

AVALIAÇÃO DAS PRINCIPAIS METODOLOGIAS APLICADAS ÀS ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS DE ÁGUA PARA CONSUMO HUMANO VOLTADAS PARA A DETECÇÃO DE COLIFORMES TOTAIS E TERMOTOLERANTES

Luana Leal Fernandes¹

Rosineide Vieira Gois²

RESUMO

A água é o principal meio de transmissão de bactérias patogênicas, dentre elas o grupo dos coliformes, sendo a *Escherichia coli* o principal indicador de contaminação fecal. De acordo com a Portaria nº 2.914 de 12 de Dezembro de 2011, a água destinada para consumo humano deve estar isenta desses micro-organismos. O objetivo dessa pesquisa foi apresentar as metodologias mais utilizadas nas análises microbiológicas de água para consumo humano, em relação ao tempo de análise, custo e vantagem. A metodologia empregada foi levantamento bibliográfico em plataformas online “SciELO e Pubmed”. A pesquisa mostra cada particularidade das técnicas utilizadas. Esses métodos usados são divididos em Métodos convencionais: Técnica de Múltiplos Tubos e Técnica de Membrana Filtrante. E os Métodos rápidos: Colilert e Colitag. Nas quais os métodos convencionais são mais laboriosos e mais suscetíveis a erros, enquanto os métodos rápidos minimizam os erros provocados pelos métodos convencionais, reduzindo o tempo de análise, não necessitando de etapas confirmatórias. Dentre as metodologias apresentadas a que se destacou foram os métodos rápidos Colilert e Colitag, ambas com o mesmo mecanismo de ação, na qual Colitag recupera as células danificadas pelo cloro. O tempo de obtenção dos resultados tem duração de 24 horas, não havendo desperdícios de meios de culturas, pois vem em embalagens unitárias, sendo estéreis.

Palavras-chaves: Métodos de análises de água, Coliformes totais, Coliformes termotolerantes.

¹ luanaleal10@gmail.com

² rosineidegois@hotmail.com

EVALUATION OF THE MAIN METHODOLOGIES APPLIED TO MICROBIOLOGICAL ANALYSIS OF WATER FOR HUMAN CONSUMPTION INTENDED FOR DETECTION OF TOTAL COLIFORMS AND THERMAL TOLERANT

ABSTRACT

Water is the main means of transmission of pathogenic bacteria, including the group of coliforms, *Escherichia coli* being the main indicator of fecal contamination. In accordance with the Ordinance No. 2914 of December 12, 2011, water intended for human consumption must be free of these microorganisms. The objective of this research was to present the methodologies more used in the microbiological analysis of water for human consumption, with respect to the time of analysis, cost and benefit. The methodology used was bibliographical survey on online platforms " Scielo and Pubmed. Research shows every peculiarity of the techniques used. These methods used are divided into conventional methods: Multiple Tube Technique and Membrane Filter Technique. And the rapid methods: Colilert and Colitag. In which conventional methods are more laborious and more susceptible to errors, while the rapid methods minimize errors caused by conventional methods, reducing the time of analysis, not requiring confirmatory steps. Among the methodologies presented that stood out were the Colilert and Colitag rapid methods, both with the same mechanism of action, in which Colitag recovers damaged cells by chlorine. The time of obtaining the results lasts 24 hours, there is no waste of media cultures, because come in individual packages, being sterile.

Keywords: Water analysis methods, Total coliforms, Coliforms thermal tolerant.

1. INTRODUÇÃO

A água é essencial para vida, fonte natural indispensável ao ser humano e demais seres vivos, fonte de equilíbrio dos ecossistemas. Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), todas as pessoas têm o direito o acesso a água potável e segura, que não represente risco algum à saúde, que tenha em quantidade suficiente para atender suas necessidades domésticas regularmente e que tenha um custo acessível (SCURACCHIO; FARACHE FILHO, 2011)⁽¹⁾.

A água para o consumo humano deve atender parâmetros microbiológicos, físicos e químicos ideais para que não ofereçam risco algum à saúde. Assim, esse recurso hídrico deve apresentar-se em estado de potabilidade, livre de qualquer contaminação (NASCIMENTO; RIBAS-SILVA; PAVANELLI, 2013)⁽²⁾.

De acordo com a Portaria de nº 2914 de Dezembro de 2011 que define a qualidade de água para o consumo humano determina que através dos procedimentos de controle de vigilância, serão exercidas atividades de forma contínua pelos responsáveis, verificando se a água consumida pela população está realmente apta para consumo, apresentando ausência de coliformes totais e termotolerantes (BRASIL, 2011)⁽³⁾.

No entanto, estudos recentes apontam que a água utilizada para o consumo pode estar imprópria de acordo com os padrões de potabilidade estabelecidas, por indicarem contaminação com coliformes totais e termotolerantes, o que pode acarretar riscos a saúde dos consumidores (BARBOSA et al., 2009)⁽⁴⁾

A água própria para o consumo deve estar livre de micro-organismos patogênicos e não deve conter bactérias indicadoras de contaminação fecal. O principal representante desse grupo de bactérias é a *Escherichia coli* (ARAÚJO; BARAÚNA; MENESES, 2009)⁽⁵⁾. Este micro-organismo pode provocar cólica, febre, diarreia, calafrios, mal estar, e às vezes quadro de diarreia com sangramento (BARBOSA et al., 2009)⁽⁴⁾

Segundo Brasil (2006)⁽⁶⁾, *Escherichia coli* é uma bactéria pertencente ao grupo dos coliformes que fermenta manitol e lactose, que produz ácido e gás a $44,5 \pm 2^\circ\text{C}$ em 24 horas, produzindo indol a partir de triptofano, oxidase negativa, não hidroliza a ureia e indica atividade da enzimas beta-galactosidade e beta-glucosidase,

Coliformes totais (bactérias do grupo coliforme) são constituídos pela família *Enterobacteriaceae* que são bacilos Gram-negativos, não formadores de esporos, aeróbios ou anaeróbios facultativos, são capazes de fermentar lactose com produção de gás a 35°C entre 24 e 48 horas. Nesse grupo as bactérias mais prevalentes são: *Klebsiela*, *Enterobacter*, *Escherichia coli*, *Citrobacter*, sendo a *E. coli* presente somente no trato intestinal de animais de sangue quente (BARBOSA et al., 2009)⁽⁴⁾.

Os coliformes termotolerantes são subgrupos das bactérias do grupo coliforme que fermentam lactose a $44,5^\circ\text{C} \pm 0,2^\circ\text{C}$ em 24 horas e possui a *Escherichia coli* como o principal bioindicador de origem fecal presente na água (BARBOSA et al., 2009)⁽⁴⁾

O propósito primordial de estudar os métodos de análise da qualidade da água está relacionado diretamente à proteção à saúde pública. Onde através da pesquisa de agentes contaminantes, destacando de origem entérica, diminui a probabilidade de inúmeros surtos de doença (GRECHI, 2005)⁽⁷⁾

A análise bacteriológica de água é um método importante para a determinação da qualidade da água para consumo. Estas técnicas de análises são específicas e sensíveis aos micro-organismos de água e alimento para consumo humano (YAMAGUCHI et al., 2013)⁽⁸⁾.

A análise microbiológica da água pode ser utilizada para pesquisar a presença ou ausência de micro-organismos, para quantificar os mesmos presentes, para identificar e caracterizar diferentes espécies. Diversos métodos laboratoriais de análises podem ser usados para cada uma dessas especificações (GRECHI, 2005)⁽⁷⁾.

Atualmente, os métodos laboratoriais usados para análises microbiológicas são divididos em convencionais e rápidos. Os métodos convencionais foram criados há muitos anos, são considerados mais trabalhosos, devido à utilização de muito material, levam muito tempo para se obter os resultados além de possuir grande possibilidade de erros. Os métodos rápidos foram empregados a partir da década de 70, para minimizar as desvantagens dos métodos convencionais, reduzindo o tempo para a obtenção dos resultados, melhorar a produtividade laboratorial, aumentando a sensibilidade e especificidade (DANTAS et al., 2010)⁽⁹⁾.

Os métodos convencionais frequentemente usados para enumeração coliformes são a Técnica de Múltiplos Tubos e Técnica de Membrana Filtrante. Onde o primeiro método é laborioso, exigindo grande quantidade de meios de cultura e vidrarias. A Técnica de Filtração em Membrana utiliza equipamento de custo elevado e não é indicado para águas com alto índices de turbidez, pois dificulta o processo de filtração. Os métodos rápidos Colilert e Colitag surgiram para abreviar o tempo necessário para a obtenção dos resultados, simplificação do trabalho e redução dos gastos. Esses dois métodos são aprovados pela United States Environmental Protection Agency (USEPA) (GRECHI, 2005; MARQUEZI; GALLO; DIAS, 2010)^(7, 10).

No decorrer desta pesquisa objetivou-se apresentar as metodologias mais utilizadas nas análises de água para o consumo humano, voltadas para a detecção de Coliformes Totais e Termotolerantes; avaliando as vantagens e desvantagens de cada técnica através do custo/benefício.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Trata-se de um levantamento bibliográfico pautado nas plataformas *online* “*Scielo*” “*PubMed*” e Google acadêmico relacionados com o tema proposto, utilizando as

palavras-chave: métodos de análise de água, Coliformes Totais, Coliformes Termotolerantes, água potável e priorizando artigos escritos em português e inglês. Buscou-se discutir artigos científicos nos últimos quinze anos.

Foi utilizado estudo de revisão bibliográfica do tipo descritivo, transversal, com abordagem qualitativa, na qual se analisou cada metodologia aplicada à análise microbiológica da água para consumo humano. Seguida de pesquisa descritiva que tem como objetivo primordial que o investigador tenha conhecimento do que deseja pesquisar. Esse tipo de estudo visa descrever os fatos e fenômenos de determinada realidade (TRIVIÑOS, 1987)⁽¹¹⁾.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 MÉTODOS CONVENCIONAIS

3.2 TÉCNICA DE MÚLTIPLOS TUBOS OU NÚMERO MAIS PROVÁVEL

No monitoramento ou análise da qualidade de água são utilizados indicadores biológicos específicos como bactérias do grupo coliforme. Esse termo “indicadores biológicos específicos” indica que um tipo de micro-organismo, estando presente na água, é uma suspeita que está poluída com material fecal de origem humana ou de outros animais de sangue quente (YAMAGUICHI et al., 2013)⁽⁸⁾.

O método utilizado para a contagem de coliformes totais, termotolerantes e *Escherichia coli* em água é o Número Mais Provável (NMP) ou Técnica de Múltiplos Tubos (SILVA et al., 2010)⁽¹²⁾.

É uma técnica de análise quantitativa que permite conhecer o Número Mais Provável de micro-organismos presentes na amostra original. Em tubos de ensaios são colocados os meios e alíquotas de amostras das diversas diluições. Após o período de incubação os tubos são especificados como positivo ou negativo. Com a ajuda da tabela do Número Mais Provável é possível identificar aproximadamente quantos dos micro-organismos que foram analisados se fazem presentes na amostra (MARQUEZI, 2010)⁽¹³⁾.

No teste presuntivo para coliformes é utilizado o meio de cultivo Caldo Lauril Sulfato Triptose (LST), é um meio de enriquecimento seletivo, para esses micro-organismos, recuperando as células injuriadas. No qual é observado crescimento com produção de gás nos tubos de Durham, indicando positividade. Para confirmação de coliformes totais é usado o

Caldo Verde Brilhante Bile, que apresenta em sua composição sais biliares, que inibem o crescimento de micro-organismos Gram positivos, e a lactose, utilizada como substrato para a produção de gás. O crescimento com produção de gás nos tubos de Durham indica positividade. E na confirmação para coliformes termotolerantes é usado o Caldo EC (*Escherichia coli*) é um meio seletivo para os micro-organismos Gram positivos devido à presença de sais biliares. É realizada a incubação em banho-maria por 24 horas a uma temperatura de 24 °C, onde é possível observar a produção de gás, devido a fermentação da lactose em temperaturas elevadas (MARQUEZI, 2010)⁽¹³⁾.

Esta técnica tem a vantagem de analisar tanto amostras límpidas como turvas. O processamento das amostras pode ser feito a qualquer hora do dia. (BERNARDO, 2007)⁽¹⁴⁾. Já a desvantagem é ser um método laborioso, pois necessita de grandes quantidades de vidrarias e meio de culturas, sendo necessários repiques e longo tempo de incubação chegando a 96 horas. Para a etapa de confirmação envolvem novos cultivos aumentando as horas e os custos. Quando a seletividade do meio não é apropriada, o organismo alvo pode ser mascarado devido ao crescimento de outros micro-organismos, a amostra pode possuir inibidores que afetam o crescimento do organismo de interesse (GRECHI, 2005; KÖSTER, 2003)^(7, 15).

Muitos fatores interferem com a detecção dos micro-organismos durante o teste presuntivo. Por exemplo: a interferência de micro-organismo que não são de interesse para a pesquisa, a incubação devido a natureza dos meios. O custo-benefício pode ser executado por técnicos com formação básica em microbiologia, por ser relativamente barata, pois não requer equipamentos sofisticados (BERNARDO, 2007; KÖSTER, 2003)^(14, 15).

Autores relataram que técnica de múltiplos tubos foi criticada por apresentar resultados errôneos, no decorrer de diferentes etapas da metodologia. Por ser considerado método padrão, está sujeito a inúmeros tipos de interferências, como por exemplo: presenças de inibidores naturais do meio seletivo, presença de bactérias antagonistas, usam de alta temperatura de incubação e competição entre bactérias não coliformes por lactose. Esses fatores contribuem para a não identificação ou identificação subestimada de *E. coli* (SILVA; CARVALLI; OLIVEIRA, 2006)⁽¹⁶⁾.

3.3 TÉCNICA DE MEMBRANA FILTRANTE

É um dos métodos que pode ser empregado para a quantificação de coliformes em águas. Baseia-se na filtração de volumes adequados de água, no qual as bactérias ficarão retidas na membrana filtrante, com porosidade de 0,45 μm , por serem maiores que os poros da membrana ficarão retidos em sua superfície. Para a filtração, é usado um aparelho que consta um funil de filtração com tampa, suporte de membrana e frasco coletor. Durante o procedimento, os coliformes ficam retidos na mesma, onde serão transferidas para a placa de Petri contendo o meio de cultura de acordo com a necessidade dos micro-organismos, são levadas para estufa a $35 \pm 5^\circ \text{C}$ por 24 horas. Depois de incubadas as colônias são numeradas visualmente ou através de contadores eletrônicos (CETESB, 2007; SILVA, 2012; GRECHI, 2005)^(17, 18, 7).

Vantagens: permite a enumeração direta do número de micro-organismo com excelente exatidão e precisão, também tem a possibilidade de através de grandes volumes de amostras processadas, aumentando a sensibilidade do método (BERNARDO, 2007)⁽¹⁴⁾. Pode ser aplicada à água bruta e tratada, também tem sido utilizado para a detecção de *Toxoplasma gondii* em água, e tem apresentado bons resultados.

Desvantagens: a turbidez é o fator de maior agravo, devido à obstrução dos poros filtrantes, pois necessita trocar membrana para filtrar toda a amostra. O equipamento usado para filtração possui custo elevado (BERNARDO, 2007; FRANCO et al., 2012; GRECHI, 2005)^(14, 19, 7).

Foi avaliada a qualidade da água purificada utilizada no preparo de medicamentos e formulações em farmácias magistrais da região de São José do Rio Preto-SP de acordo com os parâmetros farmacopeicos, sendo que análise microbiológica foi utilizada a técnica de membrana filtrante, e 20% das amostras estavam contaminadas. Isto mostra que a metodologia aplicada apresentou bons resultados, mostrando-se exatidão e precisão dos resultados (MORENO; TOZO; SALGADO, 2011)⁽²⁰⁾.

3.4 MÉTODOS RÁPIDOS

Várias técnicas têm sido desenvolvidas baseadas em substratos enzimático fluorogênicos ou cromogênicos, com objetivo de detectar a presença de enzimas específicas com o emprego de substratos apropriados. A adição de tais substratos permite a detecção, enumeração e identificação de maneira direta em placa de isolamento ou em caldo, reduzindo assim o uso de subculturas e testes bioquímicos para designar a identificação de possíveis

organismos. Essa técnica permite determinar coliformes totais, termotolerantes e fecais contidos em amostras de água, usando um único meio de cultura (GRECHI, 2005)⁽⁷⁾.

Os Coliformes Totais produzem a enzima β -D-galactosidase, para identificação são utilizados substratos capazes detectar essa enzima, produzida por eles. Os substratos são clorofenol vermelho- β -D-galactopiranosídeo (CPRG) ou ortonitrofenil- β -D-galactopiranosídeo (ONPG). A enzima β -D-galactosidase cliva o substrato e produz uma mudança na respectiva coloração (amarelo), o que significa que esse teste positivo para coliformes totais em 24 horas (ONPG) ou 28 horas (CRPG), sem adição de procedimento. A *Escherichia coli* produz a enzima β -glucuronidase, que cliva o substrato fluorogênico, 4-metil- β -D-glucuronido (MUG). A enzima β -glucuronidase cliva o substrato e produz um produto fluorescente que se observa sob o comprimento de onda (366 nm) ultravioleta. A presença de fluorescência indica positivo para *E. coli* (CARVALHO, 2014; SENGUPTA; SAHA, 2013)^(21, 22).

As vantagens são o tempo estimado para a obtenção dos resultados confirmados que varia de 18 a 28 horas, dependendo do produto comercial usado; rapidez dos resultados; alta especificidade ocupa menos espaço na estufa e não é necessária confirmação. Possuem custo mais elevado como desvantagem. (CARVALHO, 2014; GRECHI, 2005)^(21, 7).

Dentre esses métodos rápidos utiliza-se Colilert e o Colitag, ambas metodologias são aprovadas pela United States Environmental Protection Agency (USEPA) (MARQUEZI; GALLO; DIAS, 2010)⁽¹⁰⁾.

3.5 COLILERT®

Este método tem como princípio a identificação dos micro-organismos pela análise de suas enzimas típicas, sendo o tempo estimado 24 horas. O meio contém dois substratos para identificar as enzimas: o cromogênico orto-nitrofenil- β -D-galactopiranosídeo (ONPG) e fluorogênico 4-metilumbeliferil- β -D-glucuronídeo (MUG), que detectam as bactérias do grupo coliforme total e *Escherichia coli* em amostras de água (IDEXX, 2015; MARQUEZI, 2010; SILVA et al., 2010)^(23, 13, 12).

O substrato cromogênico ONPG é utilizado para a detecção da enzima específica do grupo coliformes totais, a β -galactosidase, que hidroliza o ONPG a orto-nitrofenol resultando na mudança de coloração do meio para amarelo (MARQUEZI, 2010)⁽¹³⁾.

Para a detecção de *E. coli*, o substrato MUG sofre a ação da enzima β -glucuronidase, que é típica desta bactéria. Ao sofrer degradação, o MUG libera a 4-metilumbeliferona que, quando exposta a luz ultravioleta, ocorre fluorescência (MARQUEZI, 2010)⁽¹³⁾.

Como resultado entende-se que, se o meio permanecer incolor, indica ausência de bactérias do grupo coliforme e *E. coli* na amostra. Se o meio apresentar 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. Se a cor do meio ficar alterada para amarela e apresentar fluorescência sob luz UV, significa que bactérias do grupo coliforme e *E. coli* estão presentes na amostra analisada (MARQUEZI, 2010)⁽¹³⁾.

Além de detectar os mesmos organismos, os métodos rápidos estimam rapidamente a qualidade bacteriológica da água, com os resultados reais e possuem sensibilidade igual aos métodos convencionais (MARQUEZI, 2010)⁽¹³⁾.

Vantagens: reduzem os custos das análises; não há a necessidade de realizar testes confirmatórios; esse método utiliza apenas uma estufa 35°C e luz ultravioleta; o tempo de análise é rápido; são testes com maior sensibilidade e especificidade que os métodos convencionais; diminuem o desperdício do meio de cultura, pois as embalagens são individualizadas; os meios são estéreis (GRECHI, 2005; OLIVEIRA, 2013; SILVA, 2010)^(7, 24, 12). De acordo com o fabricante (IDEXX, 2015)⁽²³⁾, esse produto custa de 20-50% mais barato que os métodos tradicionais. Comparado com a filtragem de membrana, o custo dos equipamentos pode chegar a ser até 95% mais baratos.

Desvantagens: a interferência pode ser causada pela presença de outras bactérias. Pois a utilização da enzima beta-galactosidase na detecção de coliformes, também pode ser encontrada em outros micro-organismos, *Enterobacteriaceae*, *Neisseriaceae*, *Pseudomonadaceae*, *Vibrionaceae*, leveduras, fungos, etc. A beta-glucuronidase produzida pela *Escherichia coli* também é produzida por *Enterobacteriaceae*, incluindo alguns *Salmonella*, *Shigella*, *Citrobacter*, *Yersinia*, etc. Com isso, pode levar a detecção de um número de falsos-positivos de organismos. Porém, com essas interferências, resultam em menores erros que os métodos tradicionais (KÖSTER et al., 2003)⁽¹⁵⁾.

Estudos foram feitos usando o reagente Colilert para avaliar a qualidade microbiológica, quanto à presença de coliformes totais e fecais, em diferentes marcas de águas minerais e água potável destinadas ao abastecimento público da cidade de Marília-SP. De acordo com os resultados apenas 5,5% das amostras coletadas possuíam contaminação por coliformes totais e 94,5% estavam aptas para o consumo humano. O método Colilert utilizado

para análise microbiológica apresentou alta sensibilidade e especificidade (ALVES; ODORIZZI; GOULART, 2002)⁽²⁵⁾.

3.6 COLITAG

Este método é usado para detectar a presença de coliforme e *E. coli*, sendo o tempo estimado em 24 horas. O mecanismo de ação segue o mesmo princípio de Colilert[®]. Utiliza o substrato orto-nitrofenil- β -D-galactopiranosídeo (ONPG) e o 4-metilumbeliferil- β -D-glucoronídeo (MUG) para a detecção de coliformes totais e *E. coli*. A enzima β -galactosidase, presente nos coliformes totais, decompõe o ONPG, que é incolor, alterando a mudança de coloração do meio para amarelo, podendo ser visto a olho nu. A enzima β -glucoronidase, presente na *E. coli*, decompõem o MUG, tornando o meio fluorescente (MARQUEZI, 2010; SILVA et al., 2010)^(13, 12).

O que pode destacar de diferente do Colitag é a presença em sua composição do tampão TMAO (óxido de N-trimetilamina), que é trimetilamina. Este composto tem a função de neutralizar o pH baixo, ajudando na recuperação das células danificadas pelo cloro. O Colitag pode ser utilizado para recuperar a célula e reativando seu crescimento, podendo detectar a *E. coli* danificada pelo cloro. O resultado pode ser expresso como presença/ausência ou Número Mais Provável (MARQUEZI, 2010)⁽¹³⁾.

O Colitag foi aprovado pela States Environmental Protection Agency (USEPA) no uso para a reativação e posterior detecção de *E. coli* danificadas pelo cloro (MARQUEZI, 2010; MARQUEZI; GALLO; DIAS, 2010)⁽¹⁰⁾.

Vantagens: utilizam apenas um meio de cultura e 24 horas para ser observado o resultado da análise, por ser método rápido precisa de pouco tempo para efetuar a análise, aumentando a produtividade laboratorial, seu custo é menor que a técnica de múltiplos tubos (MARQUEZI; GALLO; DIAS, 2010)⁽¹⁰⁾. A desvantagem pode ser considerada a mesma do Colilert[®], pois é o mesmo princípio da metodologia.

3.7 COMPARAÇÃO ENTRE OS MÉTODOS CONVENCIONAIS E MÉTODOS RÁPIDOS

De acordo com Brandão (2012)⁽²⁶⁾, o estudo feito com a comparação das técnicas do número mais provável (NMP) e de filtração em membrana na avaliação de água mineral

natural, demonstrou que a técnica do NMP mostrou maior sensibilidade do que a técnica de filtração por membrana para Coliformes Totais e Termotolerantes. Essa sensibilidade é maior, pois a técnica de múltiplos tubos é um método estatístico, e os resultados frequentemente são mais elevados que os métodos provindos de contagens em placas (técnica de filtração em membrana). Tendo como vantagem uma melhor recuperação de micro-organismos pelo uso de líquidos diferenciais ou seletivos.

No estudo de Bettega e colaboradores (2006)⁽²⁷⁾, foram usadas três metodologias distintas de detecção de coliformes totais e fecais na água, onde a metodologia do Kit ‘‘B’’ tem o princípio da ausência dos grupos coliforme e coliforme fecal, utilizando o substrato cromógeno e fluorógeno, demonstrando maior clareza na visualização dos resultados, apesar de ser um método de custo elevado é compensado, pois os meios já vem estéreis, eliminando o uso da autoclave e levando menor tempo para a obtenção dos resultados com relação aos outros métodos utilizados.

Outro estudo foi realizado para comparar a equivalência entre os métodos fermentação em tubos múltiplos (FTM), Colilert e Colitag para a detecção de coliformes totais e *Escherichia coli* em amostras de água de abastecimento, bica e rio. Os resultados não apresentaram diferenças significativas nas contagens de coliformes totais e *Escherichia coli* em todos os tipos de análises feitas. E ainda os autores desse estudo recomendam o uso dos métodos rápidos Colilert e Colitag em troca do método convencional FTM. Devido à grande vantagem em função do menor tempo para ser realizada a análise (24 horas para os métodos rápidos e 96 horas para o método convencional), menor custo e não necessitar testes confirmatórios. Além disso, os métodos rápidos são menos trabalhosos (MARQUEZZI; GALLO; DIAS, 2010)⁽¹⁰⁾.

Lima e colaboradores (2001)⁽²⁸⁾ realizaram uma pesquisa comparando as técnicas de membrana filtrante com o substrato cromogênico (Colilert), para identificar a presença de coliformes fecais e *Escherichia coli* em águas naturais e em esgoto bruto e tratado. Os resultados de indicadores de contaminação fecal nas amostras de efluente do filtro anaeróbio e esgoto bruto não apresentaram diferenças estatísticas significativas quando comparadas as técnicas do substrato cromogênico e membrana filtrante. A técnica do substrato cromogênico apresentou resultados bastante confiáveis na detecção de indicadores de contaminação fecal em águas muito contaminadas, podendo ser substituída pela metodologia de membrana filtrante. As amostras de água natural apresentaram contaminação relativamente baixa. As técnicas comparadas mostraram resultados diferentes, contudo o número de coliformes fecais

foi maior que a *Escherichia coli*. A técnica de substrato cromogênico pode ser substituída pela técnica de membrana filtrante, devido seu tempo de elaboração ser menor em relação à outra técnica, e utilizar um meio já estéril e não requer grandes quantidades de vidrarias. E a técnica de membrana filtrante não é indicada em água com elevado índice de turbidez, devido à obstrução dos poros filtrantes, necessitando trocar a membrana para filtrar a amostra BERNARDO, 2007; FRANCO et al., 2012; GRECHI, 2005)^(14, 19, 7).

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Ao final da pesquisa, conclui-se que os métodos rápidos Colilert e Colitag apresentaram melhor desempenho em relação aos outros métodos. Ambos possuem o mesmo mecanismo de ação, destacando o Colitag que recupera as células danificadas pelo cloro. Possuem grande rapidez na execução dos resultados, levando 24 horas, não necessitam de testes confirmatórios, utilizando apenas um meio de cultura já estéril, considerando baixo custo. E os métodos convencionais a técnica de Múltiplos Tubos é um método laborioso, devido levar muito tempo para sua realização, utiliza vários meios de culturas, apresentando grandes erros nos seus procedimentos. Já na técnica de membrana filtrante a maior dificuldade encontrada é a turbidez da amostra, para a realização dos procedimentos, possibilitando a obstrução dos poros filtrantes, tendo a necessidade de trocar membrana para filtrar a amostra.

REFERÊNCIAS

- 1 – Scuracchio P. A, Farache Filho A. Qualidade da água para consumo em escolas e creches no município de São Carlos- SP. Alimentos e Nutrição Araraquara, v. 22, n. 4, p. 641-647, 2011. Disponível em:
<<http://servbib.fcfar.unesp.br/seer/index.php/alimentos/article/view/1495/1165>> Acesso em 30 abr. 2015
- 2 – Nascimento DC, Ribas-Silva RC, Pavanelli MF. Pesquisa de coliformes em água consumida em bebedouros de escolas estaduais de Campo-Mourão, Paraná. SaBios- Revista de Saúde e Biologia, v. 8, n.1, p. 21-26, 2013 Disponível em:
<<http://www.revista.grupointegrado.br/revista/index.php/sabios2/article/viewArticle/1417>> Acesso em 30 abr. 2015.
- 3 – Ministério da Saúde (BR) Portaria n. 2914 de 12 de dezembro de 2011. Norma de qualidade da água para consumo humano. Diário Oficial da União. Disponível em:
<http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2011/prt2914_12_12_2011.html> Acesso em: 30 mai. 2015.
- 4 – Barbosa DB, et al. Qualidade microbiológica da água dos bebedouros de um Campus universitário de Ipatinga, Minas Gerais. NUTRIR GERAIS – Revista Digital de Nutrição, Ipatinga, v. 3, n. 5, p. 505-517, ago./dez. 2009. Disponível em:
<http://www.unilestemg.br/nutrirgerais/downloads/artigos/5_edicao/Artigo_QUALIDADE_MICROBIOLOGICA_DA_AGUA_DOS_BEBEDOUROS.pdf> Acesso em: 23 de nov. 2014.
- 5 – Araújo TM, Baraúna AC, Meneses CAR. Identificação de *escherichia coli* em água de bebedouros e nos próprios aparelhos de quatro escolas públicas de Boa Vista – Roraima – Brasil. In: IV CONGRESSO DE PESQUISA E INOVAÇÃO DA REDE NORTE E NORDESTE DE EDUCAÇÃO TECNOLÓGICA. 2009. Belém, PA, 2009.

6 – Funasa. Ministério da Saúde (BR). Manual Prático de Análise de Água. 2. ed. Brasília (DF): Assessoria de Comunicação e Educação em Saúde, 2006.

7 – Grechi SQ. Avaliação da eficiência de métodos rápidos usados para detecção de Coliformes Totais e Coliformes Fecais em amostras de água, em comparação com a técnica de fermentação em tubos múltiplos. 2005. 104 f. Dissertação (Mestrado alimentos e nutrição) – Universidade Paulista Júlio de Mesquita Filho, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Campus Araraquaras, 2005. Disponível em: <http://www2.fcfar.unesp.br/Home/Pos-graduacao/AlimentoseNutricao/Simone_Gregghi-completo.pdf> Acesso em: 30 abr. 2015.

8 – YamaguchiUM, et al. Qualidade microbiológica da água para consumo humano em instituição de ensino de Maringá-PR. Revista: O mundo da saúde, São Paulo, v. 37, n. 3, p. 312-320, 2013. Disponível em: <http://saocamilo-sp.br/pdf/mundo_saude/106/1827.pdf> Acesso em: 20 mar. 2015.

9 – Dantas AKD, et al. Qualidade microbiológica da água de bebedouros destinada ao consumo humano. Revista Biociências, v. 16, n. 2, 2010.

10 – Marquezi MC, Gallo CR, Dias CTS. Comparação de métodos para análise de coliformes totais e *E. coli* em amostras de água. Revista do Instituto Adolfo Lutz (Impresso), v. 69, n. 3, p. 291-296, 2010. Disponível em: <<http://periodicos.ses.sp.bvs.br/pdf/rial/v69n3/v69n3a03.pdf>> acesso em 1 mai. 2015.

11 – Triviños ANS. Introdução à pesquisa em ciências sociais: a pesquisa qualitativa em educação. São Paulo: Atlas, 1987.

12 – Silva N, et al. Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água. 4. ed., São Paulo: Ed. Varela; 2010.

13 – Marquezi MC. Comparação metodológica para a estimativa do número mais provável (NMP) de coliformes em amostras de água. 2010. 111 f. Dissertação (Mestrado em ciência e tecnologia de alimentos) – Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura Luiz Queiroz. 2010. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/11/11141/tde-21102010-160234/en.php>> Acesso em: 30 abr. 2015

14 – Bernardo MSMV. Comparação dos métodos aplicados na detecção de bactéria de coliformes, *Escherichia coli* e *Enterococcus* sp. em águas para fins recreativos. 2007. 121 f. Dissertação (Mestrado em Análises de Água) – Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade do Algarve, Faro. Disponível em: <<https://sapientia.ualg.pt/bitstream/10400.1/631/1/Disserta%C3%A7%C3%A3o.pdf>> Acesso em: 30 abr. 2015.

15 – Köster W, et al. Analytical methods for microbiological water quality testing. Assessing microbial safety of drinking water, p. 237, 2003.

16 – Silva MP, Cavalli DR, Oliveira TCRM. Avaliação do padrão de coliformes a 45°C e comparação da eficiência das técnicas dos tubos múltiplos e petrifilm EC na detecção de coliformes totais e *escherichia coli* em alimentos. Ciênc. Tecnol. Aliment., v. 26, n. 2, 352-9,

2006. Disponível em < <http://www.scielo.br/pdf/cta/v26n2/30183.pdf>> Acesso em 30 abr. 2015.

17 – CETESB (SÃO PAULO). L5.214: Coliformes Totais: Determinação pela Técnica de Membrana Filtrante. São Pulo. 2007. 2 p.

18 – Silva DM. Avaliação microbiológica das águas de bebedouros de duas instituições de ensino da cidade de Paracatu – MG, em relação à presença de Coliformes Totais e *Escherichia coli*. 2012. 85 f. Monografia (Graduação) –Faculdade Tecsoma. 2012

19 – Franco RMB. Avaliação da performance de metodologias de detecção de *Cryptosporidium spp.* *Giardiaspp.* em água destinada ao consumo humano, para o atendimento às demanda da Vigilância em Saúde Ambiental no Brasil. Epidemiologia e Serviço de Saúde, v. 21, n. 2, p. 233-242, 2012. Disponível em:
< <http://scielo.iec.pa.gov.br/pdf/ess/v21n2/v21n2a06.pdf>> Acesso em 25 abr. 2015.

20 – Moreno AH, Tozo GCC, Salgado HRN. Avaliação da qualidade da água purificada em farmácias magistrais da região de São José do Rio Preto, SP. Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada, v. 32, n. 1, p. 69-75, 2011.

21 – Carvalho TR. Análise microbiológica de areia de praias do município de Vitória/ES pelas técnicas de tubos múltiplos e membrana filtrante. 2014. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) Faculdade Católica Salesiana do Espírito Santo. Vitória. Disponível em:
<http://www.catolica-es.edu.br/fotos/files/TCC_Tarcila_CB_Reduzido.pdf> Acesso em 1 mai. 2015.

22 – SenguptaC, Saha R. Undstanding coliforms – a short review. Internation Journal of Advanced Research, v. 1, n. 4, p. 16-25, 2013.

23 – IDEXX LABORATORIES. Disponível em:
<https://www.idexx.com/pdf/en_us/water/6406300l.pdf> Acesso em 2 mai. de 2015.

24 – Oliveira CFPM. Aplicação do Colilert[®] à enumeração de *Escherichia coli* em alimentos. 2013. 129 f. Dissertação (Mestrado em Gestão de qualidade e segurança alimentar) – Escola Superior de Turismo e Tecnologia do Mar, Instituto Politécnico de Leiria, 2013. Disponível em <<http://iconline.ipleiria.pt/handle/10400.8/1075>> Acesso em 30 abr. 2015.

25 – Alves NC, Odorizzi AC, Goulart FC. Análise microbiológica de águas de minerais e de água potável de abastecimento, Marília, SP. Revista Saúde Pública, v. 36, n. 6, p. 749-51, 2002. Disponível em <<http://www.scielo.br/pdf/rsp/v36n6/13531.pdf>> Acesso em 21 abr. 2015.

26 – Brandão MLL, et al. Comparação das técnicas do NMP e de filtração em membrana na avaliação da qualidade microbiológica de água mineral natural. RevInst Adolf Lutz. São Paulo, v. 71, n. 1, p. 32-9. 2012. Disponível em:
<http://www.arca.fiocruz.br/bitstream/icict/8797/2/RIAL_71_32-39.PDF> Acesso em 3 mai. 2015.

27 – Bettega JMPR, et al. Métodos analíticos no controle microbiológico da água para consumo humano. *Ciência e Agrotecnologia*. Lavras, v. 30, n. 5, p. 950-954. 2006. Disponível em: < <http://www.scielo.br/pdf/cagro/v30n5/v30n5a19.pdf>> Acesso 30 abr. 2015.

28 – Lima AM, et al. Estudo comparativo entre as técnicas de determinação de coliformes fecais e *Escherichia coli* em águas naturais e residuárias utilizando os métodos da membrana filtrante e do substrarocromogênico. In: Saneamento ambiental: desafio para século. ABES, P. 1-9, 2001.