

**UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINENSE  
INSTITUTO DE SAÚDE DE NOVA FRIBURGO  
BIOMEDICINA**

**DÉBORA WENDERROSKY DE AGUIAR TARDOQUE**

**ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DA ÁGUA DO INSTITUTO DE SAÚDE DE NOVA  
FRIBURGO DA UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINENSE**

**NOVA FRIBURGO, RJ**

**2019**

**DÉBORA WENDERROSKY DE AGUIAR TARDOQUE**

**ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DA ÁGUA DO INSTITUTO DE SAÚDE DE NOVA  
FRIBURGO DA UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINENSE**

Monografia apresentada à Banca Examinadora do curso de Biomedicina do Instituto de Saúde de Nova Friburgo- Universidade Federal Fluminense, como requisito à obtenção do título de Bacharel em Biomedicina com habilitação em análises clínicas.

Orientadora:

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Laís dos Santos Falcão

Co-orientador:

Prof. Dr. Renato Guimarães Varges

Nova Friburgo, RJ

2019

Ficha catalográfica automática - SDC/BNF  
Gerada com informações fornecidas pelo autor

A282a Aguiar tardoque, Débora Wenderroscky de  
Análise microbiológica da água do Instituto de Saúde de  
Nova Friburgo da Universidade Federal Fluminense / Débora  
Wenderroscky de Aguiar tardoque ; Lais dos Santos Falcão,  
orientadora ; Renato Guimarães Varges, coorientador. Nova  
Friburgo, 2019.  
50 f. : il.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina)-  
Universidade Federal Fluminense, Instituto de Saúde de Nova  
Friburgo, Nova Friburgo, 2019.

1. Microbiologia da água. 2. Produção intelectual. I.  
Santos Falcão, Lais dos, orientadora. II. Guimarães Varges,  
Renato, coorientador. III. Universidade Federal Fluminense.  
Instituto de Saúde de Nova Friburgo. IV. Título.

CDD -

Bibliotecária responsável: Natália Ribeiro de Rezende - CRB7/6422

**DÉBORA WENDERROSKY DE AGUIAR TARDOQUE**

**ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DA ÁGUA DO INSTITUTO DE SAÚDE DE NOVA FRIBURGO DA  
UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINENSE**

**Vol. 01**

Monografia apresentada à banca examinadora do curso de Biomedicina do Instituto de Saúde de Nova Friburgo – Universidade Federal Fluminense, como requisito para a obtenção do título de Bacharel em Biomedicina.

Área de concentração: Microbiologia geral.

Aprovada em 28 de novembro de 2019.

**BANCA EXAMINADORA:**

---

Prof. Dr<sup>a</sup>. Laís dos Santos Falcão – UFF

**ORIENTADORA**

---

Prof. Dr<sup>a</sup>. Aline Peçanha Muzy Dias – UFF

---

Prof. Dr<sup>a</sup>. Bianca Alcântara da Silva – UFF

Nova Friburgo, RJ

2019

## **AGRADECIMENTO**

Agradeço imensamente a Deus, por me amar e sustentar não somente nestes anos como graduanda, mas em todos os dias da minha vida, pela oportunidade de tornar esse sonho em realidade e por toda força que me destes ao longo de toda a trajetória.

Aos meus pais Antônio Carlos e Therezinha Aguiar que sempre estiveram ao meu lado me apoiando em todos os momentos. Obrigada por todas as orações dirigidas a mim. Amo vocês!

Ao meu esposo Giliart Tardoque, grande incentivador de todos os meus sonhos. Sou grata por todo cuidado, companheirismo, compreensão e paciência demonstrados ao longo desta caminhada.

Sou grata a todos os professores que contribuíram com minha trajetória acadêmica, especialmente a minha orientadora Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Laís dos Santos Falcão, pela disponibilidade, paciência, atenção e carinho, fornecendo-me total apoio para a realização deste trabalho. E ao meu co-orientador Prof. Dr. Renato Vargas, por se dispor a me ajudar. Aqui expresso minha gratidão.

A toda equipe do laboratório multidisciplinar I, em especial a Dr<sup>a</sup>. Aline Dias por sua disponibilidade durante as análises microbiológicas, por todo carinho e paciência.

As minhas amigas Giovanna Greco e Kathlen Rodrigues, pelo laço de amizade que construímos ao longo desses anos de graduação, por todas as palavras de incentivo e força.

Aos membros da banca por terem aceitado o convite.

“Grandes coisas fez o Senhor por nós, pelas quais estamos alegres.” Salmos 126:3

## RESUMO

A água consiste de um recurso essencial à vida. Sem esta, seria impossível a sobrevivência em nosso planeta. Sem o tratamento adequado, a água pode tornar-se via de transmissão de diversas doenças, desse modo, destaca-se a importância de verificar a qualidade da mesma a fim de garantir a segurança de seu consumo e utilização. Bactérias do grupo coliforme são utilizadas como indicadores, fornecendo informações sobre a possível contaminação de origem fecal e a possível presença de patógenos. Assim o objetivo principal do presente trabalho foi analisar microbiologicamente amostras de água adquiridas no Instituto de Saúde de Nova Friburgo (ISNF) da Universidade Federal Fluminense (UFF) segundo a portaria número 2.914 de 12 de dezembro de 2011 do Ministério da Saúde (MS) que estabelece a ausência de coliformes totais (CT) e coliformes fecais (CF) em 100 mL, e o limite de bactérias heterotróficas de 500 Unidades Formadoras de Colônias (UFC)/mL de água analisada. Para a realização deste trabalho foram coletadas seis amostras de água no ISNF-UFF, adquiridas de três pontos de coleta, sendo eles: torneira de uso comum (ponto A) do laboratório Multidisciplinar I, um dos bebedouros (ponto B) do campus e uma seringa tríplice (ponto C) utilizada no atendimento à população na clínica odontológica. As coletas foram realizadas entre 05 e 26 de agosto de 2019 no período vespertino. Para a análise das amostras, utilizou-se o método dos tubos múltiplos (Número Mais Provável – NMP) para detecção de CT e CF, além da realização da técnica de *Pour Plate* para a detecção de bactérias heterotróficas. Todas as amostras avaliadas apresentaram ausência de CT e CF, e a presença de bactérias heterotróficas foi observada apenas nas amostras da clínica odontológica, excedendo os limites permitidos. Assim os resultados obtidos no presente trabalho, segundo o preconizado pela legislação vigente, concluiu-se que, do ponto de vista microbiológico, quatro amostras (67%) encontram-se dentro dos padrões de potabilidade e duas (33%) apresentaram-se inadequadas devido ao número aumentado de bactérias heterotróficas. Desta maneira a água dos pontos A (torneira) e B (bebedouro) atendem aos parâmetros microbiológicos exigidos pela lei em vigor, não apresentando riscos aos que a utilizam, e a água do ponto C (seringa tríplice) necessita de mais avaliações, uma vez que a coleta foi realizada em um único dia, para confirmação do presente resultado.

**Palavras-chave:** Água. Bactérias heterotróficas. Coliformes totais e fecais. Contaminação. Qualidade.

## ABSTRACT

Water consists in an essential resource to life. Without it, would be impossible to survive in our planet. Without proper treatment water can become a transmission path to various diseases, thus the importance of checking its quality is emphasized in order to guarantee the safety of its consumption and use. Bacteria of the coliform group are used as indicators providing information on the possible fecal contamination and the possible presence of pathogens. Thus, the main goal of the present study was to microbiologically analyze the water samples acquired at the Instituto de Saúde de Nova Friburgo (ISNF) of the Universidade Federal Fluminense (UFF) according to the ordinance No. 2,914 of December 12, 2011 of the Ministério da Saúde (MS) establishing the absence of total coliforms (TC) and fecal coliforms (CF) in 100 mL, and the limit of heterotrophic bacteria of 500 Colony Forming Units (CFU)/mL of water analyzed. For this work, six water samples acquired from three gathering points were collected at ISNF-UFF: a common use faucet (gathering point A) at Laboratório Multidisciplinar I, one of the drinking fountains (gathering point B) from the campus and a triple syringe (gathering point C) used to attend the population in the dental clinic. Sample collection was performed between August 05 and 26, 2019 in the afternoon. For the samples analysis, the multiple tube method (Most Probable Number - MPN) was used to detect CT and CF, as well as the Pour Plate technique to detect heterotrophic bacteria. All samples evaluated showed absence of total and fecal coliforms, and the presence of heterotrophic bacteria was observed only in dental clinic samples, exceeding the allowed limits. Thus, the results obtained in the present study, as recommended by current legislation, concluded that, from the microbiological point of view, four samples (67%) are within potability standards and two (33%) were inadequate due to increased number of heterotrophic bacteria. Thus, the water from the gathering points A (faucet) and B (drinking fountain) meet the microbiological parameters required by the current law presenting no risk to those who use it and water from gathering point C (triple syringe) needs further evaluation to confirm the present result, once samples of this point was collected on a single day.

**Keywords:** Water. Heterotrophic bacteria. Total and fecal coliforms. Contamination. Quality.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Quadro 1-</b> Principais doenças veiculadas pela água, seus agentes etiológicos e mecanismos de transmissão.....	20
<b>Figura 1-</b> Fases do procedimento de coleta de água para análise microbiológica .....	23
<b>Figura 2-</b> Etapas da análise de água.....	25
<b>Figura 3-</b> Demonstração de tubos com crescimento no CL de concentração dupla (diluição $10^{-1}$ ) da análise de água do ponto A (torneira) do ISNF da UFF. Em A, observa-se a presença de bolhas e em B, turvação.....	31
<b>Figura 4-</b> Demonstração de tubos considerados positivos (com a presença de bolhas) no CL de concentração dupla (diluição $10^{-1}$ ) da análise de água do ponto B (bebedouro) do ISNF da UFF.....	32
<b>Figura 5-</b> Demonstração de placas de PCA com crescimento de bactérias heterotróficas das amostras N1 e N2 da análise de água do ponto C (seringa tríplice da clínica odontológica) do ISNF da UFF.....	35
<b>Figura 6-</b> Demonstração da coloração de Gram, evidenciando cocos Gram-positivos presentes nas amostras com crescimento de bactérias heterotróficas da análise de água do ponto C (seringa tríplice da clínica odontológica) do ISNF da UFF.....	36
<b>Figura 7-</b> Demonstração de tubos considerados positivos (com crescimento) no CL de concentração dupla (diluição $10^{-1}$ ) da análise de água do ponto C (seringa tríplice da clínica odontológica) do ISNF da UFF.....	36
<b>Figura 8-</b> Demonstração de tubos contendo CVBB com resultado negativo da análise de água do ponto C (seringa tríplice da clínica odontológica) do ISNF da UFF.....	37
<b>Figura 9-</b> Demonstração de tubos contendo CEC com resultado negativo da análise de água do ponto C (seringa tríplice da clínica odontológica) do ISNF da UFF.....	37

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1-</b> Resultados da análise bacteriológica das 2 amostras (N1 e N2) de água coletada do ponto A (torneira) do ISNF da UFF.....	31
<b>Tabela 2-</b> Resultados da análise bacteriológica das 2 amostras (N1 e N2) de água coletada do ponto B (bebedouro) do ISNF da UFF.....	33
<b>Tabela 3-</b> Resultados da análise bacteriológica das 2 amostras (N1 e N2) de água coletada do ponto C (seringa tríplice da clínica odontológica) do ISNF da UFF.....	38
<b>Tabela 4-</b> Avaliação do nível de contaminação de bactérias heterotróficas em UFC e CT em 100 mL de água analisada em equipamentos odontológicos.....	39
<b>Tabela 5-</b> Avaliação do nível de contaminação de microrganismos aeróbios na água de equipamentos odontológicos (UFC/mL). .....	41
<b>Tabela 6-</b> NMP obtido dos resultados positivos quando 5 tubos são usados para cada diluição (segundo o anexo), das amostras de água (N1 e N2) coletadas dos pontos A (torneira), B (bebedouro) e C (seringa tríplice da clínica odontológica) do ISNF da UFF.....	42
<b>Tabela 7-</b> Parâmetros microbiológicos exigidos pela Portaria nº 2.914/2011 do Ministério da Saúde e os resultados obtidos da análise das amostras dos pontos A (torneira), B (bebedouro) e C (seringa tríplice da clínica odontológica) do ISNF da UFF.....	43

## LISTA DE ABREVIATURAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AMS	Ágar Manitol Salgado
APHA	<i>American Public Health Association</i>
CEC	Caldo <i>Escherichia coli</i>
CETESB	Companhia Ambiental do Estado de São Paulo
CF	Coliformes Fecais
CL	Caldo Lactosado
CT	Coliformes Totais
CVBB	Caldo Verde Bile Brilhante
DTA	Doença de Transmissão Alimentar
FUNASA	Fundação Nacional de Saúde
ISNF	Instituto de Saúde de Nova Friburgo
mL	Mililitro
MS	Ministério da Saúde
NMP	Número Mais Provável
NUCASE	Núcleo Sudeste de Capacitação e Extensão Tecnológica em Saneamento Ambiental
OMS	Organização Mundial da Saúde
OPAS	Organização Pan-americana da Saúde
PCA	<i>Plate Count Agar</i>
UFC	Unidades Formadoras de Colônias
UFF	Universidade Federal Fluminense

## SUMÁRIO

<b>1. Introdução</b> .....	12
<b>2. Revisão de literatura</b> .....	15
2.1 Padrão de qualidade da água.....	16
2.2 Microrganismos indicadores.....	16
2.2.1 Coliformes totais e fecais.....	17
2.2.2 Bactérias heterotróficas.....	18
2.3 Doenças veiculadas pela água.....	18
<b>3. Objetivo</b> .....	21
3.1 Geral .....	21
3.2. Específicos .....	21
<b>4. Material e métodos</b> .....	22
4.1 Local de estudo.....	22
4.2 Amostragem.....	22
4.3 Métodos de análise.....	23
4.3.1 Pesquisa de bactérias heterotróficas.....	25
4.3.2 Teste presuntivo.....	26
4.3.3 Teste confirmativo.....	27
4.3.4 Teste complementar.....	27
4.3.5 Semeadura em ágar nutriente.....	28
4.3.6 Semeadura em ágar manitol salgado (AMS).....	28
4.3.7 Técnica de Gram.....	29
<b>5. Resultados e discussão</b> .....	30
<b>6. Conclusão</b> .....	44
<b>Referências</b> .....	45
<b>Anexo</b> .....	49

## 1. INTRODUÇÃO

A água é um recurso natural essencial ao ser humano e demais seres vivos, é substância fundamental à vida. Sendo abundantemente utilizada, desde o consumo humano até a execução de atividades socioeconômicas, exerce grande influência na qualidade de vida da população, e, por conseguinte sobre a saúde da mesma (FRANÇA, 2016).

É conhecido que a água pode ser via de transmissão de diversas doenças quando não se encontra em seus padrões de potabilidade. Desse modo, é de grande importância verificar a qualidade da água a fim de garantir a segurança de seu consumo e utilização (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2005). Foi na década de 70 que o controle de qualidade da água para consumo humano no Brasil tornou-se uma questão de saúde pública, a partir do decreto federal nº 79.367 de 09/03/1977, que estabeleceu como competência do Ministério da Saúde (MS) a definição do padrão de potabilidade da água (FREITAS e FREITAS, 2005; DOMINGUES et al., 2007).

Assim a água potável é compreendida como aquela que atende ao padrão de potabilidade estabelecido atualmente pela portaria do MS nº 2.914/2011 e que não ofereça riscos à saúde. Portanto, para que uma água seja considerada potável, deve atender ao padrão de potabilidade segundo parâmetros físicos, químicos, microbiológicos, organolépticos, cianobactérias/cianotoxinas e radioatividade (BRASIL, 2011).

Por outro lado, entende-se por água contaminada aquela que apresenta riscos à saúde do consumidor devido à presença de agentes patogênicos ou substâncias tóxicas, podendo os riscos de contaminação ser de origem química, física ou biológica. Falhas no processo de controle do padrão de qualidade da água disponível à população podem permitir a sobrevivência de microrganismos ou toxinas e a proliferação de bactérias patogênicas e fungos e serem responsáveis por doenças, causando surtos e até mesmo epidemias, principalmente entre a população infantil, idosa e de imunocomprometidos, estabelecendo então um problema de saúde pública (CENTRO DE VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA, 2008).

Os bebedouros e as torneiras são considerados fontes potenciais de contaminação tanto de forma direta (através do consumo de água) quanto de forma indireta (a partir do contato com os mesmos), pelo fato de serem manuseados por diferentes pessoas com hábitos

de higiene desconhecidos. Igualmente, o uso da água durante atendimentos odontológicos também merece atenção, visto que esta entra em contato direto com a cavidade bucal do paciente, podendo expô-lo a microrganismos indesejáveis presentes na água (FRANÇA, 2016; LEITE et al., 2019).

Há vários tipos de doenças que podem ser originadas pelo contato com a água, pela presença direta de microrganismos ou pela presença de outros contaminantes. A contaminação pode ser devida a deficiências no saneamento básico, ocorrendo a contaminação da água por dejetos e por contato com esgoto. A falta de água também pode causar doenças, uma vez que, impede os processos de higiene adequada (FRANÇA, 2016).

Entre as doenças veiculadas pela água pode-se citar: giardíase, cólera, febre tifoide, amebíase, hepatite infecciosa, entre outras. Essas doenças ocorrem por ingestão de água contaminada por microrganismos transmitidos principalmente por via fecal-oral. Sendo assim, a análise microbiológica é um dos parâmetros avaliados para determinação da qualidade da água para consumo humano (FRANÇA, 2016).

A detecção de microrganismos patogênicos em amostras de água é um processo difícil, trabalhoso e de alto custo. Uma das dificuldades em isolar os microrganismos causadores das doenças de transmissão alimentar (DTA) é a baixa concentração destes, em razão da diluição após o contato com a água, o que demandaria a análise de grandes volumes de amostra para tornar possível a detecção. Além disso, essa busca específica por cada organismo patogênico é bastante trabalhosa e longa, visto que exige a utilização de diferentes meios de cultura e técnicas para realizar o isolamento dos mesmos, tornando os custos mais elevados. Em virtude disso, adota-se a identificação de microrganismos considerados indicadores de contaminação, neste caso, bactérias do grupo coliformes, que, por serem típicas do intestino sua presença na água indica a existência de material fecal, sendo inadequada para consumo (SPERLING, 2005; FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE (FUNASA), 2013).

Desta forma, os microrganismos indicadores dizem respeito aqueles que, quando presentes em uma amostra, podem indicar a presença de patógenos contaminantes. O indicador de contaminação da água refere-se principalmente ao grupo coliforme e de bactérias heterotróficas (FRANCO e LANDGRAF, 2008). Este grupo por sua vez é subdividido em coliformes totais (CT) e coliformes termotolerantes (ou fecais, CF), sendo utilizados para verificar as condições sanitárias da água. O principal microrganismo indicador de

contaminação de origem fecal é a espécie *Escherichia coli*, uma vez que é encontrada no intestino do homem e de animais de sangue quente, e sua presença pode indicar um tratamento inadequado da água distribuída. As análises microbiológicas irão detectar se existe ou não a presença de CT e CF, que por sua vez podem representar a presença de microrganismos patogênicos (FRANÇA, 2016).

Atualmente, para garantir a potabilidade da água, a Portaria número 2.914 de 12 de dezembro de 2011 do MS preconiza que seja verificada a ausência de CT e *E. coli* e determinada a contagem de bactérias heterotróficas nas amostras, estabelecendo a obrigatoriedade da ausência de CT e CF (representado por bactérias da espécie *E. coli*) em 100 mililitro (mL) de amostra e de no máximo 500 Unidades Formadoras de Colônias (UFC) por mL para a análise de bactérias heterotróficas (BRASIL, 2011).

À vista disso, a finalidade do presente trabalho é o de analisar, no aspecto microbiológico, amostras de água do Instituto de Saúde de Nova Friburgo (ISNF), campus da Universidade Federal Fluminense (UFF), pesquisando e quantificando bactérias heterotróficas, CT e CF, através dos métodos de tubos múltiplos (Número Mais Provável – NMP) e da técnica de *Pour Plate*. Posteriormente, comparar os resultados obtidos com os parâmetros exigidos pela legislação, portaria número 2.914 de 12 de dezembro de 2011 do MS - Portaria da Potabilidade (BRASIL, 2011).

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

A água consiste de um recurso essencial à vida. Sem esta, a sobrevivência em nosso planeta seria impossível, visto que as reações processadas nos seres vivos dependem da água. No princípio da humanidade, o aproveitamento da água era restrito a preparação de alimentos e bebidas, mas com o decorrer do tempo, o acréscimo de hábitos higiênicos e o desenvolvimento da indústria, propiciou um aumento considerável em seu consumo. Atualmente, o homem necessita de água qualitativa e quantitativamente adequada para atender todas suas necessidades higiênicas, alimentares, industriais e outras (SOUZA, 2002).

As atividades humanas, econômicas ou não, demandam recursos hídricos para a produção industrial, agropecuária, geração de energia, segurança, lazer, alimento e higiene, ou seja, para a própria sobrevivência. Os principais usos da água têm gerado conflitos de demanda e os sinais de escassez tornaram-se cada vez mais frequentes com reflexos desastrosos para a sociedade. Grandes cidades e polos de produção agrícola enfrentam atualmente o desafio crescente do uso racional e preservação deste recurso natural (FUNASA, 2015, p. 68).

“O abastecimento público de água em termos de quantidade e qualidade é uma preocupação crescente da humanidade, devido à escassez do recurso água e a deterioração das águas dos mananciais” (BRASIL, 2005, p. 20). A maior parte da água disponível no planeta é salgada (cerca de 95,1%), sendo imprópria para consumo humano. Do restante, 4,7% encontra-se em regiões subterrâneas de difícil acesso ou em geleiras, restando apenas 0,15% de água apta para o consumo disponível em nascentes, lagos e lençóis subterrâneos (BETTEGA et al., 2006; SCHAZMANN et al., 2008; CARVALHO et al., 2009).

A água tem influência direta sobre a saúde, a qualidade de vida e o desenvolvimento do ser humano. Para a Organização Mundial da Saúde (OMS) e seus países membros, “todas as pessoas, em quaisquer estágios de desenvolvimento e condições socioeconômicas têm o direito de ter acesso a um suprimento adequado de água potável e segura”. “Segura”, no que se refere a

uma oferta de água que não represente um risco significativo à saúde, com quantidade suficiente para atender a todas as diversas necessidades domésticas, que esteja disponível continuamente e que tenha um custo acessível (ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE (OPAS), 2001, p. 1).

## 2.1 PADRÃO DE QUALIDADE DA ÁGUA

A pureza da água pode ser alterada pelos diferentes componentes presentes nela, apresentando características físicas, biológicas e químicas que podem ser traduzidas na forma de parâmetros de qualidade da água (SPERLING, 2005).

A qualidade da água é de responsabilidade do Estado, que deve assegurar a gestão adequada dos recursos hídricos, e também da população que deve usar o recurso conscientemente. A garantia de segurança e de potabilidade da água depende do funcionamento correto de diversas etapas que vão desde o tratamento até a distribuição da mesma e caso alguma delas apresente falhas em seu processo, pode desencadear um processo de contaminação (BRASIL, 2011).

A legislação em vigor que refere-se ao padrão de potabilidade é a Portaria número 2.914 de 12 de dezembro de 2011 do MS, que dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano. A portaria estabelece que seja verificada a ausência de CT e *E. coli* e determinada a contagem de bactérias heterotróficas em 100 mL da amostra (BRASIL, 2011).

## 2.2 MICRORGANISMOS INDICADORES

A avaliação da presença de microrganismos patogênicos na água é determinada pela presença ou ausência de um organismo indicador e sua respectiva população, devido às dificuldades de alcançar o isolamento de microrganismos patogênicos em amostras de água, como comentado anteriormente. Para estes fins, existem diferentes metodologias específicas, sendo difícil a detecção concomitante de todos os microrganismos capazes de causar doenças por veiculação hídrica (BETTEGA et al., 2006).

Em função desta limitação no isolamento de microrganismos patogênicos, a avaliação da sua presença é realizada pela detecção de microrganismos indicadores. Assim

estes organismos são utilizados, pois podem ser detectados em todos os tipos de água, normalmente são uma população numerosa, além de apresentar resistência semelhante ou mesmo superior a microrganismos patogênicos (BETTEGA et al., 2006).

De maneira geral, microrganismos indicadores são grupos ou espécies que fornecem informações sobre a possível contaminação de origem fecal e a provável presença de patógenos. Estes “vêm sendo utilizados na avaliação da qualidade microbiológica da água há longo tempo” (FRANCO e LANDGRAF, 2008, p. 27).

Para ser definido como microrganismo indicador, é necessário considerar alguns critérios, tais como: a detecção precisa ser fácil, rápida e de baixo custo; sua quantidade/número deve estar correlacionada com a do patógeno, de forma a facilitar sua detecção e relacionar-se com o índice de contaminação; não estar presente como contaminante natural, pois desta forma sua detecção não indicará, necessariamente, a presença de material fecal ou de patógenos; é necessário que esteja presente sempre que o patógeno associado estiver; suas necessidades e velocidade de crescimento precisam ser semelhantes às do patógeno em questão; sua resistência/sobrevivência deve ser relativamente superior à do patógeno; ter uma população mais numerosa no ambiente que outros patógenos, entre outros. No entanto, nem sempre todas essas características estão presentes, ou seja, não existe um indicador ideal de qualidade da água, mas sim alguns microrganismos que se aproximam destes requisitos (FRANCO e LANDGRAF, 2008).

### 2.2.1 COLIFORMES TOTAIS E FECAIS

Para avaliação das condições sanitárias da água, utiliza-se organismos indicadores de contaminação fecal. Estes por sua vez são predominantemente não patogênicos, mas indicam a provável contaminação da água por fezes humanas ou de animais e, conseqüentemente, a sua potencialidade para transmitir doenças. Bactérias do grupo coliformes são consideradas as principais indicadoras de contaminação fecal. As principais razões pelas quais este grupo é comumente utilizado com tal finalidade são as seguintes: as fezes humanas apresentam grande quantidade de coliformes, com isto, a probabilidade de detecção é maior; apresentam resistência moderadamente superior à maioria das bactérias patogênicas intestinais, o que representa uma vantagem, pois mesmo após a morte de possíveis microrganismos patogênicos, ainda há a possibilidade de detectar a contaminação através da presença destes

indicadores; os mecanismos de remoção nas estações de tratamento são os mesmos para os coliformes e bactérias patogênicas; além das técnicas para detecção apresentarem facilidade e baixo custo (SPERLING, 2005; NÚCLEO SUDESTE DE CAPACITAÇÃO E EXTENSÃO TECNOLÓGICA EM SANEAMENTO AMBIENTAL (NUCASE), 2007).

Os CT são bacilos gram-negativos, aeróbios ou anaeróbios facultativos, não formadores de esporos, capazes de fermentar a lactose com produção de ácido, gás e aldeído a  $35,0 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$  em 24-48 horas. A maioria das bactérias que fazem parte desse grupo são pertencentes aos gêneros *Escherichia*, *Citrobacter*, *Klebsiella* e *Enterobacter*. A aplicação do grupo dos CT como indicador específico de contaminação fecal é limitada, visto que o grupo também inclui gêneros que não são de origem exclusivamente fecal (FRANCO e LANDGRAF, 2008; FUNASA, 2013; COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO (CETESB), 2018).

Em virtude da limitação do grupo dos CT como citado acima, desenvolveu-se “métodos de enumeração de um subgrupo de coliformes denominados fecais (coliformes termotolerantes), os quais são diferenciados dos coliformes totais pela sua capacidade de fermentar a lactose em temperatura elevada ( $44,5^{\circ}\text{C}$ )” em 24 horas (CETESB, 2018, p. 3). Como principal representante deste grupo, tem-se a *E. coli*, microrganismo de origem exclusivamente fecal (FUNASA, 2013).

### 2.2.2 BACTÉRIAS HETEROTRÓFICAS

A contagem de bactérias heterotróficas é realizada pela determinação da densidade de bactérias que são capazes de produzir UFC, na presença de compostos orgânicos contidos no meio de cultura não-seletivo e rico em nutrientes em que a amostra é semeada, favorecendo a multiplicação de uma ampla faixa de bactérias (BRASIL, 2005). A contagem padrão de bactérias é importante durante a análise da água, visto que permite avaliar a eficiência das várias etapas do tratamento (FUNASA, 2013).

### 2.3 DOENÇAS VEICULADAS PELA ÁGUA

Estima-se que a cada ano 5 milhões de pessoas morram de alguma doença associada a água não potável. Na América Latina e Caribe, 168 milhões de pessoas vivem sem

abastecimento de água, sendo as enfermidades associadas a água uma das principais causas de mortalidade (OPAS, 2001).

Assim a qualidade da água exerce influência direta sobre a saúde, logo, apresentar-se fora dos padrões de qualidade favorece a ocorrência de doenças podendo até ocasionar epidemias. Os riscos à saúde variam entre curto, médio e longo prazo, a depender do tipo de contaminante (elementos químicos ou microbiológicos por exemplo) e do tempo de consumo (dias, meses ou anos). Existem diferentes mecanismos de transmissão de doenças através da água, e de acordo com isso, essas infecções podem ser classificadas em quatro categorias:

1) **Transmissão hídrica**, ocorre quando há ingestão de água contaminada por urina, fezes, bactérias ou vírus patogênicos. Neste caso podemos citar hepatite infecciosa, cólera, leptospirose, febre tifoide e diarreias agudas. As formas de prevenção destas doenças são: educação sanitária, saneamento e melhoria do estado nutricional dos indivíduos, bem como a implantação do sistema de abastecimento e tratamento da água com fornecimento em quantidade e qualidade para uso e consumo humano, além da proteção dos mananciais e fontes de água de contaminação;

2) **Transmissão relacionada à higiene**, por falta de limpeza da água ou contato de água contaminada com pele ou olhos. Incluem enterobíase, conjuntivite bacteriana aguda, ascaridíase, entre outras. São formas de prevenção destas doenças a promoção da higiene pessoal e doméstica, além do fornecimento de água em quantidade adequada;

3) **Transmissão baseada na água** causada por parasitas presentes em organismos que vivem na água. Esquistossomose é um exemplo. As formas de prevenção consistem em evitar o contato com águas contaminadas, proteger mananciais, adotar medidas adequadas para disposição do esgoto e combater o hospedeiro intermediário;

4) **Transmissão por um inseto vetor**, na qual os transmissores são insetos com ciclo de vida na água ou cuja a picada ocorre próximo a ela. Como exemplos, podemos mencionar malária, dengue e filariose. A eliminação dos criadouros de vetores com inspeção sistemática e medidas de controle são métodos de prevenção destas doenças (OPAS, 2001; SPERLING, 2005; FUNASA, 2015).

As doenças relacionadas com a água podem estar associadas ao uso inadequado da água ou déficit da mesma (FUNASA, 2015). O quadro 1 exemplifica as principais doenças, agente etiológico e mecanismos de transmissão das doenças veiculadas pela água.

**Quadro 1-** Principais doenças veiculadas pela água, seus agentes etiológicos e mecanismos de transmissão.

Transmissão	Principais doenças/Agente etiológico
Hídrica	-Diarreias e disenterias, como cólera ( <i>Vibrio cholerae</i> ) e giardíase ( <i>Giardia lamblia</i> ); -Febre tifoide ( <i>Salmonella typhi</i> ); -Leptospirose ( <i>Leptospira</i> sp.); -Amebíase ( <i>Entamoeba histolytica</i> ); -Hepatite infecciosa (vírus “A” e “E”);
Relacionada à higiene	-Enterobíase ( <i>Enterobius vermicularis</i> ); -Conjuntivite (vírus e bactérias); -Ascaridíase ( <i>Ascaris lumbricoides</i> ).
Baseada na água	-Esquistossomose ( <i>Schistosoma mansoni</i> ).
Por inseto vetor	-Malária ( <i>Plasmodium vivax</i> , <i>Plasmodium falciparum</i> , <i>Plasmodium malariae</i> ); -Dengue (DENV 1, 2, 3 e 4); -Febre amarela (vírus do gênero <i>Flavivirus</i> ); -Filariose ( <i>Wuchereria bancrofti</i> ).

Fonte: Adaptado de Manual de Saneamento-FUNASA, 4ª edição (2015).

À redução da incidência e prevalência de diversas DTAs, como a doença diarreica, caminha em conjunto a qualidade e a quantidade de água que chega a população, sendo importantes para o estabelecimento dos benefícios à saúde (QUEIROZ, HELLER e SILVA, 2009).

Fundamentado nestas informações, entende-se que existe a necessidade da realização de exames microbiológicos para o monitoramento da qualidade da água do ISNF da UFF para verificar se as mesmas se encontram em condições de potabilidade que não ofereça risco à saúde da população, neste caso, os universitários e funcionários do campus que utilizam o bebedouro e a torneira, e os pacientes atendidos na clínica odontológica.

### **3. OBJETIVO**

#### **3.1 GERAL**

Analisar microbiologicamente amostras de água adquiridas no ISNF da UFF.

#### **3.2 ESPECÍFICOS**

- Pesquisar a presença de CT e CF na água.
- Pesquisar e quantificar bactérias heterotróficas na água.
- Posteriormente, comparar os resultados obtidos com os parâmetros exigidos pela legislação vigente, portaria número 2.914 de 12 de dezembro de 2011 do MS.

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 LOCAL DE ESTUDO

O presente estudo foi desenvolvido nas dependências do ISNF-UFF. Todas as análises foram realizadas no laboratório Multidisciplinar I do campus.

### 4.2 AMOSTRAGEM

Foram coletadas e analisadas o total de 6 amostras de água adquiridas de 3 pontos do ISNF-UFF, sendo obtidas 2 amostras em cada um dos pontos, identificadas como N1 e N2. Os locais analisados foram identificados como: A (torneira), B (bebedouro) e C (seringa tríplice da clínica odontológica).

A primeira coleta de água foi realizada no ponto (A) no dia 05 de agosto na parte vespertina. O ponto de coleta (A) trata-se de uma torneira de uso comum do laboratório multidisciplinar I, local onde todas as análises foram desenvolvidas. A segunda coleta de água foi realizada no ponto (B) no dia 12 de agosto na parte vespertina. O ponto de coleta (B) foi um dos bebedouros do campus, selecionado a partir do critério de maior utilização pelos alunos da universidade, localizado no prédio que compreende as salas de números 1 a 6. E por fim, a terceira coleta de água foi realizada no ponto (C) no dia 26 de agosto também na parte vespertina. O ponto de coleta (C) contemplou uma seringa tríplice utilizada no atendimento odontológico à população na clínica 4, no consultório 08. De cada ponto foram realizadas duas coletas designadas como N1 e N2, as mesmas foram realizadas entre os dias 5 e 26 de agosto de 2019 na parte da tarde e todas as amostras processadas no mesmo dia, logo após a coleta.

O procedimento de coleta do material foi executado com precaução utilizando-se luvas, a fim de evitar contaminação das amostras. Antes de iniciar, o local de coleta foi limpo com álcool 70% e aberto durante 2 minutos para escoar a água estagnada na tubulação. Em seguida prosseguiu-se com a coleta de 100 mL de água em sacos plásticos estéreis contendo pastilha de tiosulfato de sódio. Logo em seguida estas amostras foram identificadas e acondicionadas em caixas isotérmicas, sendo encaminhadas até o Laboratório multidisciplinar I para início das análises. A figura 1 demonstra o procedimento de coleta de amostras de água para exames microbiológicos.

**Figura 1-**Fases do procedimento de coleta de água para análise microbiológica.



Fonte: OMS, 1998 (adaptado)

Fonte: Manual Prático de Análise de Água- FUNASA (2013)

#### 4.3 MÉTODOS DE ANÁLISE

Os métodos empregados foram escolhidos de acordo com a recomendação da FUNASA, descrita no manual prático de análise de água (2013). A pesquisa de bactérias heterotróficas, CT e CF, foi realizada através dos métodos de tubos múltiplos e *Pour Plate*.

O método *Pour Plate* fundamenta-se na semeadura em profundidade com *Plate Count Agar* (PCA) em duplicata, permitindo a contagem de microrganismos presentes, neste caso de bactérias heterotróficas, na amostra analisada, obtendo então o número de colônias de bactérias por mL de amostra ou UFC/mL.

A pesquisa de CT e CF deu-se através do método de tubos múltiplos, que consiste na determinação do NMP de bactérias do grupo coliforme em 100 mL de água, utilizando a tabela NMP com limite de confiança de 95% para várias combinações de resultados positivos quando 5 tubos são usados para cada diluição (10 mL, 1,0 mL e 0,1 mL) segundo o Manual Prático de Análise de Água da FUNASA, disponível no anexo 1. Esta técnica é baseada no princípio de que bactérias presentes na amostra podem ser separadas por agitação, resultando em uma suspensão de células bacterianas, uniformemente distribuídas na amostra. A técnica consiste na inoculação de volumes decrescentes da amostra em meio de cultura adequado ao crescimento dos microrganismos pesquisados, sendo cada volume inoculado em uma série de 5 tubos. A combinação de resultados de tubos positivos e negativos permite a obtenção de uma estimativa da densidade de bactérias presentes na amostra pela aplicação de cálculos de probabilidade (FUNASA, 2013; CETESB, 2018).

Trata-se de uma técnica baseada no *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater- APHA/American Public Health Association*, sendo constituída por três etapas:

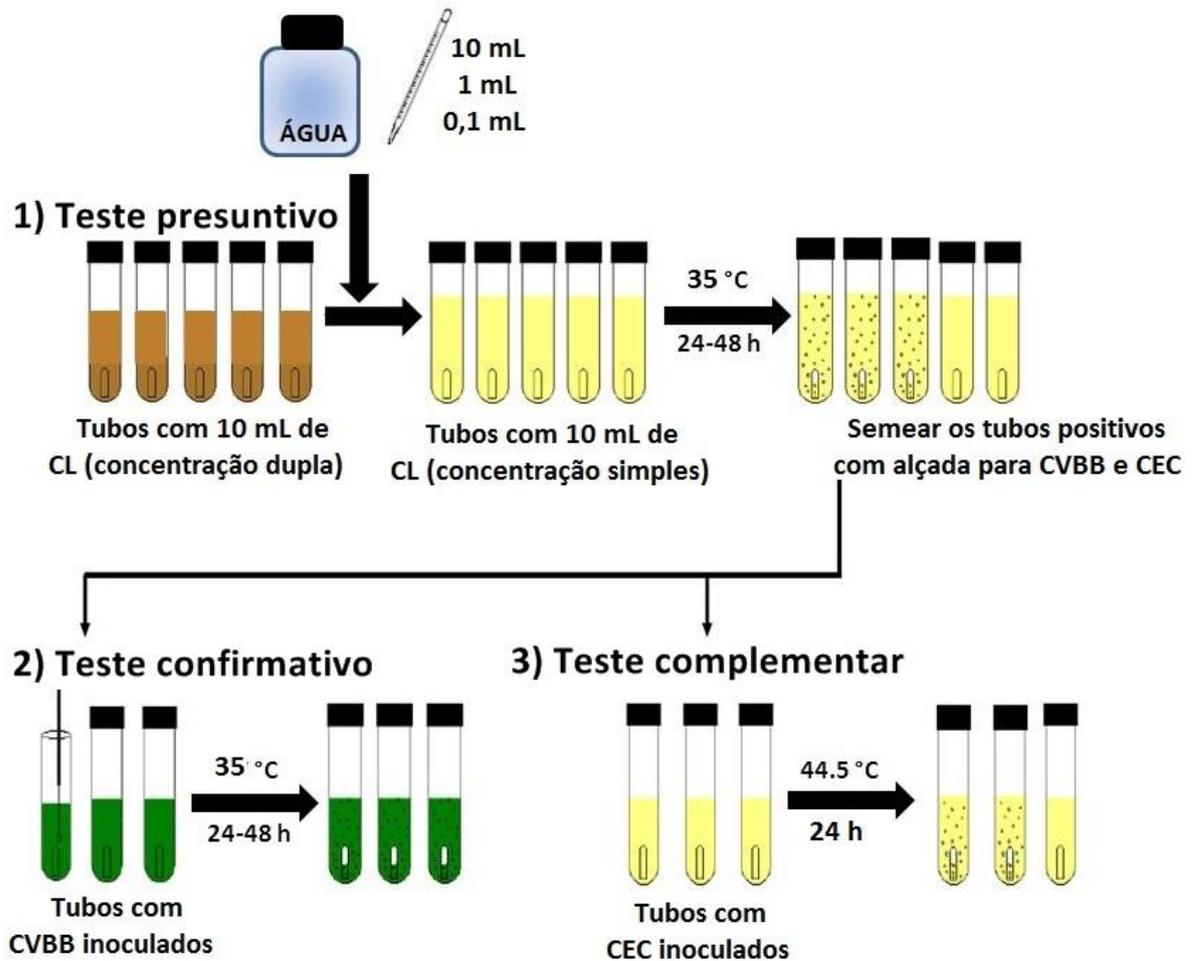
1) **o teste presuntivo**, que presume a presença de bactérias do grupo coliforme contaminantes na água através da formação de gás e/ou turvação do caldo lactosado (CL) de concentração dupla e de concentração simples, após incubação de 24-48 horas a  $35 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ . A turbidez do meio (com ou sem produção de gás) se dá pela fermentação da lactose ocasionando acidificação no meio de cultura, sendo considerado positivo os tubos com formação de gás. Não havendo tubos positivos o exame termina nessa fase e o resultado é considerado negativo;

2) **o teste confirmativo**, é realizado a partir dos tubos considerados positivos para o teste presuntivo, com o objetivo de confirmar a presença de CT através da produção de gás a partir da semeadura em meio caldo verde bile brilhante 2% (CVBB) por 24-48 horas a  $35 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ , como representado na figura 2. Esta etapa é importante pois reduz a possibilidade de ocorrência de resultados falsos-positivos, decorrentes da atividade de bactérias esporuladas e de bactérias Gram-positivas fermentadoras da lactose;

3) e por fim, a **terceira etapa**, a fim de **detectar a presença de coliformes termotolerantes/fecais** e *E. coli* nas amostras de água que por sua vez é executada

utilizando o caldo *Escherichia coli* (CEC), através da observação ou não de formação de gás após incubação a temperaturas elevadas ( $44,5 \pm 0,2 \text{ }^\circ\text{C}$ ) por 24 horas. Todas as etapas podem ser observadas na figura 2.

**Figura 2-** Etapas da análise de água.



Nota: CL - caldo lactosado; CVBB – caldo verde bile brilhante; CEC – caldo *Escherichia coli*.

Fonte: Adaptado de Instituto Tecnológico de Morelia.

#### 4.3.1 PESQUISA DE BACTÉRIAS HETEROTRÓFICAS

O procedimento de pesquisa de bactérias heterotróficas consiste na contagem de colônias, ou seja, detecção da quantidade de bactérias presente na amostra, expressando o resultado em UFC por 1 mL de cada amostra. O método baseia-se na semeadura em profundidade com PCA, permitindo o crescimento de uma variedade de microrganismos.

O PCA foi preparado e autoclavado, após foi incubado em estufa bacteriológica para o teste de esterilidade. Antes de dar início ao processo de semeadura em profundidade, o PCA foi fundido em banho-maria, visto que o mesmo se solidifica após o resfriamento. Na capela de fluxo laminar, com auxílio de pipeta estéril uma alíquota de 1 mL da amostra foi adicionada em placa de Petri estéril e logo após o PCA previamente fundido foi acrescentado e imediatamente realizou-se movimentos circulares para homogeneização do conteúdo. Após solidificação, a placa foi incubada a  $35 \pm 0,5^\circ\text{C}$  durante 48 horas. Ao final do período de incubação, foi realizada a leitura.

Os cálculos para determinação de UFC foram dados da seguinte forma: realizou-se a contagem de colônias nas placas que apresentaram entre 30 e 300 colônias, e nos casos em que a contagem foi superior, realizou-se então a divisão da placa em quadrantes, sendo feita a contagem de um quadrante para se obter a estimativa do número total de UFC da placa. Visto que cada amostra foi semeada em duplicata, realizou-se a média aritmética das contagens das duas placas. O resultado foi expresso em notação científica.

#### 4.3.2 TESTE PRESUNTIVO

O teste presuntivo permite obter uma estimativa da presença de bactérias do grupo coliformes, mas para a confirmação faz-se necessário testes posteriores.

O meio de cultura para inoculação da amostra é o CL de concentração simples e dupla preparados em tubos contendo tubos de Durhan invertidos. Todos foram submetidos ao processo de autoclavação por 15 minutos a  $121^\circ\text{C}$  para esterilização do meio e posteriormente levados até uma estufa bacteriológica para teste de esterilidade.

Com pipeta estéril, inoculou-se 10 mL da amostra de água em 5 tubos Falcon contendo CL de concentração dupla (diluição 1:1 ou  $10^{-1}$ ), posteriormente inoculou-se 1 mL de amostra em 5 tubos de ensaio com CL de concentração simples (diluição 1:10 ou  $10^{-2}$ ) e por fim 0,1 mL em 5 tubos de ensaio contendo CL de concentração simples (diluição 1:100 ou  $10^{-3}$ ). Este processo foi executado com todas as 6 amostras. Todos os tubos foram levados à estufa bacteriológica e incubados a  $35 \pm 0,5^\circ\text{C}$  durante 48 horas. Após 48 horas, foi feita a

leitura, sendo considerados como positivos os tubos que apresentaram bolhas e turvação do meio, indicando que houve a fermentação da lactose presente no meio.

#### 4.3.3 TESTE CONFIRMATIVO

Este teste é a segunda etapa do método de tubos múltiplos e tem como finalidade a detecção e confirmação da presença de coliformes nas amostras de água examinadas, visto que o teste anterior é apenas presuntivo. O meio usado neste método é o CVBB, considerado seletivo para bactérias do grupo coliformes, visto que é capaz de separar os coliformes de outras bactérias pois contém bile bovina e verde brilhante, inibindo o crescimento de bactérias Gram-positivas e também de Gram-negativas que não sejam coliformes. Após o preparo do meio o mesmo foi autoclavado e submetido ao teste de esterilidade.

Foram selecionados tubos considerados com crescimento (apresentaram bolhas e/ou turvação do meio) no teste presuntivo para prosseguir com o teste confirmativo e o teste complementar. A partir destes tubos com crescimento, com uma alça de platina previamente flambada transferiu-se uma alíquota de cada um para os tubos correspondentes contendo CVBB. Incubou-se os tubos por 48 horas a  $35 \pm 0,5$  °C, e após esse tempo foi realizada a leitura. O resultado expresso em NMP foi determinado consultando a tabela disponível no Manual Prático de Análise de Água da FUNASA (2013).

#### 4.3.4 TESTE COMPLEMENTAR

Este teste é realizado simultaneamente ao teste confirmativo para CT, e tem por objetivo verificar a presença de CF na água. Refere-se ao subgrupo das bactérias do grupo coliforme capazes de sobreviver e fermentar a lactose em condições de temperaturas elevadas, sendo a *E. coli* sua principal representante.

O meio empregado na execução do teste foi o CEC, composto por lactose e uma mistura de sais biliares a 0,15%, que por sua vez inibem o crescimento de bactérias formadoras de esporos e estreptococos, favorecendo o crescimento de *E. coli*. Após o preparo do meio o mesmo foi esterilizado em autoclave durante 15 minutos a 121°C, e em seguida submetido ao teste de esterilidade em estufa bacteriológica.

Com uma alça de platina previamente flambada e fria, transferiu-se uma porção do crescimento em CL para tubos de ensaio contendo CEC. Estes foram incubados em banho-maria a  $44,5 \pm 0,2^\circ\text{C}$  por 24 horas. A presença de CF é confirmada quando há crescimento com formação de gás após esse período de incubação.

#### 4.3.5 SEMEADURA EM ÁGAR NUTRIENTE

O ágar nutriente é um meio de cultura empregado com a finalidade de isolar microrganismos em culturas puras, pois fornece nutrientes que favorecem o crescimento bacteriano.

As placas de PCA com crescimento de bactérias heterotróficas foram selecionadas para a semeadura em ágar nutriente. De cada placa de PCA, colônias selecionadas foram semeadas com a alça bacteriológica previamente flambada e fria, através da técnica de esgotamento em uma placa contendo ágar nutriente com o objetivo de isolar o microrganismo. Incubou-se a placa por 48 horas a  $35 \pm 0,5^\circ\text{C}$ , e após esse período foram realizados testes complementares.

#### 4.3.6 SEMEADURA EM ÁGAR MANITOL SALGADO (AMS)

O AMS é um meio de cultura cuja a finalidade é o isolamento e a identificação principalmente de bactérias do gênero *Staphylococcus* (cocos Gram-positivos). A fermentação do manitol com a produção de ácido acarreta a mudança da cor do meio de rosado a amarelo. A interpretação se dá através de observação da cor do meio de cultura e da morfologia das colônias. As colônias de estafilococos não fermentadoras do manitol apresentam-se em tamanho pequeno e rodeadas de uma zona vermelha, enquanto as colônias de *Staphylococcus aureus* são fermentadoras do manitol e maiores e rodeadas de uma zona amarelada.

Colônias isoladas em ágar nutriente foram repicadas para placas contendo AMS, para avaliar se as amostras de água apresentavam a presença por estafilococos.

#### 4.3.7 TÉCNICA DE GRAM

Uma colônia de cada placa contendo ágar nutriente foi selecionada para a realização da coloração de Gram. Esta técnica é um método de coloração que tem por objetivo diferenciar bactérias a partir das colorações que adquirem após tratamento com reagentes específicos. As bactérias que adquirem a coloração azul violeta são chamadas de Gram-positivas e aquelas que adquirem a coloração vermelha são chamadas de Gram-negativas.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Segundo as normas do MS, a água para o consumo humano deve responder aos padrões de potabilidade. A Portaria número 518, de 25 de março de 2004, diz sobre os procedimentos e responsabilidades relativos ao controle e vigilância da qualidade da água para consumo, bem como o seu padrão de potabilidade (BRASIL, 2005).

As 6 amostras coletas, como já mencionado na metodologia, foram inoculadas em tubos contendo CL de concentração dupla e de concentração simples (teste presuntivo) e em placas com PCA para a detecção de bactérias heterotróficas no mesmo dia em que foram coletadas. De acordo com os resultados obtidos após os períodos de incubação, prosseguiu-se com o repique para CVBB (teste confirmativo) e CEC (teste complementar).

A coleta das amostras N1 e N2 do ponto A (torneira) foi realizada no dia 05/08/2019 durante a tarde. Ao final do período de incubação das placas de PCA, constatou-se a ausência de crescimento em N1, bem como em N2.

No teste presuntivo, observou-se que 2 dos 5 tubos com diluição  $10^{-1}$  de N1 apresentaram turbidez no meio e os outros 3 manifestaram a presença de pequenas bolhas (Figura 3). Em N2, 1 dos 5 tubos com diluição  $10^{-1}$  apresentou turbidez e bolhas foram observadas em 2 tubos, enquanto os outros 2 restantes permaneceram límpidos e sem bolhas. Os demais tubos de N1 e N2, nas diluições  $10^{-2}$  e  $10^{-3}$ , não apresentaram nenhum sinal de crescimento, ou seja, não houve turvação e formação de gás.



**Figura 3-**Demonstração de tubos com crescimento no CL de concentração dupla (diluição  $10^{-1}$ ) da análise de água do ponto A (torneira) do ISNF da UFF. Em A, observa-se a presença de bolhas e em B, turvação.

Prosseguiu-se com os testes confirmativo e complementar a partir dos 5 tubos de N1 e 3 tubos de N2 que apresentaram alguma alteração. Ao final dos testes houve ausência de turbidez e de produção de gás em N1 e N2, não sendo assim detectado CT e CF. A tabela 1 expõe os resultados dos testes referentes as amostras do ponto A.

**Tabela 1-** Resultados da análise bacteriológica das 2 amostras (N1 e N2) de água coletada do ponto A (torneira) do ISNF da UFF.

AMOSTRA	PCA(UFC/mL)	CL (dupla)	CL (simples)	CVBB	CEC
<b>N1</b>	Ausência de crescimento	5 tubos com crescimento	0	0	0
<b>N2</b>	Ausência de crescimento	3 tubos com crescimento	0	0	0

Legenda: PCA – *plate count agar*; CL – caldo lactosado; CVBB – caldo verde bile brilhante; CEC – caldo *Escherichia coli*.

Os resultados alcançados neste estudo são compatíveis com uma pesquisa realizada em escolas públicas do Rio de Janeiro, onde Fortuna e Franco (2006) analisaram 22 amostras coletadas de torneiras localizadas nas cozinhas de diferentes instituições. Todas as amostras

apresentaram resultados negativos para CT e CF, obtendo-se então resultados satisfatórios e dentro dos padrões estabelecidos pela legislação. Igualmente, em outro estudo todas as amostras que contemplaram os 22 pontos de coleta (incluindo laboratórios, bebedouros, entre outros) avaliados por Schazmann et al. (2008) no campus III da Universidade Federal do Paraná (Curitiba) foram negativas para CT e CF.

Diferentemente, resultados positivos que indicaram contaminação foram encontrados por outro trabalho. Uma pesquisa realizada por Moura et al. (2002) analisou um total de 20 escolas, submetendo as amostras ao método dos tubos múltiplos para pesquisa CT e CF, do qual 35% apresentaram positividade, destacando a importância da constante vigilância da qualidade de água das torneiras do ISNF, da UFF.

No dia 12/08/2019 à tarde, foi executada a coleta das amostras N1 e N2 do ponto B (bebedouro). As amostras foram inoculadas em placas contendo PCA, onde, após 48 horas de incubação não foi identificado crescimento de bactérias heterotróficas.

Nos tubos de CL de concentração dupla (diluição  $10^{-1}$ ) ao final de 48 horas de incubação, todos os tubos de N1 também apresentaram-se sem crescimento e bolhas. Já em N2, observou-se em 3 tubos a presença de bolhas (Figura 4). Entretanto, não foi evidenciado crescimento nas outras diluições, nestes casos não sendo necessário prosseguir para os testes confirmativo e complementar.



**Figura 4-** Demonstração de tubos considerados positivos (com a presença de bolhas) no CL de concentração dupla (diluição  $10^{-1}$ ) da análise de água do ponto B (bebedouro) do ISNF da UFF.

A partir dos tubos com crescimento da amostra N2 (diluição  $10^{-1}$ ) foi realizado o inóculo nos tubos CVBB e CEC, onde obteve-se apenas tubos negativos, o que indica a ausência de CT e CF na amostra. A tabela 2 expõe os resultados dos testes referentes as amostras do ponto B.

**Tabela 2-** Resultados da análise bacteriológica das 2 amostras (N1 e N2) de água coletada do ponto B (bebedouro) do ISNF da UFF.

AMOSTRA	PCA(UFC/mL)	CL (dupla)	CL (simples)	CVBB	CEC
<b>N1</b>	Ausência de crescimento	0	0	-	-
<b>N2</b>	Ausência de crescimento	3 tubos com crescimento	0	0	0

Legenda: PCA – *plate count agar*; CL – caldo lactosado; CVBB – caldo verde bile brilhante; CEC – caldo *Escherichia coli*.

A análise microbiológica da água de bebedouros de instituições de ensino já foi avaliada anteriormente por outros estudos, com resultados variáveis, em alguns casos indicando condições de potabilidade adequada, e em outros condições inadequadas.

Em um estudo feito por Vieira et al. (2011), 38 amostras obtidas de escolas municipais da cidade de Alfenas (Minas Gerais) foram analisadas e nenhuma delas apresentou CT e CF. De modo semelhante, Costa et al. (2015) realizaram análises microbiológicas em amostras provenientes de bebedouros de 4 escolas do Município de Matias Barbosa (Minas Gerais), onde foi observado que nenhuma amostra apresentou a presença de CT, *E. coli* e bactérias heterotróficas. O resultado do presente estudo também pode ser comparado ao mesmo feito por Elpo, Gomes e Espínola (2016) em Curitiba, onde 48 amostras provenientes de 16 pontos de coleta (incluindo laboratórios, bebedouros, entre outros) na Subsede do Setor de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Paraná foram avaliadas através do método de tubos múltiplos, e nenhuma demonstrou resultado positivo para CT e CF, comprovando assim a potabilidade da água.

Por outro lado, Zulpo et al. (2006) avaliaram 47 amostras de bebedouros da Universidade Estadual do Centro-Oeste no Paraná, sendo identificadas 4 amostras (8,5%)

positivas para CT e 1 amostra (2%) para CF, evidenciando que em três bebedouros a água, sob o ponto de vista bacteriológico, estava imprópria para o consumo humano. Resultados insatisfatórios também foram encontrados por França (2016) que ao analisar 12 amostras de bebedouros distribuídos na Universidade de Rio Verde, observou que em relação à presença de CF, todas eram negativas, porém 9 amostras (75%) apresentaram bactérias do grupo CT, sendo então consideradas impróprias para consumo, mais uma vez destacando a importância da vigilância constante na análise de água dos bebedouros do ISNF.

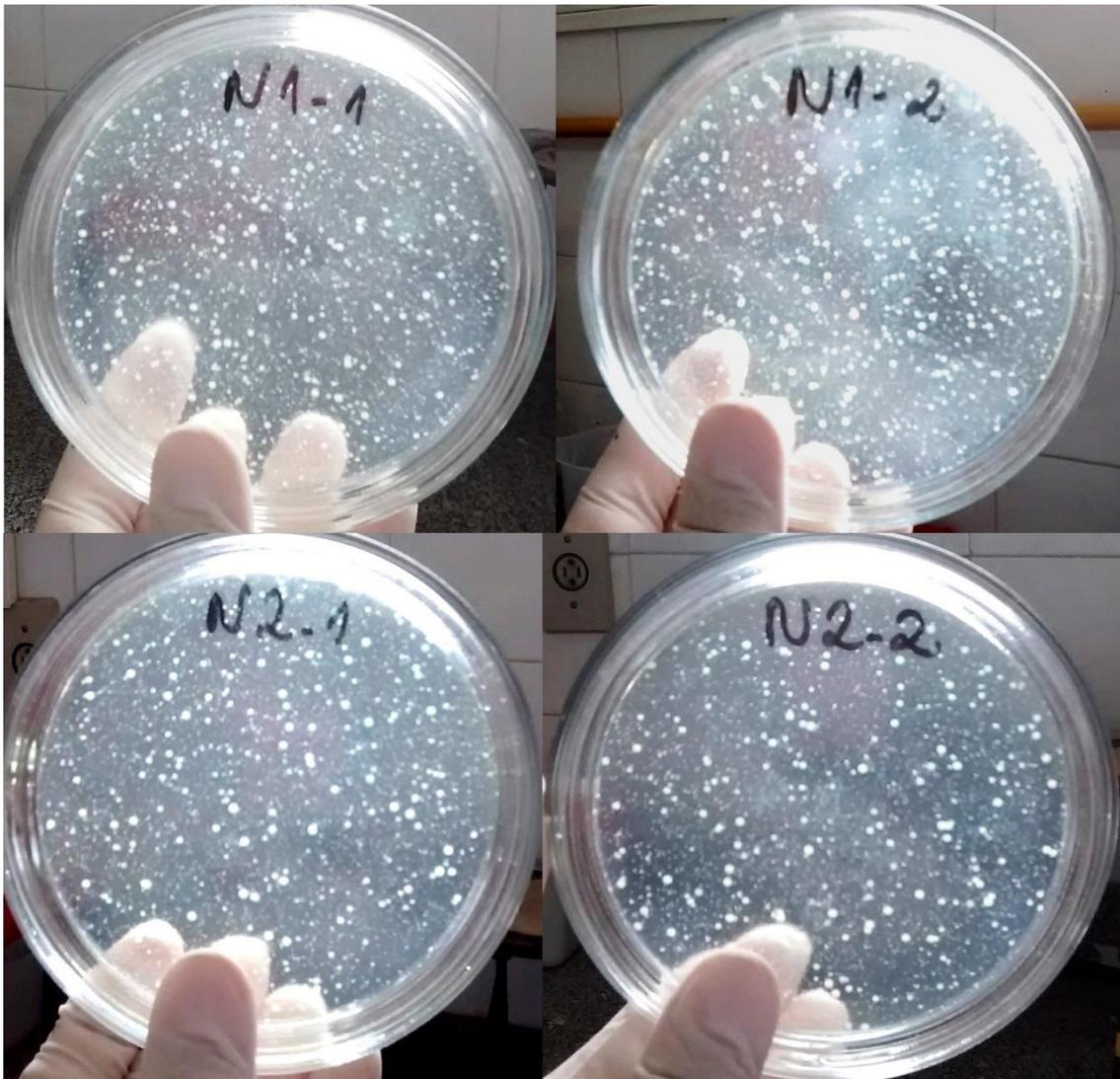
A ausência de crescimento microbiano nas placas de PCA mesmo em amostras com crescimento no CL pode ser decorrente de algumas variáveis na execução do método de *Pour Plate*, como por exemplo a temperatura elevada do ágar ao ser misturado à amostra e o pequeno volume de amostra utilizado (1mL).

A coleta das amostras N1 e N2 do ponto C (seringa tríplice da clínica odontológica) ocorreu na tarde do dia 26/08/2019. Neste caso, identificou-se o crescimento de numerosas colônias nas placas com PCA onde as amostras foram inoculadas (Figura 5). Em N1-1, foram contadas 300 UFC em um quadrante, que multiplicando por 4 encontra-se uma estimativa de 1200 UFC/mL na placa. Em N1-2, encontrou-se 220 UFC em um quadrante, obtendo a estimativa de 880 UFC/mL. Realizando a média aritmética das duas placas de N1, tem-se cerca de 1040 UFC/mL na amostra. Em N2-1, a contagem foi de 235 UFC em um quadrante, deste modo, a estimativa foi de 940 UFC/mL na placa. Já em N2-2, foram contadas 250 UFC, resultando em uma estimativa de 1000 UFC/mL. A média aritmética das duas placas de N2 foi de 970 UFC/mL presentes na amostra. Assim podemos expressar o resultado:

$$N1 \text{ e } N2: > 500 \text{ UFC} \text{ -----} > 5,0 \times 10^2 \text{ UFC/ mL}$$

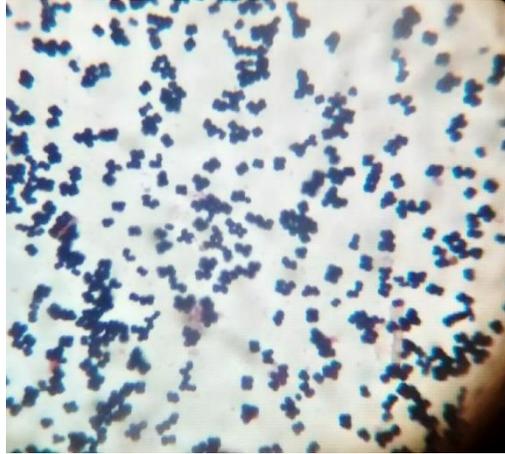
Os métodos para pesquisa de CT, CF e bactérias heterotróficas na água são os principais preconizados. Entretanto, em casos de crescimento microbiano nas placas de PCA decidiu-se aplicar testes complementares na tentativa de aprofundar um pouco mais a pesquisa. Foram observadas colônias de três aspectos diferentes nas placas de PCA: brancas, em tons amarelo e azul claro. Estas colônias foram repicadas separadamente para ágar nutriente e posteriormente, repicadas para AMS, porém, neste último houve pouco crescimento não sendo evidenciado a fermentação do manitol que seria indicativo da presença de *S. aureus* e sim colônias avermelhadas, indicando provavelmente a presença de

outros estafilococos, o que não apresenta relevância, visto que o patógeno de maior importância como cocos gram-positivo causador de DTAs é *S. aureus*. Por isso, não houve necessidade de continuar a análise, visto que esse crescimento sem mudança da coloração do AMS é indicativo da ausência de *S. aureus*.



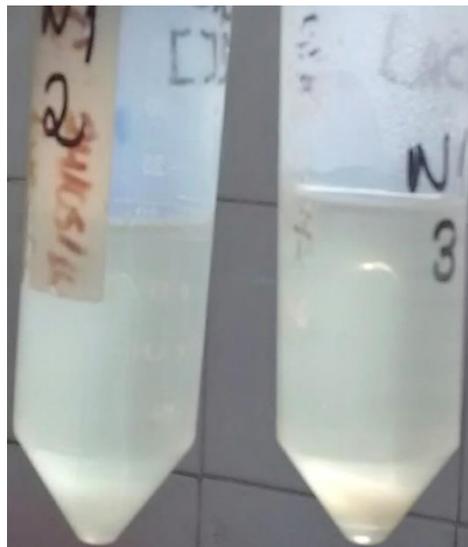
**Figura 5-** Demonstração de placas de PCA com crescimento de bactérias heterotróficas das amostras N1 e N2 da análise de água do ponto C (seringa tríplice da clínica odontológica) do ISNF da UFF.

A partir do crescimento em ágar nutriente, um esfregaço foi preparado e realizado a coloração de Gram simultaneamente ao processo de repique para AMS. Foi possível observar na microscopia Cocos gram-positivos (Figura 6).



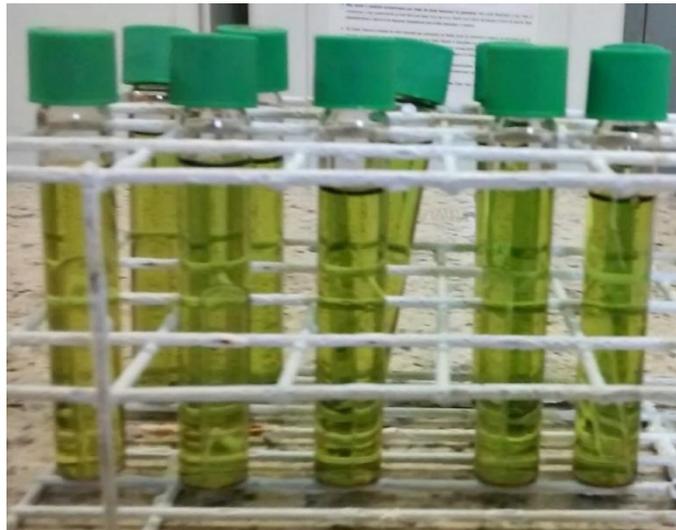
**Figura 6-** Demonstração da coloração de Gram, evidenciando cocos Gram-positivos presentes nas amostras com crescimento de bactérias heterotróficas da análise de água do ponto C (seringa tríplice da clínica odontológica) do ISNF da UFF.

Nos tubos com CL de concentração dupla (diluição  $10^{-1}$ ) de N1 e N2 da amostra do ponto C (seringa tríplice da clínica odontológica) não houve produção de gás com formação de bolhas, mas foi possível observar turbidez no meio e produção de biofilme no fundo dos 5 tubos das duas amostras (Figura 7). Os demais tubos de N1 e N2, com diluições  $10^{-2}$  e  $10^{-3}$ , não apresentaram crescimento, ou seja, não houve turvação e nem produção de gás.

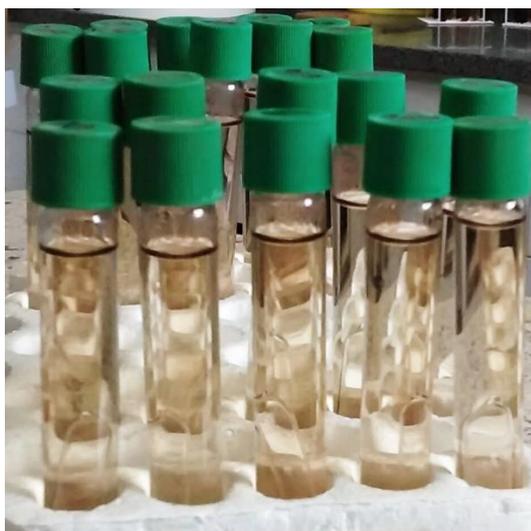


**Figura 7-** Demonstração de tubos considerados positivos (com crescimento) no CL de concentração dupla (diluição  $10^{-1}$ ) da análise de água do ponto C (seringa tríplice da clínica odontológica) do ISNF da UFF.

A partir dos tubos de CL de concentração dupla (diluição  $10^{-1}$ ) com crescimento foram executados os testes seguintes, realizando o repique para tubos contendo CVBB e CEC. Ao final, não houve crescimento, considerando negativas as amostras para CT e CF (Figuras 8 e 9). Os resultados do ponto C (seringa tríplice da clínica odontológica) podem ser verificados na tabela 3.



**Figura 8-** Demonstração de tubos contendo CVBB com resultado negativo da análise de água do ponto C (seringa tríplice da clínica odontológica) do ISNF da UFF.



**Figura 9-** Demonstração de tubos contendo CEC com resultado negativo da análise de água do ponto C (seringa tríplice da clínica odontológica) do ISNF da UFF.

**Tabela 3-** Resultados da análise bacteriológica das 2 amostras (N1 e N2) de água coletada do ponto C (seringa tríplice da clínica odontológica) do ISNF da UFF.

AMOSTRA	PCA(UFC/mL)	CL (dupla)	CL (simples)	CVBB	CEC
<b>N1</b>	1040 UFC/mL	5 tubos com crescimento	0	0	0
<b>N2</b>	970 UFC/mL	5 tubos com crescimento	0	0	0

Legenda: PCA – *plate count agar*; CL – caldo lactosado; CVBB – caldo verde bile brilhante; CEC – caldo *Escherichia coli*.

A qualidade da água utilizada nos equipamentos odontológicos também deve corresponder aos parâmetros exigidos pela Portaria do MS nº 518, de 25 de março de 2004. Esta qualidade tem sido alvo de muitos estudos e a maioria destes indica a falta de potabilidade (BRASIL, 2005).

França e Oliveira (2015) realizaram a análise microbiológica da água de seringas tríplíce em uma faculdade privada de Maringá (Paraná). Foram coletadas 10 amostras e em relação a bactérias heterotróficas observou-se que 4 delas estavam com crescimento confluyente (número de colônias incontáveis), e em outras 4 com contagem acima do nível recomendado pelo MS (maior que 500 UFC/mL) e apenas 2 apresentaram-se dentro dos valores permitidos (abaixo de 500 UFC/mL), como demonstrado na tabela 4. Entretanto, todas as amostras apresentaram ausência de CT.

Os resultados de França e Oliveira são semelhantes aos encontrados por Leite et al. (2019), que da mesma forma não encontraram a presença de CT e *E.coli* nas 10 amostras de seringas tríplíce de 5 clínicas odontológicas, no entanto vale destacar que não foi pesquisada a presença de bactérias heterotróficas.

**Tabela 4-** Avaliação do nível de contaminação de bactérias heterotróficas em UFC e CT em 100 mL de água analisada em equipamentos odontológicos.

EQUIPO	BACTÉRIAS HETEROTRÓFICAS(UFC/mL)	COLIFORMES TOTAIS
<b>1 (Cadeira 14)</b>	564	Ausente
<b>2 (Cadeira 16)</b>	Confluente	Ausente
<b>3 (Cadeira 24)</b>	Confluente	Ausente
<b>4 (Cadeira 26)</b>	548	Ausente
<b>5 (Cadeira 29)</b>	632	Ausente
<b>6 (Cadeira 31)</b>	Confluente	Ausente
<b>7 (Cadeira 43)</b>	400	Ausente
<b>8 (Cadeira 48)</b>	484	Ausente
<b>9 (Cadeira 53)</b>	Confluente	Ausente
<b>10 (Cadeira 55)</b>	640	Ausente
<b>Torneira 26</b>	416	Ausente

Fonte: Adaptado de França e Oliveira (2015)

O uso de água contaminada no atendimento odontológico aumenta os riscos tanto para o profissional como para o paciente, podendo transmitir microrganismos, causando infecções cruzadas. É preocupante o seu uso principalmente em procedimentos cirúrgicos e em pacientes comprometidos imunologicamente. A contaminação da água da seringa tríplice pode suceder por sucção dos microrganismos da própria boca do paciente para o interior das tubulações e posterior colonização bacteriana, ou pelo crescimento de microrganismos no reservatório de água. O ideal é que seja feito um monitoramento da água utilizada nas clínicas odontológicas para que casos de contaminação sejam detectados precocemente, para que medidas corretivas e preventivas sejam estabelecidas (FRANÇA e OLIVEIRA, 2015).

O equipo odontológico trata-se do equipamento onde são montados e suportados os instrumentos ativos de trabalho do cirurgião dentista (dentre eles, a seringa tríplice), bem como os mecanismos que permitem o funcionamento destes. O reservatório de água acoplado ao equipo deve ser retirado de sua conexão após a conclusão dos atendimentos do dia, eliminando a água retida no mesmo e lavando-o com água corrente, detergente líquido e escova para frascos. Após isso, 100 mL de solução de ácido peracético a 1% deve ser

adicionado ao recipiente, que é rosqueado ao equipo novamente e a seringa tríplice ou botão de sistema de assepsia da tubulação são acionados até esgotar a solução do frasco. No dia seguinte, deve-se recarregar o frasco com água potável e acionar a seringa tríplice ou botões do equipo para eliminar a solução de ácido peracético 1% da tubulação, deixando-a assim preenchida com água potável. Outro mecanismo utilizado é o sistema de descontaminação por cloração (Flush) composto por hipoclorito de sódio a 0,05% principalmente, usado na tubulação por 30 segundos antes do início do atendimento de cada paciente. Estes procedimentos visam eliminar o biofilme microbiano e manter as tubulações livres de sujidades e desinfetadas, minimizando a possível propagação de microrganismos. Concomitantemente a estes procedimentos, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) recomenda que seja efetuada a limpeza periódica dos reservatórios e também a análise da qualidade da água, a cada seis meses (CONSELHO REGIONAL DE ODONTOLOGIA DO PARANÁ, [2010-2012]; BRASIL, 2006; GALVÃO, MOTTA e ALVAREZ-LEITE, 2006).

A água que chega ao equipo é a mesma consumida pela população, deste modo, pode conter uma pequena quantidade de microrganismos heterotróficos até 500 UFC/mL. No entanto, algumas vezes a água utilizada na seringa tríplice, pode apresentar-se fora dos padrões de potabilidade devido a formação de biofilme na mangueira do equipamento. Biofilmes são formados por microrganismos que colonizam e replicam sobre a superfície interna das tubulações de água e, uma vez estruturado, este biofilme funciona como reservatório, ampliando significativamente o número de microrganismos existentes (BRASIL, 2006; WATANABE, 2007).

Um estudo desenvolvido por Galvão, Motta e Alvarez-Leite (2006) na Faculdade de Odontologia da Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais avaliou a contaminação da água das tubulações de equipamentos odontológicos e a eficácia do sistema de descontaminação por cloração (Flush). A pesquisa compreendeu amostras de água obtidas de 7 equipos odontológicos, provenientes do reservatório de água potável e da conexão das tubulações antes e após utilização do Flush. Observou-se que o nível de contaminação das amostras nas conexões do equipamento era superior ao encontrado no reservatório e, após a execução do sistema de descontaminação, houve redução dos microrganismos presentes na tubulação, tornando-a adequada para o procedimento clínico. Os autores concluíram que a contaminação da água decorreu, possivelmente, do biofilme formado nas tubulações e que a

utilização do sistema Flush reduziu o número de microrganismos aeróbios presentes na tubulação. Os resultados podem ser observados na tabela 5.

**Tabela 5-** Avaliação do nível de contaminação de microrganismos aeróbios na água de equipamentos odontológicos (UFC/mL).

EQUIPAMENTO	ÁGUA DO RESERVATÓRIO	APÓS O ATENDIMENTO	APÓS A DESCONTAMINAÇÃO
<b>1 (Cadeira 03)</b>	-	Incontáveis	202
<b>2 (Cadeira 05)</b>	04	52	23
<b>3 (Cadeira 11)</b>	-	28	01
<b>4 (Cadeira 12)</b>	01	Incontáveis	01
<b>5 (Cadeira 26)</b>	-	-	-
<b>6 (Cadeira 27)</b>	-	09	-
<b>7 (Cadeira 29)</b>	-	02	-

Fonte: Adaptado de Galvão, Motta e Alvarez-Leite (2019).

No presente estudo, os resultados relacionados a bactérias heterotróficas das amostras N1 e N2 da seringa tríplice apresentaram-se além do limite permitido pela legislação, de 500 UFC/mL. Este achado pode ser justificado pelo fato de que a coleta foi realizada no início do semestre, após um período em que ainda não se estava realizando atendimentos na clínica odontológica, sendo assim, o equipamento ficou inativo por algumas semanas, o que pode ter propiciado a formação de biofilme. Além disso, o resultado encontrado pode ser também consequência de um processo inadequado ou insuficiente de higienização/desinfecção do recipiente de armazenamento da água que abastece a seringa tríplice e da tubulação do equipamento. Os dados obtidos durante a pesquisa de Galvão, Motta e Alvarez-Leite (2006), já comentado anteriormente, demonstram a importância da utilização de um sistema de descontaminação, que quando bem executado, culmina com a redução da quantidade de microrganismos e conseqüentemente, minimiza as chances de infecções.

Entretanto, não se pode afirmar que a água está realmente imprópria para utilização nos atendimentos odontológicos, visto que apenas duas coletas foram realizadas e tratou-se

justamente do início do segundo semestre letivo, período de pouco movimento na clínica. Para melhor avaliar as condições microbiológicas da água da clínica odontológica, faz-se necessário coletar um maior número de amostras e em dias alternados durante as atividades na clínica a fim de obter uma estimativa adequada e identificar se os resultados corresponderiam aos mesmos encontrados no presente estudo. Como citado anteriormente, segundo a ANVISA, recomenda-se que a análise da qualidade da água utilizada em equipamentos odontológicos seja avaliada periodicamente, sendo assim uma forma de monitoramento e controle, a fim de detectar possíveis falhas nos processos de limpeza e desinfecção, possibilitando a implantação de estratégias para assegurar a qualidade da água (BRASIL, 2006).

Ao final das análises, determinou-se o NMP de todas as amostras verificando a combinação formada pelo número de tubos positivos que apresentaram as diluições 1:1 ( $10^{-1}$ ), 1:10 ( $10^{-2}$ ) e 1:100 ( $10^{-3}$ ) no teste confirmativo. Uma vez que nenhum dos tubos foi positivo, formou-se a combinação 0-0-0. Portanto, o NMP/100mL das amostras são os seguintes (tabela 6):

**Tabela 6-** NMP obtido dos resultados positivos quando 5 tubos são usados para cada diluição (segundo o anexo 1), das amostras de água (N1 e N2) coletadas dos pontos A (torneira), B (bebedouro) e C (seringa tríplice da clínica odontológica) do ISNF da UFF.

PONTO	AMOSTRA	COMBINAÇÃO	NMP/100mL
A	N1	0-0-0	< 2
	N2	0-0-0	< 2
B	N1	0-0-0	< 2
	N2	0-0-0	< 2
C	N1	0-0-0	< 2
	N2	0-0-0	< 2

Observou-se em relação a CT e CF, que 100% das amostras analisadas atendem aos parâmetros microbiológicos exigidos pela legislação vigente, Portaria nº 2.914/2011 do MS conforme observado na Tabela 7. Foi possível observar que a água da torneira e do bebedouro

sofreu tratamento adequado antes da sua distribuição, logo, as condições higiênico-sanitárias estão satisfatórias e não apresenta risco de comprometimento à saúde dos estudantes e funcionários que desfrutam da mesma. Em contrapartida, observou-se que a água proveniente da seringa tríplice utilizada na clínica odontológica não atendeu aos padrões quando relacionados a quantidade de bactérias heterotróficas, ultrapassando o limite de 500 UFC/mL, fazendo-se necessário a realização de novas coletas, com o objetivo de confirmar os resultados e assim avaliar com maior precisão a qualidade microbiológica da água.

**Tabela 7-**Parâmetros microbiológicos exigidos pela Portaria nº 2.914/2011 do Ministério da Saúde e os resultados obtidos da análise das amostras dos pontos A (torneira), B (bebedouro) e C (seringa tríplice da clínica odontológica) do ISNF da UFF.

PARÂMETROS	PORTARIA	PONTO A	PONTO B	PONTO C
<b>Bactérias heterotróficas</b>	< 500 UFC/mL	< 1 UFC/mL	< 1 UFC/mL	>500 UFC/mL
<b>Coliformes totais</b>	Ausência/100mL	Ausente	Ausente	Ausente
<b><i>Escherichia coli</i></b>	Ausência/100mL	Ausente	Ausente	Ausente

No Brasil, o âmbito da vigilância da qualidade da água para consumo humano está vinculado ao MS por meio da Programação das Ações Prioritárias de Vigilância em Saúde (PAP/VS), que possui o papel de instrumento técnico para o Sistema Nacional de Vigilância Epidemiológica e Saúde Ambiental. A meta é conseguir detectar precocemente fatores de risco à saúde da população, bem como a ocorrência de surtos e epidemias e desencadear medidas para prevenir e controlar doenças e demais agravos. Assim, estudos que avaliem a qualidade da água utilizada pela população mostram-se importante (BRASIL, 2005; DANTAS et al., 2010).

## 6. CONCLUSÃO

Analisando os resultados obtidos neste trabalho observa-se que, 4 amostras (aproximadamente 67%) de água ofertada no ISNF-UFF apresentaram qualidade bacteriológica satisfatória, ou seja, dentro dos padrões de potabilidade estabelecidos pela portaria número 2.914 de 12 de dezembro de 2011 do MS, uma vez que os resultados demonstraram ausência de crescimento para CT e CF em 100 mL de amostra, bem como para a ausência de bactérias heterotróficas. Por outro lado, 2 amostras (33%) apresentaram ausência de CT e CF mas encontraram-se além dos limites permitidos concernente a bactérias heterotróficas.

Conclui-se assim que a água dos pontos A (torneira) e B (bebedouro) atendem aos parâmetros microbiológicos exigidos pela lei em vigor, não apresentando riscos aos que a utilizam, e a água do ponto C (seringa tríplice) necessita ser avaliada através de novas pesquisas devido a detecção de mais de 500 UFC/mL de bactérias heterotróficas, visando obter dados mais detalhados e, caso necessário, medidas corretivas e preventivas sejam implantadas.

Faz-se necessário um procedimento constante de monitoramento e manutenção da água da instituição no âmbito do controle microbiológico, a fim de minimizar os riscos de propagação de enfermidades de transmissão hídrica e garantir a todos do campus a utilização da água segura e de qualidade.

**REFERÊNCIAS:**

BETTEGA, Janine Maria Pereira Ramos et al. Métodos analíticos no controle microbiológico da água para consumo humano. *Ciência e Agrotecnologia*, v. 30, n. 5, p. 950-954, 2006.

BRASIL, Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Serviços Odontológicos: Prevenção e Controle de Riscos. Brasília: Ministério da Saúde, 2006. 156 p., 2006.

BRASIL, Ministério da Saúde. Portaria nº 2914 de 12 de dezembro de 2011. Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. *Diário Oficial da União*, Brasília, 12 de dezembro de 2011. Seção 1, p.26.

BRASIL, Ministério da Saúde. Portaria nº 518 de 25 de março de 2004. Estabelece os procedimentos e responsabilidades relativos ao controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade, e dá outras providências. *Diário Oficial da União*, Brasília, 2005. Secretaria de Vigilância em Saúde, Coordenação Geral de Vigilância em Saúde Ambiental.

BRASIL, Ministério da Saúde. *Programa Nacional de Vigilância em Saúde Ambiental Relacionada à Qualidade da Água para Consumo Humano*. Secretaria de Vigilância em Saúde. Coordenação-Geral de Vigilância em Saúde Ambiental. Brasília, 2005.

BRASIL, Ministério da Saúde. Decreto 79.367 de 09 de março de 1977. Dispõe sobre normas e o padrão de potabilidade de água e dá outras providências. Brasília: Ministério da Saúde.

CARVALHO, Darliane Rocha et al. Avaliação da qualidade físico-química e microbiológica da água de um Campus Universitário de Ipatinga – MG. *Revista Digital de Nutrição*, Ipatinga, 2009 Ago/Dez; 3(5): 417 – 427.

CENTRO DE VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA. *Vigilância Epidemiológica das doenças transmitidas por água e alimentos*. Coordenação de Vigilância Alimentar, 2008.

COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO (CETESB). Norma técnica L5.202. Coliformes totais, coliformes termotolerantes e *Escherichia coli* - Determinação pela técnica de tubos múltiplos. São Paulo, 2018. 29 p.

CONSELHO REGIONAL DE ODONTOLOGIA DO PARANÁ. *Controle de infecção e biossegurança- Procedimentos operacionais padrão*. Curitiba, [2010-2012].

COSTA, Tatiana de Assis et al. Avaliação da qualidade físico-química e microbiológica de águas de bebedouros de escolas do município de Matias Barbosa, Minas Gerais. *Revista Eletrônica Acervo Saúde/Electronic Journal Collection Health ISSN*, 2015, v. 7, p.736-741.

DANTAS, Amanda Katielle Dias et al. Qualidade microbiológica da água de bebedouros destinada ao consumo humano. *Revista Biociências*, v. 16, n. 2, 2010.

DOMINGUES, Vanessa Oliveira et al. Contagem de bactérias heterotróficas na água para consumo humano: comparação entre duas metodologias. *Saúde*, Santa Maria, vol 33, n 1: p 15-19, 2007.

ELPO, Eliane Rose Serpe; GOMES, Eliane Carneiro; ESPÍNOLA, Heloísa Máximo. Análise bacteriológica da água na Universidade Federal do Paraná—subsede do setor de Ciências da saúde, Jardim Botânico-campus III. *Revista Técnica Sanepar*, Paraná. v. 1, n. 1, p. 08-12, 2016.

FORTUNA, Jorge Luiz; FRANCO, Robson Maia. Enumeração de coliformes totais e termotolerantes, em água de abastecimento de cozinhas de instituições de ensino público. *Revista Higiene alimentar*, v. 20, n. 147, p. 38-39, 2006.

FRANÇA, Amanda Thalinni; OLIVEIRA, Renato Victor. Análise microbiológica da água da seringa tríplice. *Revista UNINGÁ Review*, v. 24, n. 2, 2015.

FRANÇA, Devid Lauriano. *Controle de qualidade microbiológico da água filtrada disponível nos bebedouros da UniRV- Universidade de Rio Verde*. 37 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) - Goiás, 2016.

FRANCO, Bernadette Dora Gombossy de Melo; LANDGRAF, Mariza. *Microbiologia dos Alimentos*. Atheneu, 2008. 192 p.

FREITAS, Marcelo Bessa. FREITAS, Carlos Machado. A vigilância da qualidade da água para consumo humano – desafios e perspectivas para o Sistema Único de saúde. *Ciência & Saúde Coletiva*. Rio de Janeiro: Fiocruz, 2005, 10(4): 993-1004.

FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE. *Manual Prático de Análise de Água*. Coordenação de controle da qualidade da água. Brasília, 4ª edição, 2013.

FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE. *Manual de saneamento*. Brasília, 4ª edição, 2015.

GALVÃO, Clarice Ferreira; MOTTA, Gustavo de Freitas; ALVAREZ-LEITE, Maria Eugênia. Análise quantitativa da contaminação da água das tubulações de equipamentos odontológicos. *Arquivo Brasileiro de Odontologia*, v. 48, p. 1-7, 2006.

INSTITUTO TECNOLÓGICO DE MORELIA. *Análisis de alimentos y agua de consumo del comedor del ITM*. Disponível em: [file:///C:/Users/Giliart/Documents/Faculdade/TCC/Apresentacao Trabalhos Monograficos de Conclusao %20de Curso Ed 10.pdf](file:///C:/Users/Giliart/Documents/Faculdade/TCC/Apresentacao%20Trabalhos%20Monograficos%20de%20Conclusao%20de%20Curso%20Ed%2010.pdf). Acesso em: 27 nov. 2019.

LEITE, Gabryela Linhares et al. Qualidade da água em clínicas odontológicas: análises, microbiologia e saúde pública. *Temas em saúde*. João Pessoa: FIP, 2019.

MOURA, Geraldo Jorge Barbosa et al. *Análise bacteriológica da água em escolas públicas*. Universidade Federal de Pernambuco, 2002.

NÚCLEO SUDESTE DE CAPACITAÇÃO E EXTENSÃO TECNOLÓGICA EM SANEAMENTO AMBIENTAL (NUCASE). *Esgotamento sanitário-qualidade da água e controle da poluição*. Guia do profissional em treinamento. Nível 2. Secretaria Nacional de Saneamento Ambiental. Belo Horizonte. ReCESA, 2007. 100 p.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DE SAÚDE. *Água e Saúde*. 2001.

QUEIROZ, Josiane Teresinha Matos; HELLER, Léo; SILVA, Sara Ramos. Análise da correlação de ocorrência da doença diarreica aguda com a qualidade da água para consumo humano no município de Vitória-ES. *Saúde e Sociedade*, v. 18, p. 479-489, 2009.

ROCHA, Elissandro Santos et al. Análise microbiológica da água de cozinhas e/ou cantinas das instituições de ensino do município de Teixeira de Freitas (BA). *Revista Baiana de Saúde Pública*, Bahia. v. 34, p. 694-705, 2010.

SCHAZMANN, Roberta Dotta et al. Avaliação da qualidade bacteriológica da água consumida no campus III (Jardim Botânico) da Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Brasil. *Visão Acadêmica*, v. 9, n. 2, 2008.

SOUZA, Teresinha Gomes Sales. *Água potável Garantia de Qualidade de Vida. Universidade Federal do Piauí*, 2002.

SPERLING, Marcos Von. *Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos*. 3ª edição. Minas Gerais: UFMG, 2005. 452 p.

VIEIRA, Juliana Maria Martins et al. Análise microbiológica da água de bebedouros de escolas municipais da cidade de Alfenas. *Revista Higiene alimentar*, p. 115-118, 2011.

WATANABE, Evandro. *Água do equipo odontológico: técnicas convencionais e modernas para avaliar a contaminação microbiana*. 2007. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

ZULPO, Dauton Luiz et al. Avaliação microbiológica da água consumida nos bebedouros da Universidade Estadual do Centro-Oeste, Guarapuava, Paraná, Brasil. *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina, v. 27, n. 1, p. 107-110, 2006.

## ANEXO 1

**Anexo 1-** NMP com limite de confiança de 95% para várias combinações de resultados positivos quando 5 tubos são usados para cada diluição (10 mL, 1,0 mL e 0,1 mL)

Combinação de positivos	NMP./100 mL	Limites	
		Inferior	Superior
0-0-0	< 2	-	-
0-0-1	2	1.0	10
0-1-0	2	1.0	10
0-2-0	4	1.0	13
1-0-0	2	1.0	11
1-0-1	4	1.0	15
1-1-0	4	1.0	15
1-1-1	6	2.0	18
1-2-0	6	2.0	18
2-0-0	4	1.0	17
2-0-1	7	2.0	20
2-1-0	7	2.0	21
2-1-1	9	3.0	24
2-2-0	9	3.0	25
2-3-0	12	5.0	29
3-0-0	8	3.0	24
3-0-1	11	4.0	29
3-1-0	11	4.0	29
3-1-1	14	6.0	35
3-2-0	14	6.0	35
3-2-1	17	7.0	40
4-0-0	13	5.0	38
4-0-1	17	7.0	45
4-1-0	17	7.0	46
4-1-1	21	9.0	55
4-1-2	22	12	63
4-2-0	26	9.0	56
4-2-1	26	12	65
4-3-0	27	12	67
4-3-1	33	15	77
4-4-0	34	16	80
5-0-0	23	9	86
5-0-1	30	10	110
5-0-2	40	20	140
5-1-0	30	10	120
5-1-1	50	20	150
5-1-2	60	30	180
5-2-0	50	20	170
5-2-1	70	30	210
5-2-2	90	40	250
5-3-0	80	30	250
5-3-1	110	40	300
5-3-2	140	60	360
5-3-3	170	80	410
5-4-0	130	50	390
5-4-1	170	70	480
5-4-2	220	100	560
5-4-3	280	120	690
5-4-4	350	160	820

Continuação

Continuação da tabela 1

Combinação de positivos	NMP./100 mL	Limites	
		Inferior	Superior
5-5-0	240	100	940
5-5-1	300	100	1300
5-5-2	500	200	2000
5-5-3	900	300	2900
5-5-4	1600	600	5300
5-5-5	1600	-	-

Fonte: Manual Prático de Análise de Água- FUNASA (2013)