

Eixo Temático ET-02-004 - Saneamento Ambiental

ANÁLISE MICROBIOLÓGICA UTILIZANDO A TÉCNICA DE TUBOS MÚLTIPLOS EM AMOSTRA DE POÇO ARTESIANO DA CIDADE DE BREJO DA MADRE DE DEUS

Marcos Antônio de Araújo Filho, Ana Maria Araújo de Freitas, Anthony Brayn Araújo de Freitas, Edineide de Barros Silva, Janaina Ricarte da Silva, Janiele da Silva Mattos, Joana Suelânia da Silva Lima, João Pedro Peixoto, Henrique John Pereira Neves

Universidade Tabosa de Almeida –ASCES-UNITA – Ambiente mais Verde

RESUMO

A água é de fundamental importância para todos os segmentos da vida, sendo assim um meio indispensável. Nosso corpo é composto basicamente por água, nosso contem aproximadamente 75% de água. A água utilizada para o consumo humano é o principal meio de transmissão de patógenos que são capazes de causar infecções gastrointestinais, na qual é de fundamental importância o controle desses microrganismos. A maioria das epidemias que afligiram as populações humanas e que se tornaram de caráter generalizado teve um marco inicial na rede de distribuição de água. A água pode estar sendo contaminada em qualquer parte, seja ela na nascente, transporte ou armazenamento. Os índices mais elevados de contaminação por bactérias apontam que em sua totalidade as que se encontram com maior abundância é as do grupo de bactérias coliformes totais e fecais. Deve-se pensar em investimentos que protejam os reservatórios da contaminação por desejos humanos e animais, evitando que a população seja contaminada por vírus, bactérias, helmintos e protozoários. Esse tipo de contaminação é um ciclo que consiste na rota fecal-oral, ou seja indivíduos contaminados defecam e por sua vez contamina o recurso hídrico, esse recurso seja usado no preparo de alimento e bebidas, contaminando por consequências outro indivíduos, que fará parte do mesmo ciclo. Segundo a Organização Mundial De Saúde (OMS), determina um padrão para água potável, ela tem que estar límpida, transparente, sem odores e cheiros, sem qualquer microrganismo que possa vir a causar doenças para os seres humanos e sem nenhum agente possa causar prejuízos a saúde de forma geral. O método tradicional e que é mais utilizado para a enumeração de coliformes é a técnica de fermentação por tubos múltiplos, é uma técnica trabalhosa e demorada, necessita de uma grande quantidade de vidrarias e culturas, necessitando também de um longo período de incubação, podendo passar até 96 horas para que possa fazer a enumeração. Em nosso trabalho a quantidade de horas para a identificação foi exatamente essa 96 horas, ou seja, 4 dias. Na maioria dos países em desenvolvimento, em consequência das precárias condições de saneamento e da má qualidade da água, diversas doenças diarreicas de veiculação hídrica, como, por exemplo, febre tifoide, cólera, salmonelose, shigelose e outras gastroenterites, poliomielite, hepatite A, verminoses, amebíase e giardíase, eram responsáveis por vários surtos epidêmicos e pelas elevadas taxas de mortalidade infantil, relacionadas à água de consumo humano.

Palavras-chave: Análise; Microbiologia; Coliformes totais; Termotolerantes.

INTRODUÇÃO

A água superficial e sub-superficial consumida pelo homem e pelo animal pode ser adversamente afetada pelo mau manejo e contaminação dos solos. Contaminação pode incluir microrganismos inofensivos e patogênicos, metais pesados, elementos tóxicos, excesso de nutrientes, elementos orgânicos voláteis e não voláteis, explosivos, isótopos radioativos e fibras inaláveis (MORETTI, 2008).

A água para consumo humano, sem tratamento adequado, apresenta -se como um dos principais veículos de parasitas e microrganismos causadores de doenças, tornando-se um importante elemento de risco à saúde da população que a consome. Dentre os patógenos mais comuns, incluem-se *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Escherichia coli*, *Campylobacter*, dentre outros (FREITAS, 2002).

A água é essencial para o consumo humano, a qualidade da água é de extrema importância para a saúde humana, pois, como outros elementos, a água serve de habitat para muitos microrganismos o uso da água de má qualidade pode acarretar até a morte. A água que é utilizada para beber deve passar por tratamentos, para a eliminação de microrganismos patogênicos.

O grupo coliforme é dividido em coliformes totais e coliformes termotolerantes ou fecais (MACÊDO, 2001).

Os coliformes totais são um grupo de bactérias que contem bacilos gram-negativos, aeróbios ou anaeróbios facultativos, não formadores de esporos, oxidase-negativa, capazes de crescer na presença de sais biliares ou outros compostos ativos de superfície, com propriedades similares de inibição de crescimento, e que fermentam a lactose com produção de ácidos, aldeídos e gás a 35°C em 24-48 horas. Este grupo contém os seguintes gêneros: *Escherichia*, *Citrobacter*, *Enterobacter* e *Klebsiella* (BETTEGA, 2006). O grupo inclui cerca de 20 espécies, dentre as quais encontram-se tanto bactérias originárias do trato gastrointestinal de humanos e outros animais homeotérmicos, como também diversos gêneros e espécies de bactérias não entéricas (SILVA et al., 2005).

Coliformes fecais ou coliformes termo tolerantes são bactérias capazes de desenvolver e/ou fermentar a lactose com produção de gás a 44 °C, em 24 horas. A principal espécie dentro desse grupo é a *Escherichia coli*. Essa avaliação microbiológica da água tem um papel destacado, em visto da grande variedade de microrganismos patogênicos, em sua maioria de origem fecal, que pode estar presente na água (BETTEGA, 2006). A presença de coliformes termotolerantes em água e alimentos é menos representativa, como indicação de contaminação fecal, do que a enumeração direta de *E. coli*, porém, muito mais significativa do que a presença de coliformes totais, dada a alta incidência de *E. coli* dentro do grupo fecal (SILVA et al., 2005).

OBJETIVO

Proporcionar uma análise microbiológica em uma amostra coletada em um determinado poço artesiano para que seja feita a comprovação da existência do grupo bacteriano coliformes totais e termotolerantes.

METODOLOGIA

O seguinte artigo trata sobre a análise microbiológica, visando à sanidade da água coletada. Para este procedimento utilizamos a técnica de tubos múltiplos para

confirmação da presença ou ausência de coliformes totais e coliformes termotolerantes, para avaliação da amostra.

A amostra de água foi coletada na cidade de Brejo da Madre de Deus - PE, localizada na região Agreste do Estado, com aproximadamente 45.180 habitantes (IBGE, 2010). A amostra de água coletada foi retirada de um poço artesiano que se encontra localizada na Rua Oscar Tavares de Souza, bairro centro. No ano de 2016 diversos poços artesanais foram perfurados na cidade, entretanto, este ponto foi escolhido por ser o mais procurado para retirada de água pela população brejense. A água coletada neste poço foi de cerca de 500 mL, e este foi encaminhado para o laboratório microbiológico do Centro Universitário Tabosa de Almeida.

A técnica de múltiplos tubos é indicado para determinação de microrganismos, tais como coliformes totais, coliformes termotolerantes, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, entre outros. Este método é simples, e requer 48 horas para o teste presuntivo seguido, de 48 horas para o teste confirmativo. Em tubos de ensaio com tubos de durhan, foi feita as diluições tanto para o teste presuntivo, quanto para o confirmativo. Em 5 tubos de ensaio com Caldo Lauril Sulfato Tryptose, foram diluídos 1mL da amostra em cada tubo para realização do teste presuntivo, homogeneizados e colocados na estante de tubo de ensaio por 48 horas. Após o resultado positivo do teste presuntivo, foram diluídos em mais 5 tubos de ensaio 1 mL da amostra, neles agora contendo Caldo Verde Bile Brilante, estes darão o resultado sobre coliformes totais; em mais 5 tubos de ensaio foram diluídos 1 mL da amostra, este agora com Caldo EC (*Escherichia coli*), este para resultado para coliformes termotolerantes. A positividade desses testes se dá pela presença de gás nos tubos de Durhan.

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

RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com Gregghi (2005), a água é um dos principais meios de transmissão de doenças, através do consumo humano, por causa da presença de microrganismos patogênicos. Existem técnicas laboratoriais capazes de identificar se há ou não a presença destes microrganismos em corpos d'águas.

A Técnica de Fermentação em Tubos Múltiplos (TFTM) é conhecida, também, como um método, bastante utilizado, para estimular o aparecimento de alguns microrganismos. Dentre estes, pode se destacar os coliformes totais e termotolerantes ou fecais (FRANCO e LANDGRAF, 2003).

No dia 7 de novembro de 2016, foi realizado a leitura das amostras do poço artesiano da cidade Brejo da Mare de Deus inoculadas, para que seja identificada a presença ou ausência de coliforme totais e termotolerantes ou fecais. A inoculação no meio de cultivo (CL) é um procedimento presuntivo.

“Este meio de cultura inibe o crescimento dos microrganismos Gram-positivos e encoraja o crescimento dos microrganismos coliformes. Os coliformes usam o oxigênio presente no meio e através da fermentação produzem ácido e gás sob condições anaeróbias. Se não existir produção de gás o resultado do teste é negativo, estabelecendo-se que não existem coliformes na amostra. A formação de gás (resultado positivo) determina a presença de coliformes na amostra” (ABELHO, 2011).

Para a realização da contagem presuntiva de coliformes totais, foi inoculado, em 5 tubos de ensaio, 1 mL da amostra no caldo lactosado (CL). A positividade foi indicada pelo crescimento e presença de gás nos tubos de Duhran, massa celular e o meio ficou turvo, nas 5 amostras, como mostra a Figura 1.

Carvalho (2012) afirma que o meio de cultura conhecido como verde brilhante (VB), inibe a presença de bactérias Gran-positivas, possibilitando a visualização das bactérias Gran-negativas. Após a leitura, foi visto a presença das bactérias de coliforme totais, nas 5 amostras. Pois, houve formação de gás nos tubos de Duhran, como mostra a Figura 2.

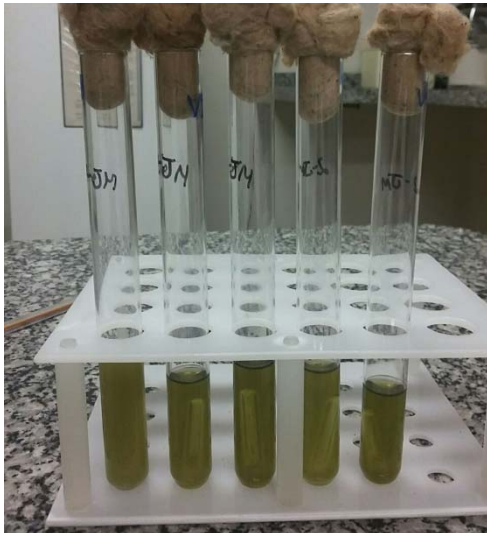


Foto 1: Amostras positivadas em CL.
Foto: Autores.

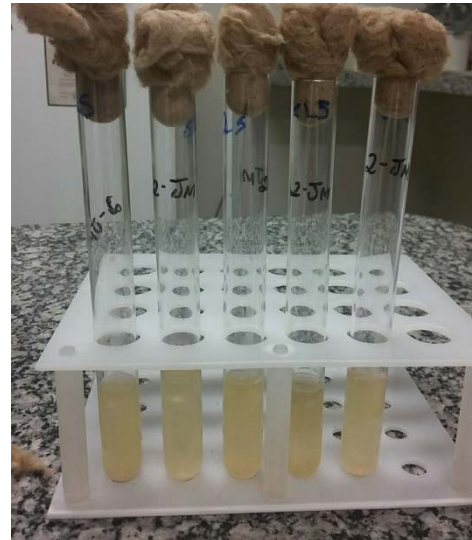


Figura 2: Amostras positivadas em VB.
Foto: Autores.

A presença de coliforme fecais foi observada a partir da inoculação de 1 mL da amostra em 5 tubos com meio de cultura EC. Com isso, foi encontrado a presença de coliformes termotolerantes ou fecais, pois houve formação de massa celular, gás e o meio também ficou turvo, como mostra a figura 3.

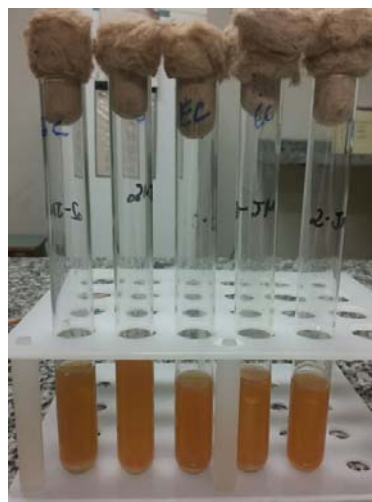


Figura 3: Posituação em meio EC.
Foto: Autores

CONCLUSÕES

A água é um bem público e essencial para a vida dos seres vivos. É um meio em que, apesar dos seus benefícios, pode trazer, para a população da cidade de Brejo da Madre de Deus ou de qualquer cidade que se utilize do poço artesiano, diversas doenças causadas pela presença de microrganismos, como os coliformes fecais.

“A água potável deve ser isenta de microrganismos patogênicos e de bactérias que indicam contaminação fecal. Tradicionalmente os indicadores de contaminação fecal estão no grupo de bactérias denominadas coliformes” (BETTEGA, 2006).

É importante salientar que deve ser feita a conscientização da população para que não destinem a água do poço artesiano para o consumo, devido a não potabilidade dela. Pois, segundo a Portaria MS Nº 2914/2011 diz que “água potável é a água que atenda ao padrão de potabilidade estabelecido nesta Portaria e que não ofereça riscos à saúde”.

REFERÊNCIAS

ABELHO, M. Protocolos de Microbiologia Ambiental. Coimbra, 2011

BETTEGA, J. M. P. R. et al. Metodos analiticos no controle microbiologico de agua para consumo humano. Cienc. agrotec., v. 30, n. 5, p. 950-954, 2006.

BRANCO, S. M. Água, meio ambiente e saúde. Águas Doces no Brasil. São Paulo: Escrituras Editora; 1999. p. 227-48.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria n.º 518 de 25 de março de 2004. Normas e Padrão da potabilidade de água destinada ao consumo humano. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, D.F., 26 de março de 2004, seção 1, p.266.

BRASIL. Portaria nº 291, de 2011.

CARVALHO, L. Preparo de Materiais em microbiologia, Meios de cultura usados no laboratório, técnicas de semeadura e Colorações. Juiz de Fora, 2012.

FRANCO, B.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. Atheneu: São Paulo, 2003.

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

GREGHI, S. 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. Araraquara, 2015.

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA Crescimento populacional de Caruaru-PE, 2010. Disponível em: <<http://cidades.ibge.gov.br/painel/painel.php?codmun=260410>>. Acesso em: 07 nov. 2016.

MORETTI, L. R. Apostila. Curso de Especialização em gerenciamento Ambiental (CEGEA). Piracicaba, 2008.

SILVA, L. M.; SOUZA, E. H., ARREBOLA, T. M.; JESUS, G. A. Ocorrência de um surto de hepatite A em três bairros do município de Vitória (ES) e sua relação com a qualidade da água de consumo humano. **Ciênc. saúde coletiva**, v.14, n.6, p.2163-2167, 2009.