

Centro Universitário de Várzea Grande

**CONTAMINAÇÃO POR COLIFORMES EM ÁGUA MINERAL ENVASADA EM
GALÕES DE 20 LITROS NA REGIÃO DE CUIABÁ E VÁRZEA GRANDE – MT.**

Várzea Grande

2018

Centro Universitário de Várzea Grande

CONTAMINAÇÃO POR COLIFORMES EM ÁGUA MINERAL ENVASADA EM GALÕES DE 20 LITROS NA REGIÃO DE CUIABÁ E VÁRZEA GRANDE – MT.

Érica Maiane Ferreira de Oliveira
Yasmin Rodrigues Melo

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado a graduação de Biomedicina do Centro Universitário de Várzea Grande como requisito para a conclusão do curso.

Orientador(a): Profª Drª Selma Baia Batista.

Várzea Grande

2018

RESUMO

A água é muito importante para a saúde dos seres humanos, por isso deve estar em seu estado mais puro, ou seja, livre de microrganismos patogênicos. Dessa maneira o presente estudo teve como objetivo analisar algumas marcas de água mineral envasadas em galões de 20 litros que são comercializadas em Cuiabá e Várzea Grande, MT. A análise foi feita de acordo com a RDC nº 275 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, que estabelece parâmetros para a presença de microrganismos. Para isso, foi utilizada a técnica de número mais provável (NMP) que identifica microrganismos termotolerantes e fermentadores de lactose que são características dos coliformes totais, coliformes termotolerantes e *Escherichia coli* (*E. coli*), através dos testes presuntivo e confirmatório. Os principais bioindicadores da qualidade da água são os coliformes termotolerantes e o principal microrganismo representante desse grupo é a *E. coli*, cujo habitat natural é o trato intestinal de animais de sangue quente e indica contaminação fecal. Foram coletadas cinco amostras de três marcas, totalizando 15 subamostras e após o estudo constatou-se que de 15 amostras analisadas 11 apresentaram coliformes totais o que pode indicar a má sanitização no processo de envasamento da água dos e má higienização dos galões que são reutilizados. Sendo assim, podem trazer riscos a saúde dos consumidores desse produto.

Palavras chave: Qualidade microbiológica; Número Mais Provável; *Escherichia coli*.

ABSTRACT

Water is very important to human's health that is why it should be in its purest form, in other words, free from pathogenic microorganisms. Therefore this study has the objective to analyze some mineral water brands that are bottled in 20 liters galloons and commercialized in Cuiabá e Várzea Grande, MT. The analysis was made according to RDC nº 275 of the Agência Nacional de Vigilância Sanitária that established parameters to the presence of microorganisms. In this way it was used the most probable number method, that identifies microorganism's thermotolerants and lactose fermenters which are characteristics of the coliforms and of *Escherichia coli* (*E.coli*), through presuntive test and confirmative test. The principal bioindicators of water quality are the thermotolerants and the principal microorganism that represents its group is the *E. coli* which its natural habitat is the gastrointestinal tract of warm blood animals and indicates fecal contamination. Were collected five samples of three different brands totalizing 15 subsamples and the results of the study showed that from 15 samples 11 were contaminated with total coliforms that may indicate bad sanitation of the gallons which are reusable and problems on the processing of manufacturing of this product in that way can cause health issues to its consumers.

Key words: Microbiological quality; Most Probable Number; *Escherichia coli*.

INTRODUÇÃO

O corpo humano possui cerca de 60% de água em sua estrutura e é importante em diversas funções fisiológicas, como o mecanismo da excreção renal que necessita de um equilíbrio hídrico para seu bom funcionamento. Sendo assim a água é essencial para a manutenção da homeostasia do organismo humano. Dessa forma a água que o ser humano ingere deve ser livre de patógenos que possam causar danos à saúde (SERAFIM et al, 2004).

Assim, no Brasil foram estabelecidas normas e parâmetros para a fiscalização e manutenção da qualidade da água envasada que será consumida. Esses parâmetros foram determinados pelo órgão de fiscalização no país, ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), através da Portaria de nº 2.914 que dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade, juntamente com as Resoluções da Diretoria Colegiada (RDCs) de nº 274/2005 que aprovam o regulamento técnico para águas envasadas e gelo e a nº 275/2005 que regulam características microbiológicas para água mineral natural e água natural (BRASIL, 2011).

A água mineral engarrafada, apesar do controle de qualidade ser executado, pode apresentar microrganismos em sua forma natural. Porém a presença de microrganismos patogênicos (Coliformes) indica uma falha na qualidade desse produto (MEDEIROS, 2011).

Os principais bioindicadores da qualidade da água são os coliformes termotolerantes e o principal microrganismo representante desse grupo é a *E. coli*, cujo habitat natural é o trato intestinal de animais de sangue quente e indica contaminação fecal e a má condição sanitária da água mineral, e ao serem ingeridas podem causar infecções no organismo humano. Além da *E. coli* outros microrganismos também podem causar infecções, como as espécies *Enterococos*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella spp*, *Shigella spp*, *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus aureus*, entre outros (FERNANDES et al, 2017).

Os coliformes totais são bacilos Gram-negativos, aeróbios ou anaeróbios facultativos, capazes de desenvolver na presença de sais biliares ou agentes tensoativos que fermentam a lactose com produção de ácido, gás e aldeído a $35,0 \pm$

0,5° C em 24-48 horas, os coliformes termotolerantes fermentam a lactose a 44,5 ± 0,2° C em 24 horas e a *E. coli* que fermenta a lactose e manitol, com produção de ácido e gás a 44,5 ± 0,2° C em 24 horas produz indol a partir do triptofano e é o microrganismo considerado indicador da qualidade da água. A presença de *E. coli* não causa tantos danos à saúde mas indica presença de microrganismos patogênicos (BRASIL, 2013).

Visto que há polêmicas relacionadas à presença de tais microrganismos em empresas que atuam no estado de Mato Grosso este trabalho possui o intuito de verificar a qualidade microbiológica da água mineral envasada em galões de 20 litros, que é distribuída e comercializada para a população de Cuiabá e Várzea Grande com base no que regula a RDC Nº 275/2005.

METODOLOGIA

Trata-se de uma análise microbiológica da água mineral envasada em galões de 20 litros comercializada nas regiões de Cuiabá e Várzea Grande com base no que é proposto na resolução de diretoria colegiada nº 275 da ANVISA que define as características microbiológicas para água mineral e considera como representativas o número de 5 amostras e ao final das análises não é aceitável a presença de coliformes termotolerantes e *E. coli* e há um limite de presença de coliformes totais. (BRASIL, 2005).

Dessa forma as amostras foram classificadas de acordo com a marca e o preço, a marca com o preço mais alto (A), a marca de preço médio (B) e a marca com o preço baixo (C), de acordo com os valores regionais, sendo que cada marca teve 5 amostras (A1, A2, A3, A4, A5, B1, B2, B3, B4, B5, C1, C2, C3, C4, C5) totalizando 15 subamostras. Previamente à coleta os galões foram devidamente higienizados com hipoclorito e álcool 70%.

A técnica utilizada foi a de Número Mais Provável (NMP) descrita no Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater que é separada em dois testes; presuntivo e confirmatório (BRANDÃO et al, 2012).

O teste presuntivo é a inoculação das amostras em caldo Lauril Sulfato Triptose com incubação em estufa a 35 ± 2°C por 48 horas. Nesse teste as 15 amostras foram inoculadas em três diluições de 10 mL, 1 mL e 0,1 mL em tubos com 10 ml de caldo lactosado. Nos tubos com o caldo foram adicionados tubos de

Durham invertidos (tais tubos demonstram fermentação da lactose por coliformes totais, através de bolhas em seu interior). Cada diluição foi feita com cinco tubos totalizando 75 tubos para cada marca (SILVA et al, 2016).

O teste confirmatório é a inoculação das amostras positivas no teste anterior em dois meios de cultura diferentes; O caldo verde brilhante, que demonstra crescimento através de bolhas no tubo de Durham, para coliformes que fermentam lactose á $35 \pm 2^{\circ}$ C em estufa classificados como coliformes ambientais. O outro meio é o caldo E.C (*Escherichia coli*), onde foram inoculadas as amostras positivas do primeiro teste. Esse meio possibilita o crescimento seletivo de microrganismos que fermentam a lactose em banho-maria á $44,5 \pm 0,2^{\circ}$ C (coliformes termotolerantes, que tem como principal representante a *E.coli*).

A RDC de nº 275 disponibiliza os parâmetros microbiológicos aceitos em água mineral (verificar no Quadro 1), dessa forma é possível compara-las com os resultados obtidos no teste confirmatório e verificar se as amostras analisadas estão dentro dos padrões.

Quadro 1: Características microbiológicas para Água Mineral Natural e Água Natural. Adaptado por Oliveira et al, 2018.

Microrganismo	Amostra indicativa limites	Amostra representativa			
		n	c	m	M
Escherichia coli ou coliforme (fecais) termotolerantes, em 100 mL	Ausência	5	0	-.-	Ausência
Coliformes totais, em 100 mL	<1,0 UFC; <1,1 NMP ou ausência	5	1	<1,0 UFC; <1,1 NMP ou ausência	2,0 UFC ou 2,2 NMP

Legenda:

n: é o número de unidades da amostra representativa a serem coletadas e analisadas

c: é o número aceitável de unidades da amostra representativa que pode apresentar resultado entre os valores "m" e "M".

m: é o limite inferior (mínimo) aceitável. É o valor que separa qualidade satisfatória de qualidade marginal do produto. Valores abaixo do limite "m" são desejáveis.

M: é o limite superior (máximo) aceitável. Valores acima de "M" não são aceitos.

Fonte: BRASIL, Ministério da saúde, RDC Nº 275, 2005.

RESULTADOS

O método de Número Mais Provável dispõe uma tabela que quantifica NMP/100 mL, isso é feito observando o número de tubos positivos em cada diluição

de cada teste. Das 15 amostras analisadas no teste presuntivo as amostras A1, A2, A3, A4 A5, B1, B2, C1, C2, C3, C4 E C5, apresentaram-se fora dos padrões exigidos pela ANVISA através da RDC nº 257 de 2005 enquanto as amostras B3, B4 e B5 estão dentro do padrão. Os resultados obtidos no teste estão expressos na Tabela 1.

Tabela 1: Resultados obtidos do teste presuntivo pelo método de Número mais Provável.

Amostras	10 mL	1 mL	0,1 mL	Coliformes totais (NMP/100 mL)
A1	3	1	0	11 NMP
A2	4	1	0	17 NMP
A3	1	0	0	2 NMP
A4	4	3	1	33 NMP
A5	4	4	0	34 NMP
B1	5	3	2	140 NMP
B2	4	2	1	26 NMP
B3*	0	0	0	<2 NMP
B4*	0	0	0	<2 NMP
B5*	0	0	0	<2 NMP
C1	4	0	0	13 NMP
C2	2	3	0	12 NMP
C3	4	3	1	33 NMP
C4	3	0	0	8 NMP
C5	3	2	1	17 NMP

Fonte: Oliveira et al (2018)

Legenda: (*) amostras dentro dos parâmetros exigidos pela RDC nº 257

Das 15 amostras inoculadas em caldo verde brilhante (teste confirmatório para coliformes totais) 11 apresentaram-se positivos para esse grupo de microrganismos e quatro (B3, B4, B5 e C2) estão dentro dos padrões exigidos pela ANVISA, os resultados estão descritos na Tabela 2.

Tabela 2: Teste confirmatório para Coliformes fermentadores de Lactose a 37° C.

Amostras	10 mL	1 mL	0,1 mL	Coliformes totais (NMP/100 mL)
A1	1	1	0	4 NMP
A2	1	2	0	6 NMP

A3	2	0	0	4 NMP
A4	3	2	1	17 NMP
A5	3	2	1	17 NMP
B1	3	2	1	17 NMP
B2	4	2	1	26 NMP
B3*	0	0	0	<2NMP
B4*	0	0	0	<2NMP
B5*	0	0	0	<2NMP
C1	3	0	0	8 NMP
C2*	0	0	0	<2 NMP
C3	4	3	1	33 NMP
C4	5	3	1	110 NMP
C5	3	2	1	17 NMP

Fonte: Oliveira et al (2018)

Legenda: (*) amostras dentro dos parâmetros exigidos pela RDC nº 257

No teste com o meio E.C não houve crescimento de coliformes termotolerantes fermentadores de lactose à 45° C e *E. coli*. Resultados na Tabela 3.

Tabela 3: Teste confirmatório para coliformes termotolerantes fermentadores de lactose à 45°.

Amostras	10 mL	1 mL	0,1 mL	Coliformes termotolerantes/ <i>E.coli</i> (NMP/100 mL)
A1	0	0	0	Ausente
A2	0	0	0	Ausente
A3	0	0	0	Ausente
A4	0	0	0	Ausente
A5	0	0	0	Ausente
B1	0	0	0	Ausente
B2	0	0	0	Ausente
B3	0	0	0	Ausente
B4	0	0	0	Ausente
B5	0	0	0	Ausente
C1	0	0	0	Ausente
C2	0	0	0	Ausente
C3	0	0	0	Ausente
C4	0	0	0	Ausente
C5	0	0	0	Ausente

Fonte: Oliveira et al (2018)

DISCUSSÃO

Através dos resultados obtidos nos dois testes observou-se que não houve amostras positivas para coliformes termotolerantes ou *E. coli*, ou seja, as marcas de água mineral analisadas estão de acordo com os parâmetros exigidos pela RDC nº 257 para esse tipo de microrganismo. Porém 11 amostras estão fora dos limites exigidos para a presença de coliformes totais.

Em SILVA, et al (2016), ao avaliar a presença de coliformes em água mineral em Mossoró – RN não foi detectada a presença de *E. coli*, somente coliformes totais e termotolerantes, que os autores descrevem como um possível problema de contaminação na fonte e no processo de envasamento.

Em CABRINI et al (2001), avaliando a qualidade da água mineral, com relação a microrganismos, coletadas diretamente da fonte, em 30 amostras somente duas apresentaram coliformes totais e após o envasamento oito estavam contaminadas. Sendo assim há grande possibilidade de erro no processamento do produto, má higienização, indicando falha nas boas práticas de fabricação.

FARACHE FILHO, et al, (2008) ao verificarem a qualidade microbiológica em galões de 20 litros em 84 amostras, 13 apresentaram-se positivas para coliformes totais e dessas 13 amostras, duas foram positivas para coliformes termotolerantes e *E. coli*. Isso foge dos padrões de sanitização e de higiene no envasamento da água mineral. A presença de coliformes termotolerantes indica a possível presença de microrganismos enteropatogênicos como a *E.coli* que pode causar infecções no trato gastrointestinal por seus diversos sorotipos.

COELHO et al, (1998) analisaram a qualidade microbiológica de seis marcas de água mineral em Curitiba – PR e foi constatada a presença de coliformes totais em duas marcas e ausência de coliformes termotolerantes e *E.coli*, que se assemelha ao resultado encontrado neste trabalho. Os autores relacionam o resultado obtido na análise com a falha no processo de engarrafamento e falta da higienização do ambiente de envasamento.

Em BRANDÃO et al, (2012) ao avaliar a qualidade microbiológica da água mineral, entre as amostras analisadas cinco (16,13%) apresentaram coliformes totais e duas amostras (6,45%) contaminadas com coliformes termotolerantes. Estes

autores também apontam a falta de fiscalização sanitária nos processos de engarrafamento e fabricação.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Avaliando os resultados obtidos nessa pesquisa, observa-se que em relação a coliformes termotolerantes e *E.coli*, que indicam contaminação fecal, as amostras de água mineral envasadas em galões de 20 litros de três marcas comercializadas em Cuiabá e Várzea Grande - MT estão de acordo com a exigência feita pela RDC nº 257 de 2005 da ANVISA.

Em contrapartida as amostras analisadas não estão de acordo para coliformes totais, que pode ser resultado da má higienização dos galões que possivelmente estavam contaminados por fatores externos e não a água em si, e no processo de envasamento desse produto, que podem oferecer riscos para os consumidores.

Recomenda-se uma melhor fiscalização nos processos de higiene envolvidos no processamento da água, higienização correta dos vasilhames reutilizáveis, reavaliação do prazo de validade que galões permanecem no mercado e a conscientização dos colaboradores envolvidos quanto as boas práticas de fabricação para prevenir contaminações por coliformes.

REFERÊNCIAS

BRANDÃO, Marcelo Luiz Lima; ROSAS Carla de Oliveira; MEDEIROS, Valéria de Mello; WARNKEN, Márcia Barbosa; BRICIO, Silvia Maria Lopes; SILVA, Ana Maria Luiz; AZEREDO, Denise Rosane Perdomo. Comparação das técnicas do número mais provável (NMP) e de filtração em membrana na avaliação da qualidade microbiológica de água mineral natural. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 71, n. 1, p. 32-39, 2012.

BRASIL. ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC nº 274, de 22 de setembro de 2005**, Regulamento técnico para águas envasadas e gelo. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2005/rdc0275_22_09_2005.html>. Data de acesso: 10 de abril de 2018.

BRASIL. ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC nº 275, de 22 de setembro de 2005**, Regulamento Técnico de Características Microbiológicas para Água Mineral Natural e Água Natural. Disponível em:

<http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2005/rdc0275_22_09_2005.html>. Data de acesso: 10 de abril de 2018.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. Portaria n. 2.914, 12 de dezembro de 2011.** Brasília, 2011. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2011/prt2914_12_12_2011.html> Data de Acesso: 09 de abril de 2018.

BRASIL. FUNASA – Fundação Nacional de Saúde. **Manual prático de análise de água**, 4ª Edição, 2013. Disponível em: <http://www.funasa.gov.br/site/wp-content/files_mf/manual_pratico_de_analise_de_agua_2.pdf> Data de acesso: 30 de abril de 2018.

CABRINI, K. T.; GALLO, C. R. **Microbiological quality of spring mineral water and bottled mineral water.** In: Anais do XXI Congresso Brasileiro de Microbiologia. p. 406-406, 2001.

COELHO, Débora Leal; PIMENTEL, Ida Chapaval; BEUX, Márcia Regina. **Uso do método do substrato cromogênico para quantificação do número de bactérias do grupo coliforme em águas minerais envasadas.** Bol. Centro Pesqui. Process. Aliment, p. 45-54, 1998. Disponível em: <<https://revistas.ufpr.br/alimentos/article/download/13972/9402>> Data de acesso: agosto de 2018.

FARACHE FILHO, Adalberto; DIAS, Maria Fernanda Falcone. **Qualidade microbiológica de águas minerais em galões de 20 litros.** Alimentos e Nutrição Araraquara, v. 19, n. 3, p. 243-248, 2009. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/49599914_QUALIDADE_MICROBIOLOGICA_DE_AGUAS_MINERAIS_EM_GALOES_DE_20_LITROS> Data de acesso: 28 de setembro de 2018.

FERNANDES, A. C. G., CAVALCANTI, L. F. M., BARROS, M. L. S. C., & OLIVEIRA, F. M. D. C. (2017). **Análises Descritivas E Microbiológicas Das Águas Minerais Envasadas E Comercializadas Na Região Metropolitana De Recife-Pe.** *Ciência e Natura*, 39(2), 272. Disponível em: <<https://doi.org/10.5902/2179460X23622>> Data de acesso: 11 de abril de 2018.

MEDEIROS, T. A. de. (2011). **Avaliação da qualidade microbiológica da água mineral disponibilizada em bebedouros da Universidade Municipal de São Caetano do Sul (USCS).** Disponível em http://www.uscs.edu.br/pesquisasacademicas/images/download_inici_cientifica/prof_cassiafurlan_e_tatianeaparecida_sau_farm.pdf> Data de acesso: 10 de abril de 2018.

SANT'ANA, Anderson de S. et al. **Qualidade microbiológica de águas minerais.** Ciênc. Tecnol. Aliment. v. 23, 2003. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cta/v23s0/19495>> Data de acesso: 28 de Setembro de 2018.

SERAFIM, A. L., VIEIRA, E. L., & LINDEMANN, I. L. (2015). **IMPORTÂNCIA DA ÁGUA NO ORGANISMO HUMANO.** VIDYA, 24(41), 11. Disponível em:

<<https://periodicos.unifra.br/index.php/VIDYA/article/view/425>> Data de acesso: dia 09 de abril de 2018.

SILVA, M. M; CORTEZ, A. O; SANTOS, C.S; FEIJÓ, F. M. C. **Avaliação de coliformes em água mineral comercializada no município de Mossoró/RN.** 2016. Disponível em:<http://www.editorarealize.com.br/revistas/conedu/trabalhos/TRABALHO_EV056_MD1_SA13_ID8852_12082016120758.pdf> Data de acesso: 01 de maio de 2018.