

**Rayene da Silva Sudré**

**DETECÇÃO DE COLIFORMES TERMOTOLERANTES NA ÁGUA DE BEBEDOUROS  
DE UMA ESCOLA TÉCNICA FEDERAL DO MUNICÍPIO DO RIO DE JANEIRO**

**Rio de Janeiro**

**2019**

**Rayene da Silva Sudré**

DETECÇÃO DE COLIFORMES TERMOTOLERANTES NA ÁGUA DE BEBEDOUROS DE  
UMA ESCOLA TÉCNICA FEDERAL DO MUNICÍPIO DO RIO DE JANEIRO

**Monografia apresentada à Escola Politécnica de  
Saúde Joaquim Venâncio – Fundação Oswaldo  
Cruz (EPSJV-Fiocruz) como requisito parcial  
para aprovação no Curso Técnico em Análises  
Clínicas.**

**Orientadora:** Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Joseli Maria da Rocha Nogueira

**Co-orientadora:** Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Flávia Coelho Ribeiro

**Rio de Janeiro**

**2019**

## AGRADECIMENTOS

À Deus, pelo dom da vida e do discernimento, que contribuíram para a conclusão de mais uma etapa.

À professora Dr<sup>a</sup> Joseli Maria da Rocha Nogueira, não apenas pela orientação, mas principalmente pelo exemplo de dedicação, pela paciência, compreensão e carinho nessa caminhada.

À minha co-orientadora Dr<sup>a</sup> Flávia Coelho Ribeiro, por todo ensinamento, incentivo e apoio na realização deste trabalho.

Aos mestres Jaime Antonio Abrantes e Raquel Sales de Andrade, pelo auxílio prestado nas análises bioquímicas e microbiológicas.

À mestra Fernanda de Oliveira Bottino pelas valiosas contribuições e apontamentos à dissertação.

À minha família por todo apoio.

Aos meus felinos, Princess e Branquinho.

Aos funcionários da instituição de ensino pela colaboração em tudo.

E a todos os outros que contribuíram, direta ou indiretamente, mas não tiveram seu nome incluído nessa lista.

Obrigado a todos!!

**“A água é o princípio de todas as coisas.”**

**Tales de Mileto**

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

OMS - Organização Mundial de Saúde

ONPG - (orto nitrofenil-beta-galacto-piranosideo)

MUG - (methyl-umbeliferil-glucuronide)

EPIs - Equipamento de proteção individual

FUNASA - Fundação Nacional de Saúde

H<sub>2</sub>S - Sulfeto de hidrogênio

UV - Ultravioleta

IND - Indol

H<sub>2</sub>S - Sulfeto de hidrogênio

URE - Urease

MOT - Motilidade

LIS - Lisina

CIT - Citrato

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1- Interpretação dos resultados do teste de detecção de coliformes COLItest®</b>	<b>15</b>
<b>Figura 2 - Meio Uriselect Chromogenic Agar</b>	<b>16</b>
<b>Figura 3 - Primeira coleta direto do galão de água mineral</b>	<b>22</b>
<b>Figura 4 – Procedimento da segunda e terceira coleta</b>	<b>23</b>
<b>Figura 5 - Esquema do método para determinação de Escherichia coli</b>	<b>25</b>
<b>Figura 6 - Semeadura em meio Uriselect Chromogenic Agar</b>	<b>26</b>
<b>Figura 7 - Procedimento de análise dos bocais dos bebedouros A B e C</b>	<b>27</b>
<b>Figura 8 – Teste de fluorescência com as amostras de água dos bebedouros A B e C</b>	<b>29</b>
<b>Figura 9- Semeadura do swab da torneira do bebedouro C</b>	<b>33</b>
<b>Figura 10- Colônias roxas em meio Uriselect Chromogenic Agar</b>	<b>35</b>
<b>Figura 11- Colônias roxas em meio Uriselect Chromogenic Agar</b>	<b>36</b>
<b>Figura 12 - - Colônias verde-escuras em meio Uriselect Chromogenic Agar</b>	<b>37</b>

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1 - Provas bioquímicas confirmatórias</b>	<b>19</b>
<b>Tabela 2 - Análise qualitativa do bebedouro A</b>	<b>30</b>
<b>Tabela 3 - Análise qualitativa do bebedouro B</b>	<b>31</b>
<b>Tabela 4 - Análise qualitativa do bebedouro C</b>	<b>32</b>
<b>Tabela 5 – Interpretação dos resultados de Uriselect Chromogenic agar</b>	<b>35</b>
<b>Tabela 6 - Resultados das provas bioquímicas confirmatórias</b>	<b>38</b>

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b>	<b>8</b>
<b>2. REFERENCIAL TEÓRICO</b>	<b>10</b>
2.1. Grupo coliforme	10
2.2. Contaminação microbiológica da água de consumo	11
2.4. Análise bacteriológica da água	13
2.5. Provas bioquímicas complementares	16
2.5.1. Teste de indol	16
2.5.2. Prova de sulfeto de hidrogênio (H <sub>2</sub> S)	16
2.5.3. Teste do citrato	16
2.5.4. Teste da urease	17
2.5.5. Teste de motilidade	17
2.5.6. Teste da lisina	17
<b>3.OBJETIVOS</b>	<b>19</b>
3.1. Objetivo geral:	19
3.2. Objetivos específicos:	19
<b>4. METODOLOGIA</b>	<b>20</b>
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	<b>28</b>
<b>6.CONCLUSÃO</b>	<b>42</b>
<b>7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>43</b>

## 1. INTRODUÇÃO

A água é essencial em todos os segmentos da vida, sendo considerada um recurso insubstituível e indispensável para a vida de qualquer ser vivo (PORTO et al., 2011). A sua importância para a saúde pública é largamente reconhecida, visto que a garantia da sua potabilidade é essencial para a população (VOLKWEIS et al., 2015). Portanto, o contato cotidiano com uma água contaminada pode acarretar problemas à saúde de qualquer indivíduo.

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), estima-se que 80% das doenças causadas por micro-organismos patogênicos são ocasionados por águas contaminadas (COELHO et al., 2007). De acordo com a portaria nº. 2914/2011 do Ministério da Saúde entende-se por água potável, a água de consumo humano cujos parâmetros microbiológicos, físicos, químicos e radioativos atendam ao padrão de potabilidade que não ofereça riscos à saúde (BRASIL, 2004; BRASIL, 2011).

Os parâmetros que a água deve apresentar para ser considerada potável são: ausência de coliformes totais e termotolerantes (*Escherichia coli*) em 100 mL de amostra (SECO et al., 2012).

Na análise ou monitoramento da qualidade da água são empregados indicadores biológicos específicos como as bactérias do grupo coliforme. Os coliformes são bactérias Gram-negativas, incapazes de formar endosporos, na forma de bastonetes, que fermentam a lactose com produção de ácido formação de gás em 48 horas a 35°C (TORTORA et al., 2017). Esta definição abrange um número de espécies de *Enterobacterales*. Geralmente, na determinação de coliformes, realiza-se a diferenciação entre os de origem fecal e não-fecal (DAUTON et al., 2006).

O principal representante dos coliformes é a bactéria *Escherichia coli*. Segundo Pelczar e

colaboradores (1996, apud YAMAGUCHI, 2013), o termo “indicadores biológicos específicos” refere-se a um tipo de micro-organismo, cuja presença na água é uma evidência de que ela está contaminada com material fecal de origem humana ou de outros animais. As águas de abastecimento, tais como caixas d’água, reservatórios de água e de bebedouros, acabam se tornando uma ferramenta crucial na propagação bacteriológica (YAMAGUCHI et al., 2013).

Os bebedouros podem ser uma importante fonte de contaminação da água potável, destinada ao consumo. Sendo assim, os micro-organismos indicadores são rotineiramente empregados para avaliar a qualidade da higiene empregada em seu processamento (FREITAS et al., 2013).

Nas escolas públicas ou privadas podem ser utilizados diferentes tipos de bebedouros, dentre eles, o de galão. Essa água que é consumida pelos alunos, docentes e demais funcionários deve apresentar os parâmetros de qualidade definidos pelo Ministério da Saúde (BRASIL, 2017). Essa qualidade deve ser garantida nas escolas, para que não haja comprometimento da saúde dos funcionários e nem dos estudantes, considerando a grande acessibilidade desses indivíduos durante expediente escolar.

## 2. REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1. Grupo coliforme

Um grupo bacteriano considerado como um importante indicador da qualidade da água é o grupo dos coliformes. Este grupo é dividido entre os coliformes totais e coliformes termotolerantes (JÚNIOR et al 2012).

Os coliformes totais englobam enterobactérias capazes de fermentar a lactose com produção de gases a 35°C. Esse grupo é constituído, principalmente, pelos gêneros *Serratia spp*, *Citrobacter spp*, *Klebsiella spp* e *Enterobacter spp*. A presença destes microrganismos é utilizada para avaliar a eficiência do tratamento e a integridade do sistema de distribuição de água (PINTO et al., 2010; PONTELO et al., 2013 ).

Os coliformes termotolerantes são um subgrupo do grupo coliforme totais restrito às bactérias capazes de fermentar a lactose a 44,5-45,5°C com produção de gás. A principal representante desse subgrupo é a *Escherichia coli*, uma bactéria de origem exclusivamente fecal. Porém, hoje se sabe, que esse grupo inclui membros de origem não fecal (cepas de *Klebsiella pneumoniae*, *Pantoea agglomerans*, *Enterobacter cloacae* e *Citrobacter freundii*) (PONTELO et al., 2013). Este grupo era comumente denominados como coliformes fecais, mas este parâmetro não é mais utilizado, visto que o único coliforme de origem fecal é a *Escherichia coli*. Esses coliformes termotolerantes comprometeram a especificidade deste subgrupo para a finalidade proposta. Em decorrência disto, as tendências atuais se direcionam para a detecção específica de *Escherichia coli*, que é o único componente do grupo coliforme de origem exclusivamente fecal

(CETESB, 2018). Conseqüentemente, a presença de coliformes termotolerantes não quer dizer necessariamente que exista contaminação de origem fecal (SILVA et al., 2017).

## **2.2. Contaminação microbiológica da água de consumo**

O consumo de uma água não potável pode impedir as pessoas de beberem o suficiente para suprirem as suas necessidades vitais, podendo comprometer a saúde das pessoas que a consomem (RAMOS et al., 2018). Os coliformes termotolerantes são um subgrupo dos coliformes totais, sendo *Escherichia coli*, como já mencionado, o principal indicador de contaminação fecal, por ser um habitante exclusivo do trato intestinal de homens e animais. Além disso, por ser amplamente distribuídos na natureza, esses micro-organismos se propagam com maior frequência na água, recebendo, portanto, grande atenção da saúde pública (SILVEIRA et al., 2017).

Segundo a Fundação Nacional de Saúde a *E. coli* tem sido tradicionalmente usada para monitorar a qualidade da água potável. A razão da escolha desse grupo de bactérias como indicadoras de contaminação da água deve-se à sua constante presença nas fezes de animais de sangue quente, incluindo os seres humanos. São facilmente detectáveis e quantificáveis por técnicas simples e economicamente viáveis, em qualquer tipo de água e também conseguem se manter vivas mais tempo na água que as bactérias patogênicas intestinais, já que são menos exigentes em termos nutricionais (FUNASA, 2013).

## **2.3. Bebedouros como uma importante fonte de contaminação da água potável**

Os bebedouros são fontes potenciais de contaminação de forma direta através da água ou indireta a partir do contato com o equipamento, pois são utilizados por muitas pessoas com hábitos de higiene desconhecidos (ARAÚJO et al., 2014).

Os bebedouros de galão, precisam ser higienizados com frequência, pois como o uso é feito por um grande número de pessoas, o risco de sujidade e de contaminação podem ser maiores. Sendo assim, os bebedouros de galão podem ser uma importante fonte na disseminação de doenças se não forem bem higienizados. A contaminação da água destes reservatórios por micro-organismos, pode ocorrer através de diferentes fontes, podendo estar relacionada ao material de armazenamento (YAMAGUCHI, 2013), manipulação inadequada e/ou à má higienização dos mesmos . Essa possibilidade estará associada a forma como a água foi envasada, o galão transportado ou até como foi instalado no bebedouro no qual apresenta normalmente bactérias do grupo coliforme (FREITAS et al., 2013).

Em virtude disso, é de suma importância a vigilância dessa atividade, sendo a higienização adequada e periódica dos bebedouros de galão fundamental, já que durante o processo de troca ou manutenção dos galões, micro-organismos, poderão acessar a fonte de água ou torneira de abastecimento, acarretando contaminação microbiológica e influenciando a qualidade da água a ser consumida (LIESENBERG et al., 2017).

#### **2.4. Análise bacteriológica da água**

Para a análise microbiológica das amostras de água, diferentes metodologias convencionais ou rápidas, podem ser empregadas com maior ou menor nível de dificuldade para o

realizador. Segundo Fernandes e Gois (2015), os métodos rápidos minimizam os erros e reduzem o tempo de análise, não necessitando de etapas confirmatórias.

A detecção de coliformes pode ser realizada por diferentes técnicas convencionais como filtração por membrana e fermentação em tubos múltiplos. A maior desvantagem das técnicas convencionais é o grande tempo exigido e complexidade das metodologias, por esse motivo durante os últimos anos diferentes técnicas têm sido desenvolvidas (PINTO et al.; 2010). Dentre as novas metodologias para pesquisa de coliformes na água o COLItest® é um kit comercial já validado e tem sido indicado para esse tipo de pesquisa, já que é composto por um substrato cromogênico e fluorogênico para detecção simultânea de coliformes totais e *Escherichia coli*. O método é baseado nas atividades enzimáticas específicas dos coliformes ( $\beta$  galactosidase) e *E. coli* ( $\beta$  glucoronidase) (JÚNIOR et al 2012).

Os coliformes totais utilizam a enzima  $\beta$ -galactosidase para metabolizar o indicador de nutriente ONPG (orto nitrofenil-beta-galacto-piranosídeo) de forma que o meio adquire a cor amarela. A *Escherichia coli* utiliza a enzima MUG (methyl-umbeliferil-glucuronide) produzindo fluorescência sobre a luz UV, fazendo a diferenciação desta bactéria das demais o que permitirá em caso de fluorescência positiva afirmarmos a presença de *Escherichia coli* na água (FUNASA, 2013).

No caso de resultado positivo para coliformes totais é analisada a presença de coliformes termotolerantes (*E. coli*) através do teste de fluorescência. As amostras são expostas a luz UV de 365 nm. A amostra considerada positiva para *E. coli* apresenta fluorescência azul. A confirmação

da presença de *E.coli* pode ser realizada também através do teste de produção do indol, confirmando sua presença após adição do reativo de Kovacs (Fig.1) (LKP Diagnósticos, 2019).

Figura 1- Interpretação dos resultados do teste de detecção de coliformes COLItest®



Fonte: <https://images.tcdn.com.br/img/editor/up/613826/ilustracaocolitest.jpg>

Para auxiliar na identificação do gênero bacteriano podem ser utilizados meios indicadores (KONEMAN et al., 2008). O meio indicador Uriselect Chromogenic Agar (Fig.2), é bastante utilizado atualmente, apesar de ser indicado inicialmente para cultura de urina, este meio de cultura foi escolhido por não ser seletivo, possibilita isolar, identificar e contar as bactérias presentes no material semeado, tornando-se um excelente aliado na identificação presuntiva de diferentes gêneros bacterianos (BIO-RAD, 2019). A mistura cromogênica é composta por substratos artificiais, que liberam compostos de várias cores na sequência da degradação por enzimas microbianas específicas, diferenciando diretamente determinadas espécies ou determinados grupos de organismos (BD, 2011).

Figura 2 - Meio Uriselect Chromogenic Agar



Fonte: <https://www.bio-rad.com/pt-br/product/saselect-medium?ID=M4T0BFKG4>

Esse meio pode ser usado para a identificação direta de *Escherichia coli* (colônia rosa), *Enterococcus spp* (colônia azul), *Klebsiella spp* (colônia lilás), bem como identificação presuntiva de outras espécies.

No entanto, são necessários testes bioquímicos complementares para confirmar a identificação já que para cada suspeita deverá ser escolhida uma prova elucidadora diferente (NOGUEIRA & MIGUEL, 2013).

## **2.5. Provas bioquímicas complementares**

### **2.5.1. Teste de indol**

Determina a capacidade de certas bactérias que possuem a enzima triptofanase de degradar o triptofano, produzindo indol, ácido pirúvico e amônia. A presença de indol pode ser detectada pela adição do Reativo de Kovacs, ocorrendo a formação de um anel de coloração vermelho na

superfície do meio, indicando uma reação positiva. A ausência de mudança de cor indica que o triptofano não foi hidrolisado e, portanto, a reação é negativa (SOUTO et al., 2017).

### **2.5.2. Prova de sulfeto de hidrogênio (H<sub>2</sub>S)**

Permite determinar a capacidade das bactérias de produzir H<sub>2</sub>S. O sulfeto de hidrogênio é sintetizado pela hidrogenação (redução) do enxofre orgânico presente no aminoácido cisteína. A presença deste composto ocorre ao longo da linha de inoculação e indica que houve produção de sulfeto de hidrogênio (reação positiva). A ausência do precipitado negro evidencia uma reação negativa (NOGUEIRA & MIGUEL, 2013).

### **2.5.3. Teste do citrato**

Aplicado para verificar a capacidade da bactéria de utilizar o citrato de sódio como sua única fonte de carbono, juntamente com os sais de amônia, alcalinizando o meio. A cor inicial do meio é verde. No caso de teste positivo a cor do meio se altera para verde azulado, indicando pH alcalino. É negativo quando a cor se mantém verde sem nenhuma mudança de cor, indicando meio neutro (SOUTO et al., 2017).

### **2.5.4. Teste da urease**

Usado para determinar a habilidade da bactéria de degradar a uréia em duas moléculas de amônia pela ação da enzima urease, resultando na alcalinização do meio. A cor inicial do meio é amarelo palha. O resultado é positivo quando há alteração do meio para a cor rosa e negativo quando não há mudança de cor (amarelo) (SOUTO et al., 2017).

### **2.5.5. Teste de motilidade**

É aplicado para determinar se o micro-organismo é móvel ou não, pois os flagelos ocorrem em bacilos Gram-negativos e poucas formas de cocos são móveis. A bactéria pode conter um ou mais flagelos e sua localização varia com a espécie da bactéria e as condições de cultura (SOUTO et al., 2017).

### **2.5.6. Teste da lisina**

É utilizado para verificar a habilidade enzimática de um micro-organismo em degradar a lisina, formando uma amina e resultando na alcalinização do meio de cultura. A lisina pode ser degradada por bactérias que produzem a enzima lisina-descarboxilase, que transformam o aminoácido na amina cadaverina. Isto produz uma viragem a violeta do indicador de pH púrpura de bromocresol indicando reação positiva a formação de aminas a partir da reação de descarboxilação, e em caso de reação e amarelo para reação negativa (SOUTO et al., 2017).

Os resultados obtidos através dessas provas bioquímicas são comparados a uma tabela padronizada seguindo as recomendações de Nogueira e Souza-Miguel (2013) para confiabilidade dos achados (Tabela 1), visto que qualquer modificação do resultado esperado significa uma não conformidade no teste.

Tabela 1 - Provas bioquímicas confirmatórias propostas por NOGUEIRA e SOUZA-MIGUEL (2013).

<b>BACTÉRIAS</b>	<b>IND</b>	<b>H<sub>2</sub>S</b>	<b>URE</b>	<b>MOT</b>	<b>LIS</b>	<b>CIT</b>
<i>Escherichia coli</i>	+	-	-	+(V)	+(V)	-
<i>Citrobacter freundii</i>	-	+	Vw	-	-	+
<i>Citrobacter diversus</i>	+	-	Vw	+	-	+
<i>Citrobacter amalonaticus</i>	+	-	V	+	-	+
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	-	+	-	+	+
<i>Klebsiella oxytoca</i>	+	-	+	-	+	+
<i>Enterobacter cloacae</i>	-	-	Vw	+	-	+
<i>Enterobacter aerogenes</i>	-	-	-	+	+	+
<i>Enterobacter agglomerans</i>	V	-	Vw	V	-	+
<i>Enterobacter sakazakii</i>	V	-	-	+	-	+
<i>Enterobacter gergoviae</i>	-	-	+	+	V	+
<i>Serratia marcescens</i>	-	-	Vw	+	+	+
<i>Serratia liquefaciens</i>	-	-	Vw	+	V	+
<i>Serratia rubidaea</i>	-	-	Vw	V	V	+

Fonte: <https://www.arca.fiocruz.br/bitstream/iciict/15170/2/cap3.pdf/>

V - 10% para 89,9% de positividade em 48 horas / w - reação fraca

### **3.OBJETIVOS**

#### **3.1. Objetivo geral:**

Analisar a água mineral natural proveniente de bebedouros de galão em uma escola técnica federal do Rio de Janeiro, quanto a presença de coliformes.

#### **3.2. Objetivos específicos:**

- Identificar os gêneros bacterianos dos coliformes totais;
- Verificar a presença de coliformes totais e/ou termotolerantes na água consumida na instituição de ensino;
- Analisar a possível contaminação da água decorrente da torneira do bebedouro de galão.

#### **4. METODOLOGIA**

Os bebedouros da instituição de ensino avaliada encontravam-se dispostos próximos aos banheiros e em áreas cobertas (corredores). As coletas foram realizadas entre os dias cinco e sete de agosto, sempre em duplicata, cinco bebedouros de galão presentes nos corredores da instituição de ensino. Em todas as coletas foram utilizados equipamentos de proteção individual (EPIs) como luvas, jaleco, sapato fechado e calça comprida seguindo as recomendações de Borba e colaboradores (2009).

Antes da coleta das amostras, foi observado o procedimento de higienização realizado pelo funcionário responsável pela troca dos galões e todos os passos realizados pelo mesmo, foram anotados para posterior análise. Os bebedouros foram identificados como bebedouro A, B e C para os que constavam no segundo andar; e bebedouro D e E para os que ficavam no primeiro andar.

Para cada bebedouro, foram realizadas três coletas de 100 mL cada, em frascos estéreis com tampas à prova de vazamento seguindo a recomendação de Simeão e colaboradores (2011).

Antes da colocação do galão no bebedouro, foi realizada a primeira coleta, diretamente no galão de água mineral, empregando uma pipeta graduada estéril (Fig.3).

Figura 3 - Primeira coleta direto do galão de água mineral

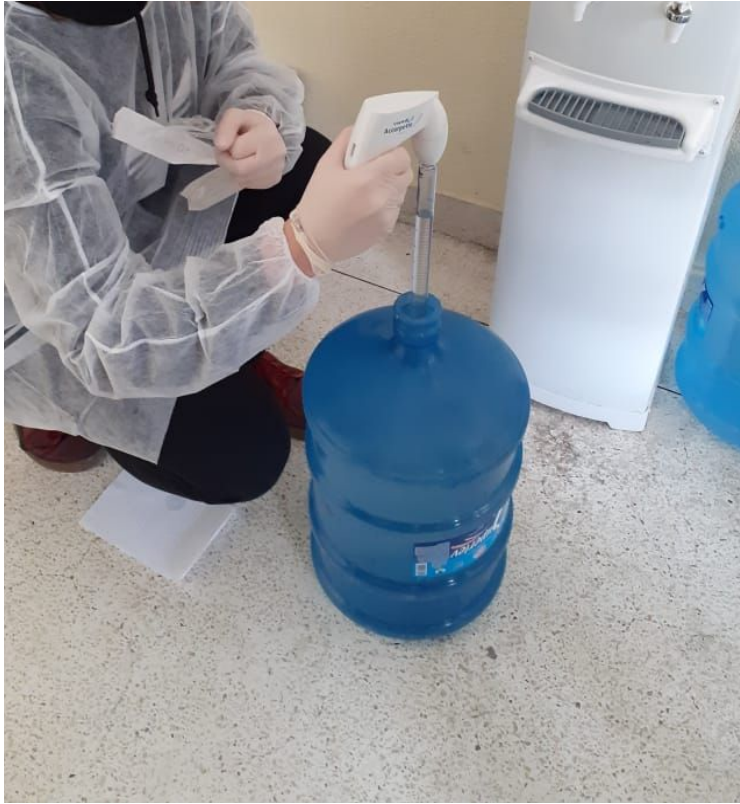


Foto: Flávia Coelho

A segunda coleta foi realizada a partir da saída de água da torneira do bebedouro, após acoplamento do galão no reservatório refrigerado. Para este procedimento foi dispensado o primeiro jato de água e coletado os 100mL provenientes do segundo jato.

A partir do consumo médio do galão de 20 litros, foi efetuada a terceira coleta, onde foi retirado 100mL diretamente da saída de água do bebedouro (Fig.4).

Figura 4 – Procedimento da segunda e terceira coleta



Foto: Flávia Coelho

Para avaliar as condições internas das duas torneiras do bebedouro, as primeiras amostras foram coletadas da torneira esquerda do bebedouro, onde provinha água refrigerada e as duplicatas da torneira direita, onde emanava água à temperatura ambiente. Este processo foi empregado tanto na segunda coleta, quanto na terceira.

Foram coletadas um total de 30 amostras no período já determinado. Sendo 16 amostras da torneira direita do bebedouro e 14 amostras da torneira esquerda, visto que, como um bebedouro não possuía a torneira esquerda (bebedouro C), todas as coletas nesse bebedouro foram realizadas

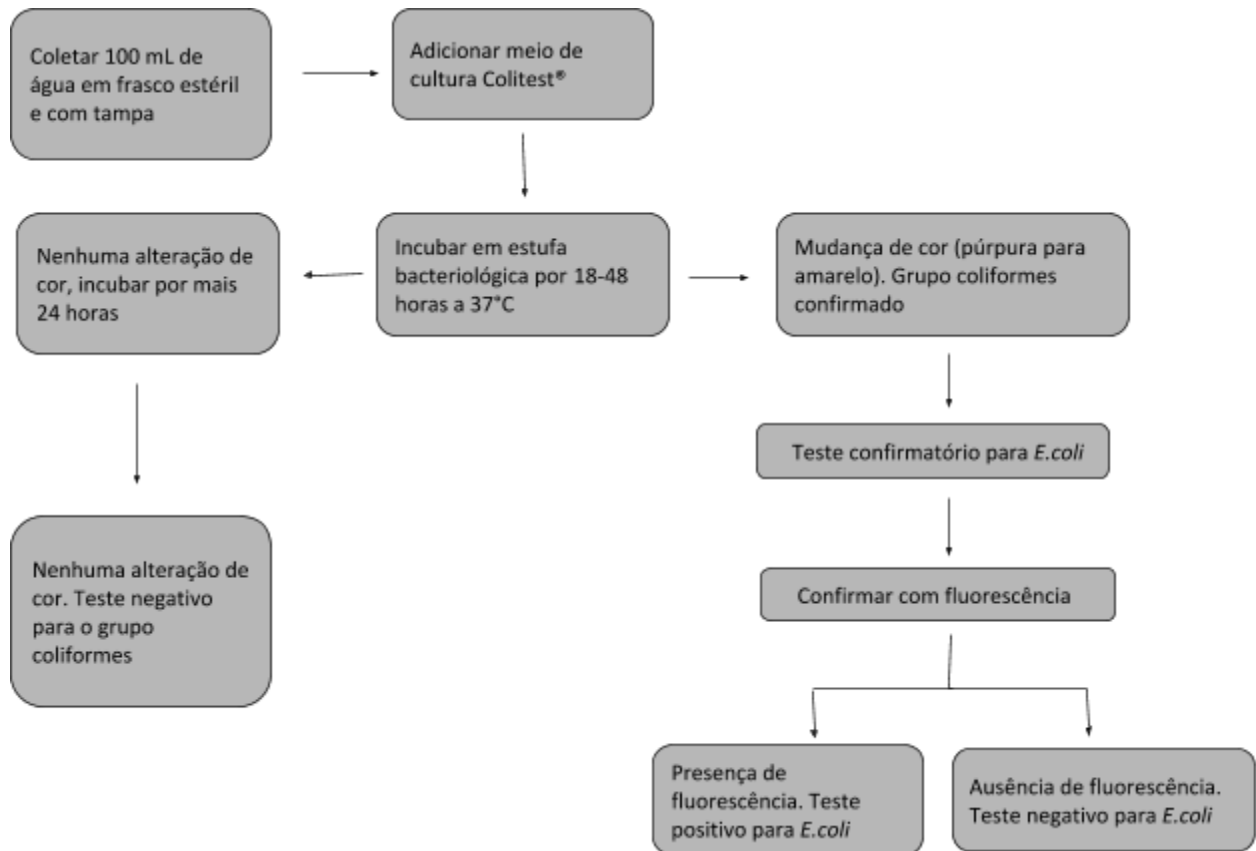
somente da torneira direita. Após o procedimento de coleta todas as amostras foram armazenadas dentro de uma caixa de isopor nova e previamente higienizada com álcool 70%.

Sempre no mesmo dia da coleta, o material era levado ao Laboratório Multidisciplinar da EPSJV onde era iniciada a análise microbiológica, utilizando o kit comercial da marca COLItest®.

Nas instalações do Laboratório foi adicionado assepticamente o meio de cultura COLItest® em cada frasco de 100 ml de amostra de água, havendo a homogeneização até a dissolução completa do conteúdo. Em seguida, os frascos foram incubados em estufa bacteriológica por 18-48 horas a  $(35\pm 2^{\circ}\text{C})$ , segundo as recomendações do fabricante (LPK, 2019).

A partir de 18 horas de incubação, já foi possível interpretar os resultados positivos. Para os frascos negativos, a incubação foi mantida até 48 horas. As amostras que apresentaram mudança de cor de púrpura para amarelo, foram expostas a luz ultravioleta de 365 nm para analisar a presença de *Escherichia coli*. Um esquema deste teste é apresentado na (Fig.5).

Figura 5 - Esquema do método para determinação de *Escherichia coli*



Fonte: Autoral

As amostras positivas para coliformes totais, foram semeadas com alça bacteriológica estéril por esgotamento em meio Uriselect Chromogenic Agar (Fig.6) e mantidas, para crescimento microbiano, em estufa bacteriológica a  $(35\pm 2^\circ\text{C})$  durante 24 horas para a identificação dos gêneros bacterianos.

Dependendo do resultado presuntivo sugerido pelo meio diferencial, realizamos provas bioquímicas confirmatórias, seguindo as sugestões de Nogueira e Souza-Miguel (2013) e do Manual de detecção e identificação de bactérias de importância médica (BRASIL, 2013).

Figura 6 - Semeadura em meio Uriselect Chromogenic Agar



Foto: Autoral

Após o kit COLItest ser empregado e os resultados qualitativos interpretados. Os bebedouros cujo amostras indicaram presença de coliformes totais, foram analisados para se verificar a possível contaminação referente a saída de água (torneira) dos bebedouros de galão, principalmente na segunda e terceira coleta.

Para a coleta do material foram utilizados EPIs. Um swab estéril foi introduzido na torneira de água dos bebedouros (Fig.7), e logo após, o swab foi colocado em um tubo de ensaio estéril para evitar contaminações externas. O material assim como as amostras de água, foram semeadas imediatamente em meio Uriselect Chromogenic Agar para a identificação dos gêneros bacterianos.

Figura 7 - Procedimento de análise dos bocais dos bebedouros A B e C



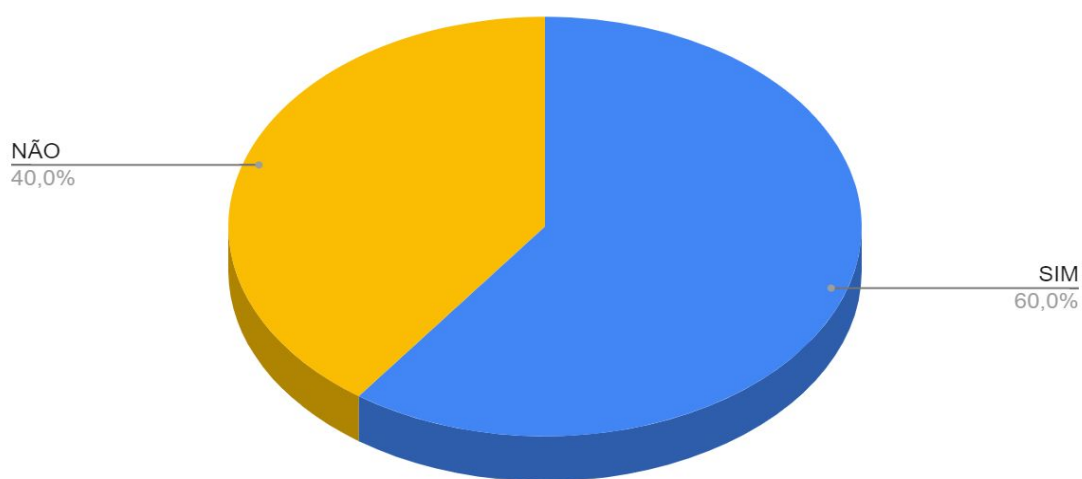
Foto: Flávia Coelho

As colônias encontradas no crescimento microbiano das sementeiras dos swabs das torneiras dos bebedouros que apresentaram crescimento bacteriano, foram isolados para a realização da técnica de Gram seguindo as orientações de Koneman et al (2008).

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com o teste de presença ou ausência de coliformes totais, dos cinco bebedouros testados, três apresentaram resultado positivo, como é ilustrado no gráfico a seguir.

Gráfico 1 - Bebedouros que apresentaram contaminação por coliformes totais.



Fonte: autoral

Na análise qualitativa do kit COLItest nas 30 amostras de água, somente quatro indicaram presença de coliformes totais, sendo elas provenientes dos bebedouros A B e C que se encontram no segundo andar, onde há uma maior demanda de alunos. Nenhuma das quatro amostras emitiram fluorescência ao serem expostas a luz ultravioleta, evidenciando a ausência de

coliformes termotolerantes e precisamente a ausência de *Escherichia coli*, como pode ser visto na (Fig.8), ao serem comparadas com um controle positivo (Amostra X).

Figura 8 – Teste de fluorescência com as amostras de água dos bebedouros A B e C



Foto: Jaime Abrantes

Nas Tabelas 2, 3 e 4 estão distribuídos os resultados relativos às análises realizadas. O bebedouro A evidenciou presença de coliformes na terceira coleta, indicando que a água após passar determinado tempo no interior do bebedouro apresentou contaminação por coliformes totais somente na duplicata. Como a contaminação da água só foi observada na duplicata é possível concluir que esse resultado está diretamente relacionado a torneira direita do bebedouro ou até mesmo a sujidade da mangueira onde a água refrigerada é contida até ser dispensada, devido à falta de higienização. Visto que na análise interna da torneira direita foi constatado a

presença de diversos tipos bacterianos indicando que a higienização desde bebedouro não está satisfatória.

Tabela 2 - Análise qualitativa do bebedouro A

BEBEDOURO A	PRESENÇA DE C.T	PRESENÇA DE <i>E. COLI</i>	SWAB DAS TORNEIRAS
Amostra 1 (1º coleta)	Negativo	Negativo	Não efetuado
Duplicata (1º coleta)	Negativo	Negativo	Não efetuado
Amostra 2 (2º coleta)	Negativo	Negativo	Não efetuado
Duplicata (2º coleta)	Negativo	Negativo	Não efetuado
Amostra 3 (3º coleta)	Negativo	Negativo	Não efetuado
Duplicata (3º coleta)	Positivo	Negativo	Bactérias Gram-positivas e diversos gêneros bacterianos

C.T - Coliformes totais/ Fonte: Autoral

Segundo Rosenberg et al (2003), se a água é estocada em temperatura ambiente, como é comum em bebedouros de galão, em apenas alguns dias as contagens bacterianas atingem concentrações altas. Devido a essa forma de armazenamento, mesmo uma água contendo poucos organismos quando engarrafada pode apresentar um crescimento logarítmico no número de bactérias em um tempo relativamente pequeno. Esse aumento continua em curva de crescimento típica até a matéria orgânica da água ser esgotada, e isso pode explicar a inadequação do resultado da terceira coleta.

O bebedouro B apenas apresentou contaminação na duplicata da segunda coleta, e assim como o bebedouro A, apenas a torneira direita do bebedouro constatou irregularidade. Salientando que, como o primeiro jato foi desprezado, visando a eliminar as impurezas e a água acumulada na canalização, a inadequação no resultado encontrado pode estar relacionada a sujidade interna do bebedouro que acaba corrompendo a qualidade da água mineral engarrafada no galão. O swab deste bebedouro apresentou diversos tipos bacterianos, por exemplo, bactérias Gram-positivas confirmadas com a técnica de Gram.

Tabela 3 - Análise qualitativa do bebedouro B

BEBEDOIRO B	PRESEÇA DE C.T	PRESEÇA DE <i>E. COLI</i>	SWAB DAS TORNEIRAS
Amostra 1 (1º coleta)	Negativo	Negativo	Não efetuado
Duplicata (1º coleta)	Negativo	Negativo	Não efetuado
Amostra 2 (2º coleta)	Negativo	Negativo	Não efetuado
Duplicata (2º coleta)	Positivo	Negativo	Bactérias Gram positivas e diversos gêneros bacterianos
Amostra 3 (3º coleta)	Negativo	Negativo	Não efetuado
Duplicata (3º coleta)	Negativo	Negativo	Não efetuado

C.T - Coliformes totais/ Fonte: Autoral

O bebedouro C explicitou presença de coliformes totais tanto na segunda coleta, quanto na terceira, compreendendo um maior índice de contaminação que os demais (Tabela 4). Visto que, este bebedouro só possuía uma torneira, sendo ela a direita, é explícito dizer que a insatisfação

encontrada nos resultados está ligada a falta de manutenção interna deste bebedouro ou da mangueira que conduz água gelada até a saída de água.

Tabela 4 - Análise qualitativa do bebedouro C

BEBEDOIRO C	PRESENÇA DE C.T	PRESENÇA DE <i>E.COLI</i>	SWAB DAS TORNEIRAS
Amostra 1 (1º coleta)	Negativo	Negativo	Não efetuado
Duplicata (1º coleta)	Negativo	Negativo	Não efetuado
Amostra 2 (2º coleta)	Positivo	Negativo	Levedura e diversos tipos bacterianos
Duplicata (2º coleta)	Negativo	Negativo	Não efetuado
Amostra 3 (3º coleta)	Positivo	Negativo	Não efetuado
Duplicata (3º coleta)	Negativo	Negativo	Não efetuado

C.T - Coliformes totais/ Fonte: Autoral

No swab obtido a partir da torneira direita do bebedouro C, foi observado uma maior diversidade de espécies bacterianas, bem como a presença de levedura, como pode ser ilustrado na (Fig.9).

Figura 9- Meio de cultura apresentando crescimento bacteriano obtidos a partir do swab da torneira do bebedouro C

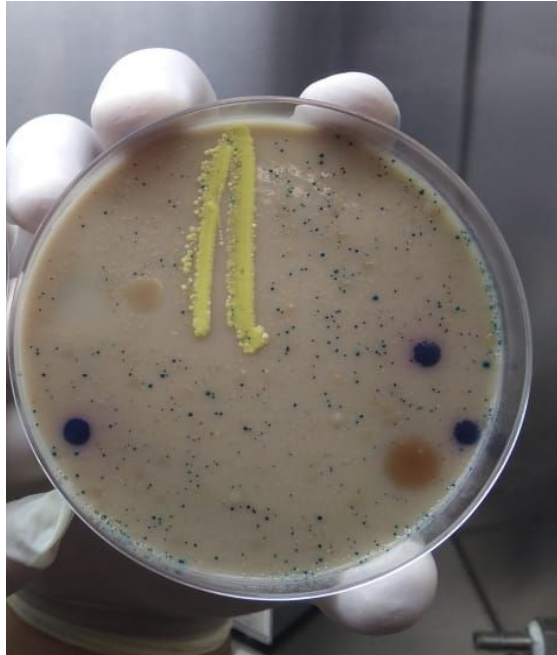


Foto: Autoral

De acordo com Agência Nacional de Vigilância Sanitária (2016), a melhor forma de evitar a proliferação de sujidades no interior dos bebedouros é a manutenção semestral e a limpeza semanal dos bebedouros de galão ou de acordo com a necessidade, seguindo a regulamentação e os procedimentos de higiene. Portanto, os resultados encontrados nas análises qualitativas dos bebedouros utilizados pela instituição de ensino demonstram uma carência no processo de higienização. Considerando que, por esses bebedouros (A B e C) estarem no segundo andar próximos às salas de aula, deve-se ter uma maior atenção.

De acordo com os resultados obtidos, nenhum bebedouro indicou contaminação na primeira coleta, e isto comprova que a água engarrafada nos galões se encontra de acordo com o

padrão de potabilidade disponibilizado pela a legislação e a contaminação da água ocorrem após contato com o interior do bebedouro. Esses resultados também foram obtidos nos estudos de Mello e Resende (2015) que analisaram os bebedouros da PUC de Minas pela mesma metodologia aplicada neste estudo.

O procedimento de higienização realizado pelo funcionário responsável pela troca dos galões foi avaliado na primeira coleta. Observou-se a limpeza superficial do gargalo do galão com álcool 70% e subsequentemente abertura do lacre com o auxílio de uma faca não estéril. Infelizmente, a manutenção do bebedouro não é realizada por estes profissionais, não havendo também uma definição de periodicidade para este procedimento.

Os resultados das análises das torneiras dos bebedouros A B e C, não indicaram presença de coliformes totais, sendo assim, é possível afirmar que a contaminação da água por coliformes totais não é decorrente da saída de água do bebedouro. Entretanto, foi possível determinar qualitativamente uma quantidade significativa de bactérias mesófilas nos meios semeados, como também leveduras, no caso do bebedouro C. A identificação foi feita a partir da técnica de Gram das colônias presentes nas sementeiras no meio Uriselect Chromogenic agar.

Os resultados das sementeiras das amostras de água dos bebedouros A B e C em meio Uriselect Chromogenic agar foram interpretados após o período de incubação com base nas descrições do manual disponibilizado pelo fabricante e a Tabela 5 de cores sugestivas (BIO-RAD, 2019).

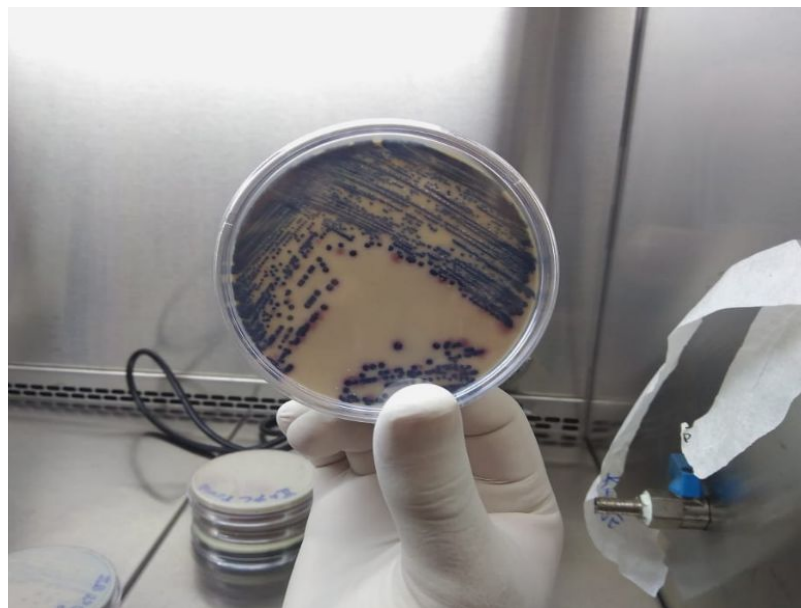
Tabela 5 – Interpretação dos resultados de Uriselect Chromogenic agar

	COR DAS COLÔNIAS NO URISELECT CHROMOGENIC AGAR
<i>E.coli</i>	Cor-de-rosa
<i>Klebsiella spp</i>	Roxo- azulado
<i>Enterobacter spp</i>	Azul- esverdeado
<i>Proteus mirabilis</i>	Castanho alaranjado

Fonte: [http://www.bio-rad.com/webroot/web/pdf/inserts/CDG/pt/63726\\_2013\\_11\\_PT.pdf](http://www.bio-rad.com/webroot/web/pdf/inserts/CDG/pt/63726_2013_11_PT.pdf)

No meio semeado das amostras de água do bebedouro A apareceram colônias de cor roxas-azuladas (Fig.10), algumas colônias de coloração rosa apareceram, mas as suspeitas de *Escherichia coli* findaram-se após a realização de testes bioquímicos e a coloração destas colônias, sugere que se trata do gênero *Klebsiella*.

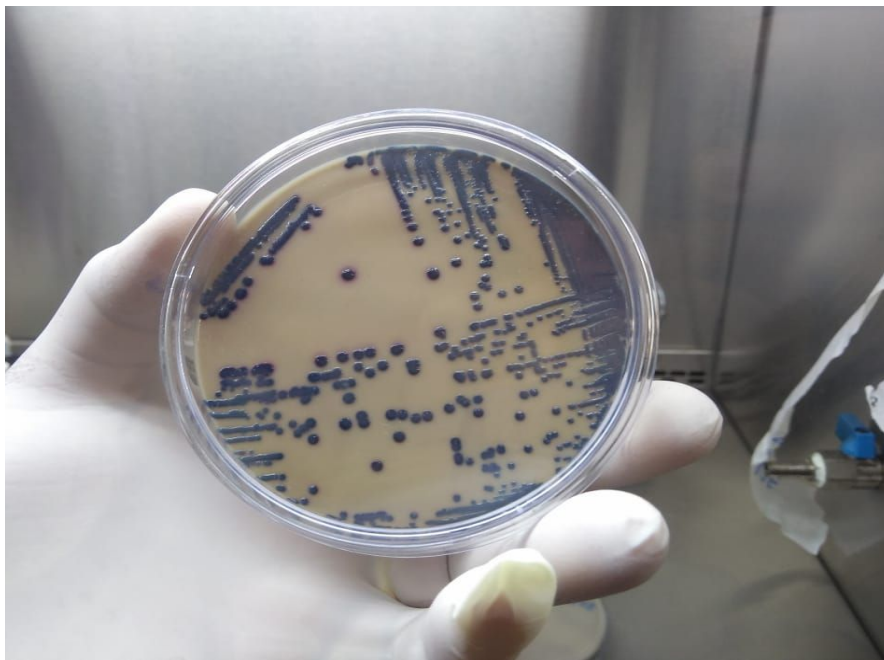
Figura 10- Colônias roxas-azuladas em meio Uriselect Chromogenic Agar, características de coliformes do gênero *Klebsiella* isoladas de uma amostra de água de bebedouro A



Fonte: Autoral

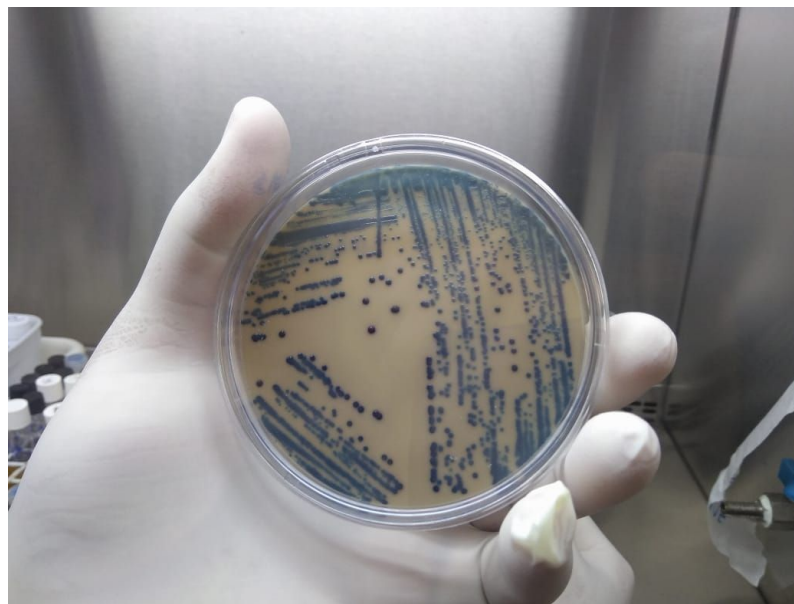
O bebedouro C apresentou crescimento semelhante (Fig.11). Porém, o resultado da semeadura da água do bebedouro B apresentou colônias azul-esverdeado, indicando ser presuntivamente um coliforme do gênero *Enterobacter spp* (Fig. 12); de acordo com as orientações de BIO-RAD (2019).

Figura 11- Colônias roxas azuladas em meio Uriselect Chromogenic Agar, características de coliformes do gênero *Klebsiella* isoladas de uma amostra de água de bebedouro C



Fonte: Autoral

Figura 12 - Colônias azul-esverdeado em meio Uriselect Chromogenic Agar, características de coliformes do gênero *Enterobacter* isoladas de uma amostra de água de bebedouro B



Fonte: Autoral

Para a identificação dos isolados bacterianos, os resultados obtidos foram comparados com a Tabela 1 para testes bioquímicos proposta por NOGUEIRA e SOUZA-MIGUEL (2013).

A partir das colônias obtidas, foi possível identificar dois diferentes gêneros bacterianos que apresentaram morfologia celular de bastonetes Gram-negativos. As características bioquímicas permitiram caracterizar os isolados dos bebedouros A e C como *Klebsiella pneumoniae*, e no bebedouro B como *Enterobacter aerogenes*, como demonstrado na Tabela 6.

Tabela 6 - Resultados das provas bioquímicas confirmatórias

PROVAS BIOQUÍMICAS	3° Coleta D (Bebedouro A)	2° Coleta D (Bebedouro B)	2° Coleta (Bebedouro C)	3° Coleta (Bebedouro C)
Indol	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
H <sub>2</sub> S	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
Urease	Positivo	Negativo	Positivo	Positivo
Motilidade	Negativo	Positivo	Negativo	Negativo
Lisina	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
Citrato	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
BACTÉRIAS	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Enterobacter aerogenes</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>

Fonte: Autoral/ D- Duplicata

A identificação de *Klebsiella pneumoniae* foi baseada na observação das características bioquímicas. Sendo ela um bastonete Gram-negativo, não móvel, com presença da enzima urease, teste de lisina e citrato positivos, sem ocorrência da produção de H<sub>2</sub>S e indol.

A identificação de *Enterobacter aerogenes* também foi baseada nas características bioquímicas apresentadas após incubação. Foi possível determinar que se tratava de um bastonete Gram-negativo, com motilidade positiva, negativo para enzima urease, sem produção de H<sub>2</sub>S e Indol, e que respondeu positivamente as provas de lisina e utilização de citrato como única fonte de carbono.

A presença de *Klebsiella pneumoniae* e *Enterobacter aerogenes* na água que é consumida por alunos e trabalhadores da instituição contradizem aos parâmetros estabelecidos pela portaria nº.2914/2011 do Ministério da Saúde. Visto que, para uma água ser considerada potável, deve

apresentar ausência de coliformes totais e fecais em 100 mL de todas as amostras (BRASIL, 2011). Isso também evidencia falhas no processo de higienização dos bebedouros.

Os resultados obtidos nesse estudo corroboram com os achados anteriores de autores que avaliaram a contaminação de água de bebedouros de galão de escolas. Vários estudos apontam resultados semelhantes, evidenciando a inadequação da água utilizada em escolas com diferentes níveis de ensino (FARIA et al., 2013; CAMPOS et al., 2017). Esses autores evidenciaram a presença de coliformes totais em parte das amostras analisadas e a ausência de coliformes fecais em todas as amostras.

Segundo Freitas e colaboradores (2013), a contaminação detectada em estudos baseados na coleta de bebedouros, pode estar associada não a qualidade da água fornecida, mas a má higienização dos bebedouros. Essa opinião corrobora com o que foi observado neste estudo, já que nenhuma das amostras coletadas diretamente dos galões indicaram presença de coliformes através do teste Colitest e nem crescimento de unidades formadoras de colônia em placa.

Em um estudo realizado na cidade de Ceres, Goiás, os autores correlacionam o resultado positivo à presença de aves que sobrevoam o local e fezes de pombos que foi observado em dois bebedouros (SILVA et al., 2017). Apesar de haverem pássaros que frequentam as instalações da escola onde foi realizada esta pesquisa, sua presença não é significativa para se determinar qualquer contaminação cruzada entre aves e bebedouros contaminados.

Ainda seguindo a linha das possíveis contaminações externas, um estudo realizado em Recife, onde analisaram amostras de água de consumo em 40 unidades de alimentação localizadas entorno da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) e da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), evidenciou que 62,5% das amostras estudadas, apresentavam coliformes

totais e 42.5% coliformes termotolerantes, sugerindo condições higiênico-sanitárias precárias nestes estabelecimentos (SIQUEIRA et al., 2010). Estes autores consideraram que a água de abastecimento que chega a essas unidades não estão em conformidade com os padrões microbiológicos estabelecidos pela legislação. Entretanto, concluem que como os resultados obtidos indicaram contaminação de origem fecal, esse fato provavelmente deve ser decorrente de uma não adoção de boas práticas físico-sanitárias nos reservatórios de água, levando a um fator de risco aos consumidores.

Uma matéria publicada este ano no Jornal Estadão de São Paulo revelou que análises de água realizadas em um campus universitário da Vila Mariana atestaram contaminação bacteriana após estudantes e funcionários relatarem vômitos e diarreia, a pesquisa revelou a presença de *Escherichia coli* (FELIX, 2019).

A água consumida nessas instituições pode expor a comunidade escolar a riscos para a saúde, por meio de doenças de veiculação hídrica; por isso faz-se necessário um sistemático acompanhamento para manutenção da higiene e controle microbiológico nos reservatórios de água desses estabelecimentos (ROCHA et al., 2011).

Os resultados encontrados neste trabalho demonstraram que apesar de não ter sido detectada a presença de *Escherichia coli*, a água que é consumida pelos alunos e funcionários da instituição não está de acordo com os parâmetros de potabilidade, pois grande parte dos bebedouros de galão instalados na escola estudada apresentaram contaminação por coliformes. Esta ocorrência em fontes de água tratada é a mais comum causa de violação dos padrões de potabilidade. De acordo com o Ministério da Saúde (2006) os coliformes totais não são

indicadores adequados da qualidade sanitária de águas *in natura*, prestando-se, porém, como um indicador adequado e suficiente da qualidade bacteriológica da qualidade da água tratada. A simples presença de coliformes totais no sistema de distribuição serve como alerta para o desencadeamento de medidas corretivas.

## 6.CONCLUSÃO

O estudo evidenciou contaminação por *Klebsiella pneumoniae* e *Enterobacter aerogenes* na água proveniente dos bebedouros da instituição analisada. Tal resultado não está de acordo com os padrões de potabilidade disponibilizados pela ANVISA (2016). Posto que, uma porcentagem das amostras de água analisadas neste trabalho indicaram contaminação por coliformes totais, sendo isso, possivelmente atribuído à falta de higienização adequada dos bebedouros, visto que 60% dos bebedouros desta instituição constatou irregularidade na água disponibilizada aos alunos e funcionários.

Por isso, torna-se importante capacitar, conscientizar e educar os funcionários que realizam a limpeza dos bebedouros de galão, bem como realizar o monitoramento e manutenção constante da água e dos bebedouros em relação ao controle microbiológico, para que se possa assim, garantir uma água de qualidade a todos que utilizem os bebedouros desta instituição de ensino. Como também, torna-se necessário que gestores e educadores adotem medidas efetivas de controle e monitoramento da água no intuito de reverter a situação verificada.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAÚJO, Tharles et al 2014. Análise bacteriológica da água consumida em escolas públicas na capital de Boa Vista-Rr. In: 62ª Reunião Anual da SBPC. Universidade Federal do Rio Grande do Norte Natal. Disponível em: <<http://www.sbpcnet.org.br/livro/62ra/resumos/resumos/2272.htm>>. Acesso em: 21 de nov. 2019.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da diretoria colegiada- RDC. p 15. nº 91 de 1 de julho de 2016. Disponível em:<[http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/2884120/RDC\\_91\\_2016\\_COMP.pdf/99de6998-22c0-4ec4-8811-4762a414f598](http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/2884120/RDC_91_2016_COMP.pdf/99de6998-22c0-4ec4-8811-4762a414f598)>. Acesso em: 16 de out. 2019.

BIO-RAD. UriSelect 4 Medium. Disponível em: [http://www.bio-rad.com/webroot/web/pdf/inserts/CDG/en/UriSelect\\_IFU%206372663727\\_UriSelect4\\_882044\\_V3\\_\(2013-11\)\\_US.pdf](http://www.bio-rad.com/webroot/web/pdf/inserts/CDG/en/UriSelect_IFU%206372663727_UriSelect4_882044_V3_(2013-11)_US.pdf). Acesso em: 5 de out. 2019.

BORBA, Cíntia et al 2009. Biossegurança e boas práticas Laboratoriais IN: Conceitos e Métodos para formação de profissionais em Laboratórios de Saúde. EPSJV/FIOCRUZ. Vol 1. Disponível em: <<https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/13406>>. Acesso em: 5 de nov. 2019

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde. Módulo 6: Detecção e identificação de bactérias de importância médica /Agência Nacional de Vigilância Sanitária – Brasília: Anvisa, 2013 Disponível:<<https://www20.anvisa.gov.br/segurancadopaciente/index.php/publicacoes/item/deteccao-e-identificacao-de-bacterias-de-importancia-medica>>. Acesso em: 5 de dez.2019.

BRASIL, Ministério da Saúde. Portaria n. 518, de 25 de março de 2004. Disponível em: <[http://www.aeap.org.br/doc/portaria\\_518\\_de\\_25\\_de\\_marco\\_2004.pdf](http://www.aeap.org.br/doc/portaria_518_de_25_de_marco_2004.pdf)>. Acesso em: 29 set. 2019.

BRASIL, Ministério da Saúde. Secretaria de vigilância Sanitária. Portaria n. 2914 de 12 de dezembro de 2011. Disponível em: <[http://www.saude.mg.gov.br/index.php?option=com\\_gmg&controller=document&id=8014](http://www.saude.mg.gov.br/index.php?option=com_gmg&controller=document&id=8014)>. Acesso em: 5 de dez.2019

BRASIL, Ministério da saúde, Portaria de Consolidação nº 5 de 28 de setembro de 2017. Anexo XX.2017. Disponível em: <[http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2017/prc0005\\_03\\_10\\_2017.html](http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2017/prc0005_03_10_2017.html)>. Acesso em: 5 de dez.2019.

BRASIL, Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior - MDIC - INMETRO, Procedimento de fiscalização - bebedouros elétricos Portaria INMETRO 191/03 (CÓDIGO: 3298). 2013. Disponível em: <[http://www.inmetro.gov.br/fiscalizacao/treinamento/bebedouros\\_eletricos.pdf](http://www.inmetro.gov.br/fiscalizacao/treinamento/bebedouros_eletricos.pdf)>. Acesso em: 5 de dez.2019.

CAMPOS, Danilo et al 2017. Avaliação Da Qualidade Da Água Destinada Ao Consumo Humano Em Instituição De Ensino. Rev. da Universidade do Vale do Rio Verde. p 289-98. Disponível em: <[http://periodicos.unincor.br/index.php/revistaunincor/article/view/3340/pdf\\_635](http://periodicos.unincor.br/index.php/revistaunincor/article/view/3340/pdf_635)>. Acesso em: 13 de nov. 2019.

CETESB - NORMA TÉCNICA L5.202. Coliformes totais, coliformes termotolerantes e *Escherichia coli* - Determinação pela técnica de tubos múltiplos. 5ª Edição, p 29. 2018. Disponível em: <[https://cetesb.sp.gov.br/wp-content/uploads/2018/01/Para-enviar-ao-PCSM\\_-](https://cetesb.sp.gov.br/wp-content/uploads/2018/01/Para-enviar-ao-PCSM_-)

NTC-L5.202\_5%C2%AAed-\_dez.-2018.pdf>. Acesso em: 13 de jan. 2019.

COELHO, Dulcimara Aparecida et al 2007. Avaliação da qualidade microbiológicas de águas mineiras comercializadas em supermercados da cidade Alfenas-MG. *Revista Higiene Alimentar*, v. 21 n.151, p. 88-92. Disponível em: <<https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/vti-45441>>. Acesso em: 18 de dez. 2019.

CARNEIRO, Renata et al 2017. Apostila de Microbiologia. Editora: Pontificia Universidade Católica de Goiás.p 7-10. Disponível em: <<http://professor.pucgoias.edu.br/sitedocente/admin/arquivosUpload/12515/material/Apostila%20de%20Microbiologia%20CBB%201047%202017%202.pdf>>. Acesso em: 4 de fev. 2019.

DAUTON, Luiz Zulpo et al 2006. Avaliação microbiológica da água consumida nos bebedouros da Universidade Estadual do Centro-Oeste, Guarapuava, Paraná, Brasil. Seminário: Ciências Agrárias, Londrina, v. 27, n. 1, p. 107-110. Disponível em: <[https://www.bvs-vet.org.br/vetindex/periodicos/semna-ciencias-agrarias/27-\(2006\)-1/avaliacao-microbiologica-da-agua-consumida-nos-bebedouros-da-universid/](https://www.bvs-vet.org.br/vetindex/periodicos/semna-ciencias-agrarias/27-(2006)-1/avaliacao-microbiologica-da-agua-consumida-nos-bebedouros-da-universid/)>. Acesso em: 19 de fev. 2019.

FARIA, Tatiana et al 2013. Qualidade microbiológica da água para consumo humano em unidades de alimentação escolar. *Revista da Universidade Vale do Rio Verde*, Três Corações, v. 10, n. 1, p. 135-144. Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.5892/ruvrv.2013.111.135144> > Acesso em: 19 de out. 2019.

FERNANDES, Luana Leal et al 2015. Avaliação das principais metodologias aplicadas às análises microbiológicas de água para consumo humano voltadas para a detecção de coliformes

totais e termotolerantes. Revista Científica da Faculdade de Educação e Meio Ambiente, v.6 n.2, p. 49-64. Disponível em: <<https://www.tratamentodeagua.com.br/artigo/avaliacao-das-principais-metodologias-aplicadas-as-analises-microbiologicas-de-agua-para-consumo-humano-voltadas-para-deteccao-de-coliformes-totais-e-termotolerantes/>> .Acesso em: 27 de nov. 2019.

FREITAS, Leonardo et al 2013. Quantificação microbiológica de bebedouros de escolas públicas em Muriaé, Revista Científica da Faminas. v.9, n.1, p. 1-4. Disponível em: <<http://periodicos.faminas.edu.br/index.php/RCFaminas/article/view/321/296>>. Acesso em: 04 de dez. 2018.

FELIX, Paula et al 2019. Por água contaminada, faculdade lacra bebedouros na Vila Mariana, em SP. Disponível em: <<https://sao-paulo.estadao.com.br/noticias/geral,por-agua-contaminada-faculdade-lacra-bebedouros-na-vila-mariana-em-sp,70002734765>>\_Acesso em: 29 de nov. 2019.

FUNASA. Manual prático de análise de água. Fundação Nacional de Saúde. 4ªed. p. 1-12. Brasília, 2013. Disponível em: <[http://www.funasa.gov.br/site/wp-content/files\\_mf/manual\\_pratico\\_de\\_analise\\_de\\_agua\\_2.pdf](http://www.funasa.gov.br/site/wp-content/files_mf/manual_pratico_de_analise_de_agua_2.pdf)> Acesso em: 22 de out. 2019.

JÚNIOR, José et al 2012. Detecção de coliformes totais pelo sistema cromogênico ( Colilert - Quanti - Tray 2000). IV encontro universitário da UFC no Cariri. Universidade federal do Ceará - Campus Cariri. p 1-5. Disponível em:<<https://docplayer.com.br/38273253-Deteccao-de-coliformes-totais-pelo-sistema-cromogenico-colilert-quanti-tray-2000.html>>. Acesso em: 30 de nov. 2019

KONEMAN, Elmer et al 2008. Diagnóstico microbiológico: texto e atlas colorido. 6ªed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 1760p. Acesso em: 2 de dez. 2019.

LKP Diagnósticos. Solução no controle de qualidade da água. 2019. [Instruções de uso do Kit COLItest®]. Disponível em: <<https://www.lkpdagnosticos.com.br/loja/noticia.php?loja=613826&id=25>>. Acesso em: 14 de jun. 2019.

LIESENBERG, David. Água mineral de garrafão pode oferecer riscos à saúde. AGEUNIARA, Universidade de Araraquara. 2017. Disponível em: <<https://www.uniara.com.br/ageuniara/3585/agua-mineral-de-garrao-pode-oferecer-riscos-a-sau-de/>>. Acesso em: 20 de dez. 2019.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Vigilância e controle da qualidade da água para consumo humano. Brasília (DF): Ministério da Saúde, 213p. 2006. Disponível em: <[http://bvsm.sau.gov.br/bvs/publicacoes/vigilancia\\_controle\\_qualidade\\_agua.pdf](http://bvsm.sau.gov.br/bvs/publicacoes/vigilancia_controle_qualidade_agua.pdf)>. Acesso em: 25 de nov. 2019.

MELO, Camila Nayara et al 2015. Análise microbiológica da água dos bebedouros da Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais campus Betim. Sinapse Múltipla. p.16-28. Disponível em: <<http://seer.pucminas.br/index.php/sinapsemultipla/article/download/9362/8352>>. Acesso em: 30 de out. 2019.

NOGUEIRA, Joseli Maria et al 2015. Bacteriologia IN: Conceitos e Métodos para formação de profissionais em Laboratórios de Saúde. v. 4, p.17-178.EPSJV/FIOCRUZ. Acesso em: 27 de mar. 2019.

PORTO, Maria et al 2011. Coliformes em água de abastecimento de lojas fast-food da região Metropolitana de Recife (PE, Brasil). Ciência & Saúde Coletiva, PE, v. 16, n. 5, p. 10. Disponível em: <<http://www.scielo.org/pdf/csc/2011.v16n5/26432652>>. Acesso em: 26 de abr. 2019.

PONTELO, Karina et al 2013. Validação de método alternativo para pesquisa de coliformes totais e *Escherichia coli* na água. Pós em Revista n.6, p. 246-252. Disponível em: <<https://docplayer.com.br/12696802-Validacao-de-metodo-alternativo-para-pesquisa-de-coliformes-totais-e-escherichia-coli-na-agua.html>>. Acesso: 25 de nov. 2019.

PINTO, Terezinha et al 2010. Controle Biológico de Qualidade de Produtos Farmacêuticos, Correlatos e Cosméticos. São Paulo. Atheneu Editora, 3.Ed. Acesso em: 26 de nov. 2019.

ROSENBERG, Fred et al 2003. The microbiology of bottled water. Clin Microbiol Newslett. p.41-44. Acesso em: 24 de nov. 2019.

ROCHA, Elissandro et al 2011. 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, v. 34, n. 3, p. 1-12. Disponível em: <<http://files.bvs.br/upload/S/0100-0233/2010/v34n3/a1871.pdf>>. Acesso em: 23 de nov. 2019.

RAMOS, Saulo et al 2018. Qualidade da água de fontes em diferentes usos do solo no Planalto Sul Catarinense. Rev. Ambient, Santa Catarina, v. 13, n. 4, p. 1-10. Disponível em:

<[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1980-993X2018000400304&lng=en&nrm=iso&tlng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1980-993X2018000400304&lng=en&nrm=iso&tlng=en)>. Acesso em: 29 de jun. 2019.

SOUTO, Renata Carneiro et al 2017. Apostila de Microbiologia CBB 1047. Ed. Pontificia Universidade Católica de Goiás. p. 7-52. Disponível em: <<http://professor.pucgoias.edu.br/sitedocente/admin/arquivosUpload/12515/material/Apostila%20de%20Microbiologia%20CBB%201047%202017%202.pdf>>. Acesso em: 5 de out. 2019.

SILVEIRA, Carlos et al 2017. Análise microbiológica da água do Rio Bacacheri, em Curitiba (PR). Eng. Sanit. Ambient, Curitiba (PR), v. 23, n. 5, p. 1-6. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/esa/v23n5/1809-4457-esa-23-05-933>>. Acesso em: 29 de jun. 2019.

SILVA, Neusely et al 2010. *Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água*. 4. ed. São Paulo: Editora Varela. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_nlinks&pid=S2318-0331201800010024100034&lng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_nlinks&pid=S2318-0331201800010024100034&lng=en)>. Acesso em: 24 de mar.2019.

LIESENBERG, David. Água mineral de garrafão pode oferecer riscos à saúde. AGEUNIARA, Universidade de Araraquara. 2017. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_abstract&pid=S1413-81232010000100011&lng=en&nrm=iso&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1413-81232010000100011&lng=en&nrm=iso&tlng=pt)>. Acesso em: 20 de dez. 2019.

SILVA, Mariele Santos et al 2017. Qualidade Bacteriológica Da Água Dos Bebedouros Da Faculdade Evangélica De Ceres-Go. Enciclopédia Biosfera. Goiânia. P. 1-11. Disponível

em:<<http://anais.unievangelica.edu.br/index.php/CIPEEX/article/view/2448/761>>. Acesso em: 13 de nov. 2019.

SECO, Bruna et al 2012. Análise bacteriológica das águas de bebedouros do campus da universidade estadual de Londrina, Londrina, v. 33, n. 2, p. 193-200. Disponível em:<<http://www.uel.br/revistas/uel/index.php/seminabio/article/view/10546>>. Acesso em: 4 de dez.2018.

SILVA, Neusely. Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e Água. 5ª edição. São Paulo. Editora Bluncher, 535p. 2017. Acesso em : 24 de nov. 2019.

SIMEÃO, Eliane Aparecida et al 2011. Análise microbiológica de água mineral consumida na Fundação educacional do município de Assis. (Monografia) 62p. Disponível em:<<https://cepein.femanet.com.br/BDigital/arqTccs/0611160471.pdf>>. Acesso em: 20 de fev. 2019.

TORTORA, Gerard et al 2017. *Microbiologia*. 12. ed. Porto Alegre: Artmed, 964 p. Acesso em: 21 de fev. 2019.

VOLKWEIS, Dionara et al 2015. Qualidade microbiológica da água utilizada na produção de alimentos por agroindústrias familiares do município de Constantina/RS. Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental, v. 19, n. 1, p. 18-26. Disponível em: <<https://periodicos.ufsm.br/reget/article/view/19182>>. Acesso em: 28 de set. 2019.

YAMAGUCHI, Mirian Ueda et al 2013. Qualidade microbiológica da água para consumo humano em instituição de ensino de Maringá, O Mundo da Saúde, São Paulo. v.37 n.3, p. 312-320. Disponível em: <[http://www.saocamilo-sp.br/pdf/mundo\\_saude/106/1827.pdf](http://www.saocamilo-sp.br/pdf/mundo_saude/106/1827.pdf)>. Acesso em: 20 de fev.2019.