobacter* e *Klebsiella* possuem bactérias de origem não necessariamente fecal, a contagem de coliformes termotolerantes é menos representativa que a contagem de *E. coli* como indicador de contaminação fecal.

3 CONCLUSÃO

Os métodos rápidos avaliados (Colilert e Colitag) se mostraram equivalentes ao método convencional (fermentação em tubos múltiplos) nas contagens de coliformes totais em amostras de água de abastecimento e de água de bica, e nas contagens de *E. coli* nas amostras de todos os pontos analisados (abastecimento, bica e rio).

Na análise de coliformes totais em amostras de água do rio o método convencional FTM diferiu significativamente dos métodos rápidos Colilert e Colitag. Na comparação entre os métodos rápidos para esta mesma análise não foi observada diferença significativa entre eles.

Por terem sido equivalentes ao método convencional em amostras de água de abastecimento e de bica para as contagens de coliformes totais e equivalentes ao método convencional para a contagem de *E. coli* em todos os pontos utilizados (abastecimento, bica e rio), os métodos rápidos Colilert e Colitag são recomendados para a análise da qualidade bacteriológica da água, pois com estes é possível obter o resultado em 24 horas. Além disso, as análises utilizando o Colilert e o Colitag são menos trabalhosas e não necessitam de testes confirmatórios.

Na comparação das contagens de coliformes termotolerantes e *E. coli* em amostras de água foi encontrada diferença significativa, o que indica que uma contagem não é equivalente a outra.

Pelo fato de nem todos os microrganismos encontrados no grupo coliforme termotolerante serem de origem exclusivamente fecal, e por esta contagem se apresentar sempre maior que a contagem de *E. coli*, o uso da contagem de coliformes termotolerantes para indicar a contaminação fecal de uma amostra pode superestimar esta contaminação. Sendo assim, para esta análise em amostras de água a contagem de *E. coli* passa a ser mais representativa.

REFERÊNCIAS

ÁGUA no mundo. **Bio Revista Brasileira de Saneamento e Meio Ambiente**, Rio de Janeiro, v. 10, n. 11, p. 41, jul./set. 1999.

ALVES, M.G. **Bactérias na água de abastecimento da cidade de Piracicaba**. 2007. 102p. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.

ALVES, N.C.; ODORIZZI, A.C.; GOULART, F.C. Análise microbiológica de águas minerais e de água potável de abastecimento, Marília, SP. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 36, n. 6, p. 749-751, 2002.

AMARAL, L.A. do; NADER FILHO, A.; ROSSI JUNIOR, O.D. FERREIRA, F.L.A.; BARROS, L.S.S. Água de consumo humano como fator de risco à saúde em propriedades rurais. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 37, n. 4, p. 510-514, 2003.

AMERICAN WATER WORLD ASSOCIATION. **Água: tratamento e qualidade**. Rio de Janeiro: Ao Livro Técnico, 1964. 465p.

ASHBOLT, N.J. Microbial contamination of drinking water and disease outcomes in developing regions. **Toxicology**, Amsterdam, v. 198, n. 1-3, p. 229-238, May 2004.

ASHBOLT, N.J.; GRABOW, W.O.K.; SNOZZI, M. Indicators of microbial water quality. In: FEWTRELL, L.; BARTRAM, J. **Water quality: guidelines, standards and health, risk assessment and management for water-related infectious disease**. London: IWA Publishing, 2001. Chap. 13. p. 289-315.

BATISTA, D.A.G. **Avaliação da qualidade da água de nascentes (bicas) de Piracicaba (SP), quanto à presença de indicadores de contaminação fecal**. 1996. 86p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1996.

BONILHA; P.R.M.; FALCÃO; D.P. Ocorrência de enteropatógenos em alfaces e suas águas de irrigação. **Alimentos e Nutrição**, São Paulo, v. 5, p. 87-97, 1993/94.

BOX, G.E.P.; COX, D.R. An analysis of transformations. **Journal of Royal Statistical Society**, Series B, London, v. 26, p. 211-246. 1964.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Agência Nacional de Águas (ANA). **Panorama da Qualidade das águas subterrâneas no Brasil**. Brasília, 2007, 126p. Cadernos de Recursos Hídricos 5.

_____. Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA). Resolução nº20, de 18 de junho de 1986. DISPÕEM SOBRE A CLASSIFICAÇÃO DAS ÁGUAS DOCES, SALOBRAS E SALINAS DO TERRITÓRIO NACIONAL. **Diário Oficial**, Brasília, 30 jul. 1986. p. 11356-11361.

_____. Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA). Resolução nº357, de 17 de março de 2005. CLASSIFICAÇÃO DOS CORPOS DE ÁGUA E DIRETRIZES AMBIENTAIS PARA O SEU ENQUADRAMENTO, BEM COMO ESTABELECE AS CONDIÇÕES E PADRÕES DE LANÇAMENTO DE EFLUENTES, E DÁ OUTRAS PROVIDÊNCIAS. **Diário Oficial**, Brasília, 2005. 23p.

_____. Secretaria de Recursos Hídricos. **Water resources in Brazil**. Brasília, 1998. 87p.

_____. Secretaria de Recursos Hídricos. **Saneamento**. Caderno Setorial de Recursos Hídricos, Brasília, 2006. 69p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 36, de 19 de janeiro de 1990. NORMAS E PADRÃO DE POTABILIDADE DA ÁGUA DESTINADA AO CONSUMO HUMANO. **Diário Oficial**, Brasília, 23 jan. 1990. Seção 1, p. 1651-1654.

_____. Portaria nº 518 de 25 de março de 2004. NORMA DE QUALIDADE DA ÁGUA PARA CONSUMO HUMANO. **Diário Oficial**, Brasília, 2004. 14p.

BURBARELLI, R.C. **Avaliação da qualidade da água subterrânea e microbiologia do solo em área irrigada com efluente de lagoa anaeróbia**. 2004. 114p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2004.

CANTUSIO NETO, R. Comparação entre os métodos de tubos múltiplos e o substrato cromogênico enzimático (ONPG/MUG), para detecção de coliformes na água tratada. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 15, n. 90/91, p. 64-67, 2001.

CENTRO REGIONAL DE INFORMAÇÕES DAS NAÇÕES UNIDAS – UNRIC. **População mundial excederá 9 mil milhões em 2050, segundo ONU**. Disponível em: <http://www.unric.org/pt/actualidade/22723>. Acesso em: 17 mar. 2010.

CHALMERS, R.M.; AIRD, H.; BOLTON, F.J. Waterborne *Escherichia coli* O157:H7. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v. 88, p. 124-132, 2000.

CHANG, G.W.; HSIEH, J.J. Comparison of the Colitag method and the standard methods for the detection of fecal coliforms and *Escherichia coli* in urban creeks. **Water Environment Federation**, 2002. p. 309-315. (RESUMO). Disponível em: <http://www.ingentaconnect.com/content/wef/wefproc/2002/00002002/00000006/art00021>. Acesso em: 22 de nov. de 2009.

CHAO; K.K.; CHAO, C.C.; CHAO, W.L. Suitability of the traditional microbial indicators and their enumerating methods in the assessment of fecal pollution of subtropical freshwater environments. **Journal of Microbiology, Immunology and Infection**, London, v. 36, n. 4, p. 288-293, 2003.

CHAVES, L.C.D. **Estudos da cinética de formação de biofilmes em superfícies em contato com água potável**. 2004. 189p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia do Ambiente) – Universidade do Minho, Minho, 2004.

COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL – CETESB. **Guia de coleta e preservação de amostras de água**. São Paulo, 1988.

_____. **O problema da escassez da água no mundo**. 17 jun. 2001. Disponível em: http://www.cetesb.sp.gov.br/Agua/rios/gesta_escassez.asp. Acesso em: 31 de maio de 2010.

_____. **Qualidade das águas subterrâneas do estado de São Paulo**. São Paulo, 2004. 106p.

CONSOLI, M.A.F.; BRAGA, M.J. da S.; FREITAS, S.L. de; SILVA, A.C.P. da; AMORIM, P. da S.; BATALHA, A.A.; DORNELLAS, S. Estudo introdutório sobre o uso de petrifilm como meio base para a utilização de membrana filtrante na análise de água. **Revista Analytica**, São Paulo, v. 5, n. 25, p. 70-75, out./nov. 2006.

COVERT, T.C.; SHADIX, L.C.; RICE, E.W.; HAINES, J.R.; FREYBERG, R.W. Evaluation of the auto-analysis Colilert test for detection and enumeration of total coliforms. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 54, n. 10, p. 215-229, 1989.

COWBURN, J.K.; GOODALL, T.; FRICKER, E.J.; WALTER, K.S.; FRICKER, C.R. A preliminary study of the use of Colilert for water quality monitoring. **Letters in Applied Microbiology**, Oxford, v. 19, p. 50-52, 1994.

D'ÁGUILA, P.S.; ROQUE, O.C.C.; MIRANDA, C.A.S.; FERREIRA, A.P. Avaliação da qualidade da água para abastecimento público do município de Nova Iguaçu. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 16, n. 3, p. 791-798, 2000.

DAVID, P.R.B.S.; MENDES, A.C.R.; CUNHA NETO, A.; COSTA, S.M.S. Avaliação da qualidade microbiológica de águas minerais e de abastecimento de alguns pontos da cidade de Recife, PE: um relatório de experiência de alunos do mestrado em nutrição da UFPE. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 13, n. 60, p. 36-41, 1999.

DI BERNARDO, L.; DI BERNARDO DANTAS, A. Tecnologia de tratamento. In: _____. **Métodos e técnicas de tratamento de água**. 2. ed. São Carlos: RiMa, 2005. v. 1. cap. 2, p. 5-40.

ECKNER, K.F. Comparison of membrane filtration and multiple-tube fermentation by the Colilert enterolert methods for detection of waterborne coliform bacteria, *Escherichia coli* and Enterococci used in drinking water and bathing water quality monitoring in southern Sweden. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 64, n. 8, p. 3079-3083, 1998.

EDBERG, S.C.; ALLEN, M.J.; SMITH, D.B. National field evaluation of a defined substrate method for the simultaneous enumeration of total coliforms and *Escherichia coli* from drinking water: comparison with the standard multiple tube fermentation method. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 54, n. 6, p. 1595-1601, 1988.

EDBERG, S.C.; ALLEN, M.J.; SMITH, D.B.; KRIZ, N.J. Enumeration of total coliforms and *Escherichia coli* from source water by the defined substrate technology. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 56, n. 2, p. 366-369, 1990.

EDBERG, S.C., RICE, E.W.; KARLIN, R.J.; ALLEN, M.J. *Escherichia coli*: the best biological drinking water indicator for public health protection. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v. 88, (Supl), p.106-116, 2000.

EMBRAPA. **Atlas do meio ambiente do Brasil**. Brasília: Terra Viva, 1994. 138p.

FERESU, S.B.; VAN STCKLE, J. Coliform as a measure of sewage contamination of the River Zambezi. **Journal of Applied Bacteriology**, Oxford, v. 68, p. 397-403, 1990.

FRANCO, B.D.G.M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2008. 182p.

FREITAS, M.B.; BRILHANTE, O.M.; ALMEIDA, L.M. 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. **Caderno de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 17, n. 3, p. 651-660, 2001.

FRICKER, E.J.; ILLINGWORTH, K.S.; FRICKER, C.R. Use of two formulations of Colilert and Quantitray for assessment of the bacteriological quality of water. **Water Research**, New York, v. 31, n. 10, p. 2495-2499, 1997.

FRICKER, C.R.; BULLOCK, S.; MURRIN, K.; NIEMELA, S.I. Use of the ISO 9308-1 procedure for the detection of *E. coli* in water utilizing two incubation temperatures and two confirmation procedures and comparison with defined substrate technology. **Journal of Water and Health**, London, v. 6, n. 3, p. 389-397, 2008a.

FRICKER, C.R.; DeSARNO, M.; WARDEN, P.S.; ELDRED, B.J. False-negative β -glucuronidase reaction in membrane lactose glucuronide agar medium used for the simultaneous detection of coliforms and *Escherichia coli* from water. **Letters in Applied Microbiology**, Oxford, v. 47, p. 539-542, 2008b.

FRICKER, C.R.; COWBURN, J.; GOODALL, T.; WALTER, K.S.; FRICKER, E.J. Use of the Colilert system in a large U.K. water utility. In: THE 1993 WATER QUALITY TECHNOLOGY CONFERENCE. 1993, Miami. **Proceedings...** Denver: American Water Works Associations, 1994. p. 525-527.

GALLO, C.R. Toxinfecções alimentares. IN: CAMARGO, R. (Coord). **Microbiologia de alimentos II**. Piracicaba: ESALQ/Depto. de Tecnologia Rural, 1992. 64p.

GREGHI, S. de Q. **Avaliação da eficiência de métodos rápidos usados para detecção de coliformes totais e coliformes fecais em amostras de água em comparação com a técnica da fermentação em tubos múltiplos**. 2005. 104p. Dissertação (Mestrado em Ciências dos Alimentos) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Araraquara, 2005.

HAJDENWURCEL, J.R. **Atlas de microbiologia de alimentos**. São Paulo: Fonte comunicações e editora, 1998. v. 1. p. 28.

HARTMAN, P.A. The MUG glucuronidase test for *E. coli* in food and water. In: TURANO, A. **Rapid methods and automation in microbiology and immunology**. Brescia: Brixia Academic Press, 1989. p.290-308.

HSIEH, J.J. **A comparison of the Multiple-tube fermentation method and Colitag method for the detection of waterborne coliform bacteria**. Disponível em: <http://socrates.berkeley.edu/~es196/projects/2001final/Hsieh.pdf>. Acesso em: 25 jul. 2008.

HUNT, H.E.; RICE, E.W. (Coord).. Microbiological examinations. In: EATON, A.D. (Ed.) **Standard methods for the examination of water & wastewater**. 21th ed. Washington; APHA, 2005. Part 9000, p. 9-1 – 9-169.

IDEXX LABORATORIES. Disponível em: <http://www.idexx.com/water/>. Acesso em: 14 dez. 2009.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. **Dados sobre domicílios no Estado do Rio de Janeiro**. Anuário estatístico do Brasil. Rio de Janeiro, 1994. v. 54.

_____. **Pesquisa nacional de saneamento básico 2000**. Rio de Janeiro, 2002. 397p. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/condicaodevida/pnsb/default.shtm>. Acesso em: 15 dez. 2009.

_____. **Brasil em síntese**. Disponível em: http://www.ibge.gov.br/brasil_em_sintese/default.htm. Acesso em 24 ago. 2009a.

_____. **Pesquisa Nacional por amostra de domicílios – 2008**. Comunicado Social. 18 de set. 2009b. Disponível em: http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/noticia_visualiza.php?id_noticia=1455&id_pagina=1. Acesso em: 05 de jan. de 2010.

ISAAC-MARQUEZ, A.P.; LEZAMA-DAVILA, C.M.; KU-PECH, R.P.; TAMAY-SEGOVIA, P. Calidad sanitaria de los suministros de agua para consumo humano en Campeche. **Salud Publica México**, México, v. 36, n. 6, p. 655-661, 1994.

JAY, J.M. Parâmetros intrínsecos e extrínsecos dos alimentos que afetam o crescimento microbiano. In: _____. **Microbiologia de alimentos**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. Cap. 3, p. 51-72.

JULIÃO, F.C. **Água para consumo humano e saúde: ainda uma iniquidade em área periférica do município de Ribeirão Preto – SP**. 2003. 121p. Dissertação (Mestrado em Enfermagem em Saúde Pública) – Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2003.

KINDHAUSER, M.K. Introdução. In: WHO. **Global defense against the infectious disease threat: communicable disease 2002**. Geneva, 2003. p. 6-11.

KINDLER, J. Water quality Impacts of Urban Expansion in Developing Countries. In: JAMES, W.; NIEMCZNOWICZ, J. **Water, development and the environment**. Michigan: Lewis Publishers, 1992. chap. 6, p. 96-105.

KUHNERT, P.; BOERLIN, P.; FREY, J. Target genes for virulence assessment of *Escherichia coli* isolated from water, food and environment. **FEMS Microbiology Reviews**, Amsterdam, v. 24, p. 107-117, 2000.

LIMA, J.E.F.W. **Documento 33: recursos hídricos no Brasil e no mundo**. Platina: EMBRAPA, 2001. 44p. Disponível em: www.cpac.embrapa.br/download/261/t. Acesso em: 04 jan. 2010.

MACEDO, J.A.B. de. **Águas e águas**. 3. ed. Belo Horizonte:CRQ-MG, 2007.1027p.

MANAFI, M. New developments on chromogenic and fluorogenic culture media. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 60, p. 205-218, 2000.

MENDONÇA-HAGLER, L.C.S.; HAGLER, A.N. Microbiologia aquática. In: ROITMAN, I. TRAVASSOS; L.R.; AZEVEDO, J.L. **Tratado de microbiologia**. São Paulo: Manole, 1991. v.2. cap. 4, p. 83-102.

MISRA, K.K. Safe water in rural areas. **The International Electronic Journal of Health Education**, Geneva, v. 18, p. 53-59, 1975.

MULLER, A.P.B. **Detecção de oocistos de *Cryptosporidium* spp. em águas de abastecimento superficiais e tratadas da região metropolitana de São Paulo.** 1999. 135p. Dissertação (Mestrado em Microbiologia) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 1999.

OLSON, B.H.; CLARK, D.L.; MILNER, B.B.; STEWART, M.H.; WOLFE, R.L. Total coliform detection in drinking water: comparison of membrane filtration with Colilert and Coliquik. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 57, n. 5, p. 1535-1539, May. 1991.

OLSTADT, J.; SCHAUER, J.J.; STANDRIDGE, J.; KLUENDER, S. A comparison of ten USEPA approved total coliform/*E. coli* tests. **Journal of Water and Health**, London, v. 5, n. 2, p. 267-282, 2007.

ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS - ONU. **2005-2015 – Década da ONU.** Água para a vida. O movimento Gaia. Mar. 2005. 6 p. Disponível em: www.gaia-movement.org/.../newsletter%20Mar%2005%20Port%20Small.pdf. Acesso em: 14 nov. 2009.

_____. **Falta água potável em 1,1 bilhão no mundo.** Paris, 09 mar. 2006. Disponível em: http://www.onu-brasil.org.br/view_news.php?id=3741. Acesso em: 21 jun. 2010.

_____. **87% da população mundial tem acesso à água potável.** Nova York, 15 mar. 2010. Disponível em: <http://www.unmultimedia.org/radio/portuguese/detail/177518.html>. Acesso em 21 jun. 2010.

PARSEKIAN, M.P.S. **Análise e proposta de formas de gerenciamento de estações de tratamento de água de abastecimento completo em cidades de porte médio do estado de São Paulo.** 1998. 194p. Dissertação (Mestrado em Hidráulica e Saneamento) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1998.

PELCZAR Jr.; J.M.; CHAN, E.C.S.; KRIEG, R. **Microbiologia: conceitos e aplicações.** Tradução de PEREIRA, M.A.M. 2 ed. São Paulo: Makron Books, 1996. v. 2. 517p.

PROGRAMA DAS NAÇÕES UNIDAS PARA O DESENVOLVIMENTO - PNUD. **2,4 bilhões no mundo não têm saneamento.** Cidade do México, 2006. Disponível em: <http://www.pnud.org.br/saneamento/reportagens/index.php?id01=1862&lay=san>. Acesso em 31 de maio de 2010.

RELATÓRIO da ONU estima que 3 bilhões sofrerão com escassez de água no planeta em 2050. **O Globo.** 13 mar. 2009. Disponível em: <http://oglobo.globo.com/ciencia/mat/2009/03/13/relatorio-da-onu-estima-que-3-bilhoes-sofrerao-com-escassez-de-agua-no-planeta-em-2025-754818688.asp>. Acesso em: 14 dez. 2009.

RIBEIRO, D.A. *Escherichia coli* isoladas de água de consumo: caracterização fenotípica e genotípica das propriedades de virulência. 2006. 95p. Dissertação (Mestrado em Microbiologia) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2006.

RICHTER, C.A.; AZEVEDO NETTO, J.M. **Tratamento de água**: tecnologia atualizada. São Paulo: Edgard Blucher, 1995. 332p.

RIEDEL, G. Noções de saúde ambiental. In: _____. **Controle sanitário dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 1992. Cap. 6, p. 37-49.

ROYAL SOCIETY OF CHEMISTRY - RSC. **Understanding our environment**: an introduction to environmental chemistry and pollution. London: Paston Press Ltd, 1992, 326p.

SANT'ANA, A.S. de; SILVA, S.C.L.; FARANI Jr, I.O.; AMARAL, C.H.R.; MACEDO, V.F. Qualidade microbiológica de águas minerais. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 23, Supl., p. 190-194, 2003.

SANTOS, S.R. **Tratamento da água**: monitoramento das características da qualidade da água potável. 2007. 261p. Dissertação (Mestrado em Programação Matemática do Setor de Tecnologia) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2007.

SAS Institute. **SAS/STAT User Guide**: version 6.08. Carrey. 1997. v. 2.

SAVAGEAU, M.A. *Escherichia coli* habitats, cell types, and molecular mechanisms of gene control. **The American Naturalist**, Chicago, v. 22, n. 6, p. 732-744, 1983.

SILVA, E.F.; SALGUEIRO, A. A avaliação da qualidade bacteriológica de água de poços na região na de Recife-PE. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 15, p. 73-78, 2001.

SILVA, N.; CATANÚSIO NETO, R.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A. **Manual de métodos de análise microbiológica da água**. São Paulo: Varela, 2005. 164p.

SOLO-GABRIELE, H.M. WOLFERT, M.A.; DESMARAIS, T.R. PALMER, C.J. Sources of *Escherichia coli* in a coastal subtropical environment. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 66, n. 1, p. 230-237, 2000.

TORTORA, G.J.; FUNKE, B.R.; CASE, C.L. **Microbiologia**. Tradução de Roberta Marchiori Martins. 8. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. 894p.

UNIVERSIDADE DA ÁGUA - UNIAGUA. **Água no planeta**. Disponível em <http://www.uniagua.org.br>. Acesso em: 02 set. 2008.

VASCONCELOS, J.C.; AQUINO, J.S. de. Análise microbiológica (potabilidade) da água consumida em escolas públicas de conjuntos habitacionais da zona de Manaus-Amazonas. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimento**, Curitiba, v. 13, n. 2, p. 119-124, 1995.

VENDEMIATTI, J.A.S. **Avaliação físico-química e microbiológica da água subterrânea em área irrigada com efluente de filtro anaeróbio.** 2003. 145p. Dissertação (Mestrado em Saneamento e Ambiente) - Faculdade de Engenharia Civil, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2003.

VENDRAMEL, E. **Consideração sobre a água mineral e sua distribuição na cidade de Maringá.** 2004. 89p. Dissertação (Mestrado em Análise Regional e Ambiental) - Universidade de Maringá, Maringá, 2004.

VERTONI, P.C.; GALLO, C.R. **Utilização de cloradores por difusão em poços rasos: cisternas para garantia da potabilidade da água.** Piracicaba: ESALQ/USP; SEBRAE, 1994. 66p. (Cursos Agrozootécnicos).

WOLF, H.W. The coliform count as a measure of water quality. In: R. Mitchell (ed.) **Water Pollution Microbiology.** New York: Wiley-Interscience, 1972. p. 333-345.

WORLD HEALTH ORGANIZATION - WHO. Quantifying selected major risks to health. In: _____. **World Health Report 2002: reducing risks, promoting healthy life.** Geneva, 2002. Chap. 4, p. 47 – 98. Disponível em: <http://www.who.int/whr/2002/en/index.html>. Acesso em: 01 de dezembro de 2009.

_____. **Guidelines for drinking-water quality.** 2th ed. Geneva, 1996. v. 2, 94p. Disponível em: www.who.int/water_sanitation_health/dwq/en/2edvol2p1.pdf. Acesso em: 24 set. 2009.

_____. **Lack of water and inadequate sanitation.** Disponível em: <http://www.who.int/ceh/risks/cehwater/en/index.html>. Acesso em: 24 ago. 2009.