

## PRESENÇA DE BACTÉRIA *ESCHERICHIA COLI* EM ÁGUA PROVENIENTE DE POÇOS ARTESIANOS NO MUNICÍPIO DE FERNANDÓPOLIS – SP

Midian Nickel Alves de SOUZA<sup>1</sup>  
 Carlos Eduardo Maia de OLIVEIRA<sup>2</sup>  
 Alessandra Cristina LEZO<sup>3</sup>  
 Cíntia Souza PEREIRA<sup>4</sup>  
 Lígia Cristina PIMENTA<sup>5</sup>

### RESUMO

As águas provenientes de poços artesianos podem ser contaminadas por águas residuais e excretas de origem humana ou animal, podendo conter micro-organismos patogênicos. A detecção de bactérias do grupo dos coliformes fecais na água, principalmente a espécie *Escherichia coli*, constitui-se em parâmetro confiável no estabelecimento do seu padrão de potabilidade. Baseando-se nisto e com o objetivo de se detectar a contaminação da água de poços artesianos por *E. coli*, na presente pesquisa foram coletadas 20 amostras de água em sete bairros da cidade de Fernandópolis – SP, provenientes de poços artesianos instalados em propriedades particulares. As amostras coletadas foram diluídas e inoculadas em tubos de ensaio contendo os caldos lauril – triptose e verde brilhante onde foram incubadas a 35°C durante 24 a 48 horas. As amostras também foram semeadas em meio de cultura seletivo EMB (*Eosina Metilene Blue*) e as colônias suspeitas submetidas a testes bioquímicos específicos. Foram ainda realizados esfregaços, corados pelo método de Gram e analisados em microscópio óptico, em objetiva de imersão. Das 20 amostras coletadas, quatro (20% do total) revelaram-se positivas para *E. coli*, sendo que duas destas (10% do total) foram coletadas em pontos de acesso comunitário para uso doméstico e as outras duas (10% do total) em pontos residenciais para fins domésticos e irrigação de horta. Conclui-se, portanto, que nem sempre água proveniente de poços artesianos está isenta de contaminação microbiana, sendo necessária a conscientização da população a respeito deste fato.

Palavras-chave: *Escherichia coli*. Água de poços artesianos. Coliformes fecais.

### INTRODUÇÃO

As águas de abastecimento apresentam o risco de serem poluídas por águas residuais e excretas de origem humana ou animal, podendo, conter organismos patogênicos, tornando-se assim um veículo de transmissão de doenças (CETESB, 1993). Segundo dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), 15,6% das famílias brasileiras no ano de 2000

<sup>1</sup>Fundação Educacional de Fernandópolis, ETEC/Fernandópolis, Especialista em Microbiologia. midianikel@hotmail.com

<sup>2</sup>Fundação Educacional de Fernandópolis, Instituto Federal de São Paulo (IFSP), Campus Votuporanga, Mestre em Microbiologia e Doutor em Geologia Regional, edumaiaoli@yahoo.com.br

<sup>3</sup>Fundação Educacional de Fernandópolis, Licenciada em Ciências Biológicas, lebiol@hotmail.com

<sup>4</sup>Fundação Educacional de Fernandópolis, Licenciada em Ciências Biológicas, cintiasp21@hotmail.com

<sup>5</sup>Fundação Educacional de Fernandópolis, Licenciada em Ciências Biológicas, ligiapimentape@gmail.com

utilizavam os poços ou nascentes como fonte de água para consumo, enquanto que na região Centro-Oeste este percentual chegou a 24% (IBGE, 2000).

É relativamente comum a presença de bactérias do gênero Enterobacteriaceae (coliformes), que podem ser responsáveis por uma variedade de doenças, principalmente infecções intestinais (CASE, 2000; MURRAY, 2000; TORTORA; FUNKE). De acordo com o Programa de Organização Mundial de Saúde, reconhece-se que as diarreias constituem-se em uma das maiores causas de morbi-mortalidade em crianças na faixa de 0-4 anos nos países em desenvolvimento sendo que desses casos, 3 a 4% resultaram em óbito.

O grupo dos coliformes totais compreende principalmente os gêneros *Escherichia*, *Citrobacter*, *Enterobacter* e *Klebsiella*, sendo este restrito ao trato intestinal de humanos e animais homeotérmicos. O grupo inclui bactérias aeróbicas e anaeróbicas facultativas, gram-negativas, não esporogênicas, com capacidade de fermentar a lactose com produção de gás em um período de 48 horas a 35°C (SIQUEIRA, 1995; VANDERCANT; SPITTSTOESSER, 1992).

Os coliformes fecais são aqueles que continuam fermentando a lactose, com produção de gás quando incubados a 44 – 45,5 0C. Neste grupo, são incluídos, além da *Escherichia coli*, espécies de *Enterobacter* e *Klebsiella*, embora algumas cepas dos gêneros *Enterobacter* e *Klebsiella* podem não ter origem entérica (HAJDENWURCEL, 1998).

A espécie *Escherichia coli*, por possuir origem exclusivamente fecal, constitui-se em indicativo confiável para aferir coliformes fecais na água, estabelecendo seu padrão de potabilidade e balneabilidade para o consumo humano. Estas bactérias são classificadas como bacilos anaeróbicos facultativos, gram-negativos, não esporogênicos, com capacidade de fermentar a lactose e produtoras de gás quando incubadas a uma faixa de temperatura que varia de 44 – 45,5 0C. (SILVA et al., 2006).

Tipicamente, bactérias *Escherichia coli* produzem reação positiva para: indol, catalase e vermelho de metil; apresentam metabolismo de glicose e outros carboidratos com a formação de ácido e gás. São negativas para: oxidase, Voges-Proskauer e citrato (JAWETZ; MELNICK; ADELBERG, 2000).

Portanto, de acordo com a portaria 1469 da Anvisa, a *E. coli* é considerado o mais específico micro-organismo indicador de contaminação fecal recente e de eventual presença de organismos patogênicos e, por isso, sua detecção em águas provenientes de poços artesianos avalia as condições sanitárias desses poços.

É importante destacar o consenso popular de que geralmente água proveniente de poços artesianos apresenta boa qualidade para o consumo humano. No entanto, pesquisas indicam o contrário.

Soto et al. (2006), monitorando a qualidade da água de poços rasos na zona rural do município de Ibiúna/SP, detectaram níveis acima de 100 UFC (unidades formadoras de colônias) de coliformes termotolerantes em 82% dos poços analisados.

Já D'Aguila et al. (2000), avaliando a qualidade microbiológica da água de poços do município de Nova Iguaçu, Estado do Rio de Janeiro, encontraram um nível de contaminação por coliformes totais e fecais próximos de 97,7% nas amostras processadas. Estes números são preocupantes para a saúde pública e exigem uma pronta intervenção dos órgãos públicos, como a instalação de sistemas alternativos de cloração, fluoretação e educação em saúde para a eliminação dos fatores de risco ambientais.

Baseado nesse pressuposto, o presente trabalho objetivou detectar a presença de bactérias da espécie *Escherichia coli* em águas provenientes de poços artesianos situados em diferentes bairros no município de Fernandópolis-SP.

## METODOLOGIA

Na presente pesquisa foram coletadas 20 amostras de água de 20 poços artesianos situados em sete diferentes bairros da cidade de Fernandópolis – SP; estes poços foram instalados em propriedades particulares, sendo que em alguns pontos havia o acesso comunitário com utilização da água para consumo domiciliar, para irrigação de hortas e dessedentação de animais.

As amostras foram obtidas utilizando-se frascos estéreis e seguindo-se as especificações apresentadas no guia de coleta e preservação de amostras de água da CETESB (1988) e utilizando-se os seguintes meios de cultura:

Caldo Lauril Triptose (Sulfato) – Oxoid

Triptose	20,0g
Lactose	5,0g
Fosfato dipotássico	2,75g
Fosfato monopotássico	2,75g
Cloreto de sódio	5,0g
Lauril sulfato de sódio	0,1g
Água destilada q.s.p	1000,0ml
pH a 25 °C	6,8± 0,2

Suspender 35,6 g em 1000 ml de água destilada. Distribuir em tubos de fermentação e esterilizar em autoclave durante 15 minutos a 121 °C.

Caldo Verde brilhante Bile 2% - Oxoid

Peptona	10,0g
Lactose	10,0g
Bile de boi (purificada)	20,0
Verde brilhante	0,0133
Água destilada q.s.p	1000,0ml
pH final	7,4 ± 0,2

Adicionar 40 g em 1000 ml de água destilada. Misturar bem. Distribuir em recipientes contendo tubos Durhams. Esterilizar por autoclave a 121 °C durante 15 minutos.

Meio SIM – Vetec

Extrato de carne	3,0g
Peptona de carne	30,0g
Sulfato ferroso amoniacal	0,02g
Tiosulfato de sódio	0,025g
Ágar	3,0g
Água destilada	1000ml
pH a 25 °C	7,3

Suspender 36 g em 1000 ml de água destilada. Misturar até que uma suspensão uniforme seja obtida. Distribuir em tubos e esterilizar em autoclave 15 minutos a 121 °C.

Ágar Tríplice Açúcar Ferro (TSI) - Himedia

Extrato de bife	3,0g
Extrato de levedura	3,0g
Lactose monoidratada	10,0g
Peptonas (caseína e Bife)	20,0g
Sucrose	10,0g
D-glicose monoidratada	1,0g
Cloreto de sódio	5,0g
Citrato de amônia ferro	0,3g
Vermelho fenol	0,025
Ágar	12,0g
Água destilada q.s.p.	1000ml
pH final (a 25 °C)	7,4 ± 0,2

Dissolver 64,01 g em 1000 ml de água destilada. Aquecer até ferver para dissolver o meio completamente. Misturar bem e distribua em tubos teste. Esterilizar em autoclave a 115 °C por 15 minutos. Deixar o meio resfriar nos tubos dispostos de forma inclinada e formando uma base.

Simmons citrato agar - Acumedia

Ágar bacteriológica	15,0g
Azul de bromotimol	0,08g
Citrato de sódio	2,0g
Cloreto de sódio	5,0g
Fosfato bibásico de potássio	1,0g
Fosfato monobásico de amônia	1,0g
Sulfato de magnésio	0,2g
Água destilada q.s.p.	000,0ml
pH final	6,9 + 0,2 a 25 °C

Após a coleta, as amostras foram encaminhadas ao laboratório da Fundação Educacional de Fernandópolis – FEF, sob refrigeração, para o processamento. A técnica inicialmente realizada foi a de tubos múltiplos, que requer a inoculação de múltiplos e submúltiplos de 1ml em volumes decrescentes da amostra. Os meios utilizados para a inoculação foram os caldos lauril – triptose e o verde brilhante, que com as amostras inoculadas, foram incubados a 35 °C durante 24 a 48 horas.

Após o período de incubação, foi observada a positividade das amostras para coliformes totais, sendo que os tubos que apresentaram acidificação do meio, com ou sem produção de gás, foram separados para ensaio confirmativo em meio seletivo para a *E.coli*.

Com auxílio de um micropipetador, um inóculo das culturas positivas foi transferido para as placas com meio seletivo EMB (Eosina Metiline Blue) e com uma alça de Drigalski espalhados uniformemente na superfície do meio. As placas foram incubadas em posição invertida durante  $24 \pm 2h$  a  $35 \text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,5$ .

Após o período de incubação, foi efetuada a leitura, considerando como típicas de *E. coli* as colônias nucleadas com centro preto, com ou sem brilho metálico. De cada uma das amostras consideradas positivas, foi retirada uma colônia para o esfregaço, que posteriormente foi submetido à coloração de Gram. Embora não seja de caráter obrigatório, a realização da coloração de Gram ajuda na confirmação da bactéria pesquisada. As lâminas foram observadas ao microscópio óptico comum, usando-se objetiva de imersão; as amostras revelaram a esta

observação características típicas de *E.coli*, ou seja, bacilos não esporulados e Gram negativos (corados em rosa).

Para a realização de um teste completo, as amostras consideradas positivas foram selecionadas para realização de testes bioquímicos envolvendo o Ágar Citrato de Simmons, o Ágar SIM e o Ágar TSI.

O Ágar Citrato de Simmons avalia a habilidade da bactéria em utilizar citrato de sódio como única fonte de carbono. Realizou-se a inoculação das amostras, deslizando-se levemente a agulha bacteriológica em linha reta pelo centro da superfície do meio de cultura inclinado, contido em tubos. As amostras foram incubadas por 24 horas a 35 °C. O crescimento com viragem alcalina, alterando a cor do meio esverdeado para azulado é indicativo de resultado positivo; o não crescimento e consequente não alteração de cor do meio indicam resultado negativo.

O Ágar SIM é utilizado no teste da produção de Indol. Este teste identifica micro-organismos capazes de produzir indol. Realizou-se a inoculação das amostras com o auxílio da agulha bacteriológica no meio de cultura e estes foram incubados a 37°C por 24 - 48 horas. Para a interpretação dos resultados, foram adicionados 2 a 3 gotas do Reativo de Kovacs no tubo com indol. A mudança de coloração da superfície do meio para vermelho é indicativa de resultado positivo; a coloração amarelada (Reativo de Kovacs) na superfície indica resultado negativo.

Outro teste bioquímico realizado foi o teste do Ágar Tríplice Açúcar (TSI). O meio utilizado indica a habilidade de um micro-organismo fermentar glicose, sacarose e lactose, assim como a produção de ácido sulfídrico e gás. Realizou-se a inoculação do microrganismo na superfície do meio inclinado e também no fundo do tubo, com o auxílio de uma alça tipo agulha e após, as amostras foram incubadas a 37 °C por 24 – 48 horas.

A mudança de coloração do meio vermelho para amarelo indica a metabolização anaeróbica do açúcar e a liberação subsequente de ácido. A produção de gás pode ser observada através de bolhas no meio, que por ser sólido, se quebra devido à produção do ácido fórmico, que induz a atividade da formiase, gerando gás carbônico e hidrogênio. Ainda nesse teste, pode-se observar a produção de H<sub>2</sub>S (gás sulfídrico), indicada pelo precipitado insolúvel preto (sulfato ferroso), facilmente detectado.

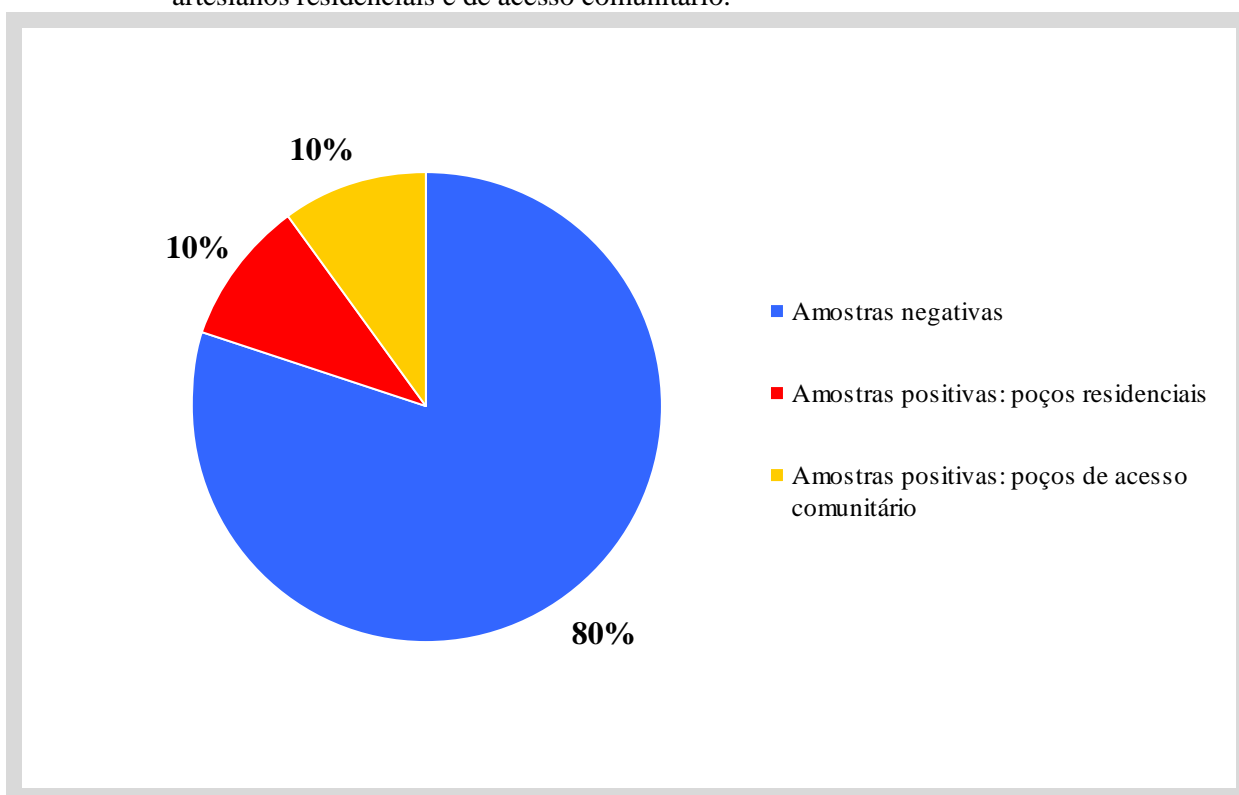
Após a realização dos referidos testes bioquímicos, foram consideradas colônias de *Escherichia coli* as mostras que apresentaram resultados positivos no teste de produção de Indol;

negativo no teste do Ágar Citrato de Simmons e que metabolizaram os açúcares, liberando produtos alcalinos e produzindo gás no meio TSI.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dentre as 20 amostras analisadas quanto à presença de *E. coli*, 4 (20%) revelaram-se positivas, sendo que 2 destas (10%) foram coletadas em pontos de acesso comunitário para uso doméstico e outras duas (10%) em pontos residenciais para fins domésticos e irrigação de horta, como mostra o gráfico 1.

Gráfico 1 - Percentual de detecção de bactérias *Escherichia coli* em amostras de água de poços artesanais residenciais e de acesso comunitário.



Fonte: Dos próprios autores.

Tabela 1 - Número de amostras de água coletadas de poços artesianos e respectivos números de amostras positivas para *Escherichia coli*. Os poços artesianos estão situados em sete diferentes bairros no município de Fernandópolis – SP.

<b>BAIRROS</b>	<b>NÚMERO DE AMOSTRAS COLETADAS</b>	<b>NÚMERO DE AMOSTRAS POSITIVAS</b>
<b>1</b>	1	1
<b>2</b>	3	-
<b>3</b>	5	2
<b>4</b>	3	-
<b>5</b>	5	1
<b>6</b>	1	-
<b>7</b>	2	-
<b>TOTAL</b>	<b>20</b>	<b>4</b>

Fonte: Dos próprios autores.

De acordo com a tabela 1, dos sete bairros das quais as amostras foram coletadas, em três amostras revelaram presença da bactéria *Escherichia coli* (bairros 1, 3 e 5). Nos demais bairros não houve detecção desta bactéria nas amostras de água coletadas.

Estes dados chamam a atenção para a necessidade de monitorar a qualidade microbiológica da água nestes bairros, consumida pela população do município em questão, pois a portaria n° 1469, de 29 de dezembro de 2000, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), estabelece como padrão de potabilidade para a água destinada ao consumo humano, incluindo fontes individuais como poços, a ausência de coliformes fecais ou termotolerantes em 100 ml de água.

Levando-se em consideração que há um consenso da população de que águas provenientes de poços artesianos geralmente são de boa qualidade, verifica-se a necessidade de um trabalho de orientação popular, com o intuito de se desmistificar tal consenso. Esse fato é relevante porque essa população, ao utilizar água em condições inadequadas para consumo, estará exposta ao risco de enfermidades veiculadas pela água.

No Brasil, a enterite e outras doenças diarreicas ocasionadas por enterobactérias, como algumas variedades de *Escherichia coli*, são importante causa de óbito em todas as idades (D'AGUILA et al., 2000).



Por isso, são indicações para o caso abordado nesta presente pesquisa a adoção de medidas simples e de baixo custo com o objetivo de se evitar a contaminação da população que faz uso desta água, como a cloração do poço, com o auxílio de um técnico, o qual fará o cálculo da quantidade de reagente necessária; a fervura e posterior filtração da água, como forma de minimizar os perigos advindos da contaminação da água por micro-organismos patogênicos (SILVA JUNIOR; MELO; CARVALHO, 2008).

## CONCLUSÃO

Em 20 amostras de água coletadas de poços artesianos situados em sete bairros diferentes no município de Fernandópolis-SP, quatro revelaram-se positivas para a presença da bactéria *Escherichia coli*.

Das quatro amostras que se revelaram positivas para a detecção de *Escherichia coli*, duas (10%) foram coletadas em pontos de acesso comunitário para uso doméstico e outras duas (10%) em pontos residenciais para fins domésticos e irrigação de horta.

Portanto, os resultados desta pesquisa indicam que águas de poços artesianos podem ser contaminadas pela principal espécie pertencente ao grupo dos coliformes fecais – a bactéria *Escherichia coli* – contrariando o consenso popular de que águas provenientes de poços artesianos geralmente apresentam boa qualidade para consumo humano.

## PRESENCE OF BACTERIA *ESCHERICHIA COLI* IN WATER FROM ARTESIAN WELLS IN FERNANDÓPOLIS COUNTY - SP

### ABSTRACT

The water from artesian wells can be contaminated by sewage and excreta of human or animal origin, which may contain pathogenic micro-organisms. The detection of bacteria of the fecal coliform in the water, especially the species *Escherichia coli*, is in reliable parameter in establishing its potability standards. Based on this, in order to detect water contamination of wells by *E. coli*, in this study 20 water samples were collected in seven districts of the city of Fernandópolis - SP, from artesian wells installed on private properties. The samples were diluted and inoculated into test tubes containing lauryl broth - tryptose and brilliant green where they were incubated at 35 ° C for 24-48 hours. Samples were also plated on selective medium EMB (eosin methylene blue) and suspected colonies were specific biochemical tests. Smears were also carried stained by Gram's Method and examined by an optical microscope in immersion objective. Of the 20 samples collected, four (20% of total) were positive for *E. coli*, and two of these (10% of total) were collected at community access points for home use and the other two (10% of total ) in residential spots for garden irrigation and domestic purposes. Therefore, it is

concluded that not always water from artesian wells is exempt from microbial contamination; public awareness about this fact is needed.

Keywords: *Escherichia coli*. Water from artesian wells. Fecal coliforms.

## REFERÊNCIAS

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria n.1469, de 29 de dezembro de 2000. Estabelece os procedimentos e responsabilidades relativos ao controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade, e dá outras providências. Anexo: Norma de Qualidade da água para consumo humano. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, de 10 de janeiro de 2001.

CETESB. **Guia de coleta e preservação de amostras de água da CETESB**. São Paulo, SP: 1988.

CESTESB. **Coliformes totais e fecais: determinação pela técnica de tubos múltiplos**. São Paulo, SP: 1993.

D'AGUILA, P. S. et al. Avaliação da qualidade de água para abastecimento público do Município de Nova Iguaçu. **Caderno de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, RJ, v. 16, n. 3, p.791-798, jul-set, 2000.

HAJDENWURCEL, J. R. **Atlas de microbiologia de alimentos**. São Paulo, SP: Fontes Comunicações e Editora, 1998.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Domicílios com abastecimento de água por poço ou nascente e outra forma – 2000. **Atlas de saneamento**. Rio de Janeiro, RJ, p.19, 2000.

JAWETZ, E.; MELNICK, J. L.; ADELBERG, E. A. **Microbiologia médica**. 21. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000.

MURRAY, P. R. **Microbiologia médica**. 3. ed. Rio de Janeiro, RJ: Guanabara Koogan, 2000.

SILVA JUNIOR, P. R.; MELO, A. M. M. F.; CARVALHO, E. Qualidade microbiológica da água de poços residenciais do bairro centro educacional da cidade de Fátima do Sul-MS. **Interbio**, v. 2, n. 2, p. 29-34, 2008.

SILVA, N. et al. Técnica de isolamento e identificação de *Escherichia coli* em resíduos sólidos. **Universitas**. v. 2, n.1, p. 305-09, 2006.

SIQUEIRA, R. S. **Manual de microbiologia de alimentos**. Brasília: EMBRAPA, SPI; Rio de Janeiro, RJ: EMBRAPA, CTAA, 1995.

SOTO, F. R. M. et al. Monitoramento da qualidade da água de poços rasos de escolas públicas da zona rural do Município de Ibiúna/SP: parâmetros microbiológicos, físico-químicos e fatores de risco ambiental. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, p.106-11, 2006.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 6. ed. Porto Alegre: Artes Médicas Sul, 2000.

VANDERZANT, C.; SPLITTSTOESSER, D. F. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 3. ed. Washington: American Public Health Association, 1992.