II-057 - COLIFORMES COMO INDICADORES DA QUALIDADE DA ÁGUA: ALCANCE E LIMITAÇÕES

Rafael K.X. Bastos[(1)]
Engenheiro Civil, Universidade Federal de Juiz de Fora. Especialização em Engenharia de Saúde Pública, ENSP/FIOCRUZ. Ph.D. em Engenharia Sanitária, University of Leeds, UK. Professor e pesquisador do Departamento de Engenharia Civil da Universidade Federal de Viçosa (UFV). Chefe do Serviço de Tratamento de Água da UFV.

Paula Dias Bevilacqua
Veterinária, Universidade Federal de Viçosa. Mestrado em Epidemiologia, Universidade Federal de Minas Gerais. Doutorado em Epidemiologia. Universidade Federal de Minas Gerais. professora e pesquisadora do Departamento de Veterinária da Universidade Federal de Viçosa (UFV).
Luís Eduardo do Nascimento
Técnico do Serviço de Tratamento de Água da UFV. Graduando em Química da UFV.
Geisla R.M. Carvalho
Estagiária do Serviço de Tratamento de Água da UFV. Graduanda em Nutrição da UFV.
Carolina Ventura da Silva
Estagiária do Serviço de Tratamento de Água da UFV. Graduanda em Nutrição da UFV.

Endereço[(1)]**:** Universidade Federal de Viçosa - Departamento de Engenharia Civil - Viçosa - MG - CEP: 36571-000 - Brasil - Tel: (31) 899-2356 - e-mail: rkxb@mail.ufv.br

RESUMO

Apresenta-se o resultado do monitoramento de águas superficiais e subterrâneas no município de Viçosa. Foram utilizadas duas técnicas de laboratório para a detecção de coliformes totais, fecais e *E. coli*: fermentação da lactose – teste do indol e método cromofluorogênico. Os resultados obtidos, aliados ao conhecimento acumulado em microbiologia sanitária, fornecem subsídios para a discussão sobre a validade (alcance e limitações) do emprego de bactérias do grupo coliforme como organismos indicadores da qualidade da água e apontam para a necessidade de atualização da legislação vigente (Resolução CONAMA 20/86 e Portaria 36GM/90). Adicionalmente, inclui-se breves comentários sobre vantagens e desvantagens das técnicas de laboratório utilizadas.

PALAVRAS-CHAVE: Qualidade da Água, Organismos Indicadores, Coliformes.

INTRODUÇÃO

No desenvolvimento do conceito de organismos indicadores de contaminação, por muito tempo prevaleceu o emprego da *E. coli*, isolada e inicialmente denominada de *Bacterium coli* por Theodor Escherichi em 1955. Entretanto, a busca por agilidade e simplicidade deu lugar à utilização disseminada dos "coliformes" e, mais tarde dos "coliformes fecais", determinados pelo teste da termotolerância, introduzidos por Eijkman em 1904 (MÜLLER e MOSSEL, 1982; HOFSTRA e HUISINT'T VELD, 1988).

Reconhecidamente, o grupo dos coliformes fecais totais inclui espécies de origem não-exclusivamente fecal, podendo ocorrer naturalmente no solo, na água e em plantas (OMS, 1995). Apesar da denominação, o grupo dos coliformes fecais também inclui bactérias de origem não-exclusivamente fecal (BAGLEY e SEIDLER, 1977; DUNCAN e RAZELL, 1972) e, principalmente em países de clima tropical, mesmo que originalmente introduzidas na água por poluição fecal, podem adaptar-se ao meio aquático (LOPEZ-TORREZ et al., 1977).

Estes são apenas dois exemplos de que, apesar de ainda não existirem substitutos à altura, o emprego indiscriminado dos coliformes como indicadores de contaminação pode levar à super ou subavaliações da segurança ou dos ricos à saúde, associados a uma determinada situação. À luz do conhecimento acumulado em Microbiologia e Engenharia Sanitária (ex.: composição do grupo coliforme, técnicas de detecção, características dos microrganismos indicadores e patogênicos, remoção através de processos de tratamento de

águas, etc.), discute-se o alcance e limitações do emprego dos coliformes como indicadores da qualidade da água, vis-à-vis às respectivas normas e padrões vigentes. Ênfase especial é dada ao emprego dos coliformes totais (CT), coliformes fecais (CF) e *E. coli* na avaliação da qualidade da água *in natura*, cuja discussão é ilustrada com resultados de análises de amostras de fontes variadas, conduzidas no Laboratório de Controle da Qualidade da Água do Serviço de Tratamento de Água da Universidade Federal de Viçosa (STA/UFV).

MATERIAIS E MÉTODOS

Os resultados apresentados referem-se às amostras analisadas no STA/UFV de 1998 até o presente, incluindo: monitoramento de rotina do manancial de abastecimento, monitoramento de rotina da água distribuída no campus universitário, serviços prestados a terceiros: amostras de águas subterrâneas, água superficiais e nascentes. As técnicas de coleta obedeceram aos procedimentos prescritos no Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (APHA, 1995).

Para a detecção e quantificação de coliformes totais (CT), coliformes fecais (CF) e *E. coli* foi empregada a técnica de tubos múltiplos, incluindo a técnica de fermentação (APHA, 1995), detecção rápida de *E. Coli* (DHSS, 1982) e método cromogênico-fluorogênico.

Na técnica da fermentação foram utilizados os seguintes meios de cultura: CT presuntivo-caldo lauril triptose (CLT); CT confirmativo-caldo verde brilhante (CVB); CF-caldo EC (EC). CT foram confirmados quando da produção de ácido e gás em tubos contendo CVB, incubados à 37^{o}C por 24-48 h; CF foram confirmados quando da produção de ácido e gás em tubos contendo EC, incubados à 44^{o}C por 24 h. A presença de *E. coli* foi considerada quando da produção de indol (detectada pela adição de reagente Kovac's) em tubos contendo água de triptona (AT), incubados à 44^{o}C por 24 h.

Na detecção de CT e *E. coli* através do método cromogênico-fluorogênico foi utilizado o meio de cultura Fluorocult caldo LMX (Merck).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ocorrência de Coliformes nas Amostras Analisadas

Na Tabela 1 são apresentadas as médias geométricas de 100 amostras do manancial de abastecimento do STA/UFV; trata-se de um reservatório de acumulação de manancial superficial, cuja bacia de captação é pouco protegida e sujeita a diversas interferências e atividades antrópicas, tais como, ocupação urbana e atividades agropecuárias. As médias da Tabela 1 referem-se à amostras coletadas e analisadas separadamente (em diferentes momentos), por métodos distintos, ao longo de um período de cerca de 29 meses.

Tabela 1: Ocorrência de coliformes no manancial de abastecimento. Média geométrica (org./100 ml).

Método	CT	CF	*E. coli*
FL-In	$1,5 \times 10^3$	$6,7 \times 10^2$	$1,9 \times 10^2$
CrF	$1,0 \times 10^3$	-	$3,2 \times 10^2$

CT: coliformes totais; CF: coliformes fecais; FL-In: fermentação da lactose, teste do indol e CrF: método cromogênico-fluorogênico.

Análises estatísticas não revelaram diferenças significativas entre as médias de coliformes totais (CT) ($t = 1,30$; $p = 0,20$) e *E. coli* (EC) ($t = 1,55$; $p = 0,12$) determinadas pelos dois métodos, sugerindo que ambas apresentaram sensibilidade e especificidade similares. Já as densidades de CT, CF e EC, determinadas pelo método FL-In, apresentaram-se, respectivamente, em ordens de grandeza decrescente e significativas estatisticamente ($t = 2,78$; $p = 0,0064$; $t = 6,66$; $p = 0,0006$). O mesmo foi observado entre as densidades de CT e EC, determinadas pelo método CrF ($t = 3,40$; $p = 0,0016$).

O trabalho incluiu ainda o monitoramento de outras águas superficiais, que em conjunto com o manancial de abastecimento (Tabela 1), totalizaram mais de 200 amostras.

Análise de regressão revelaram as seguintes relações entre as densidades de CT, CF e EC (Figuras 1 a 4).

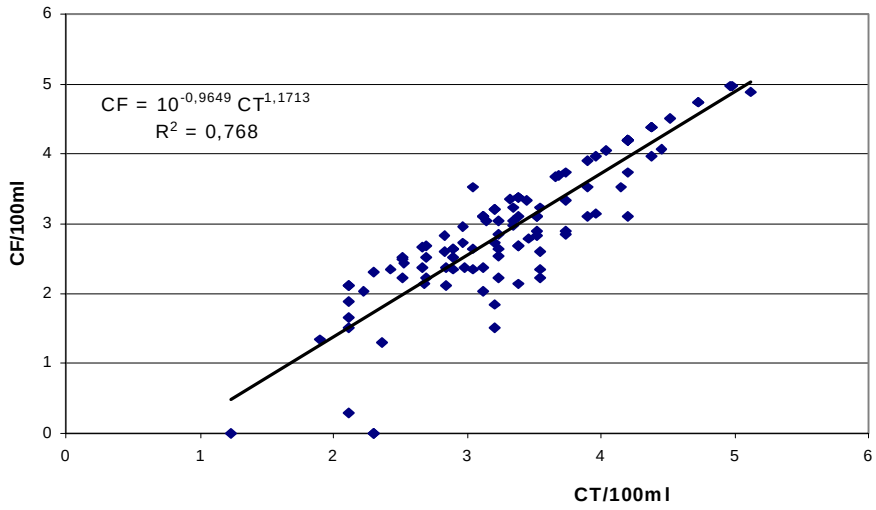

Figura 1: Relação entre densidades de CT e CF, método Fl-In.

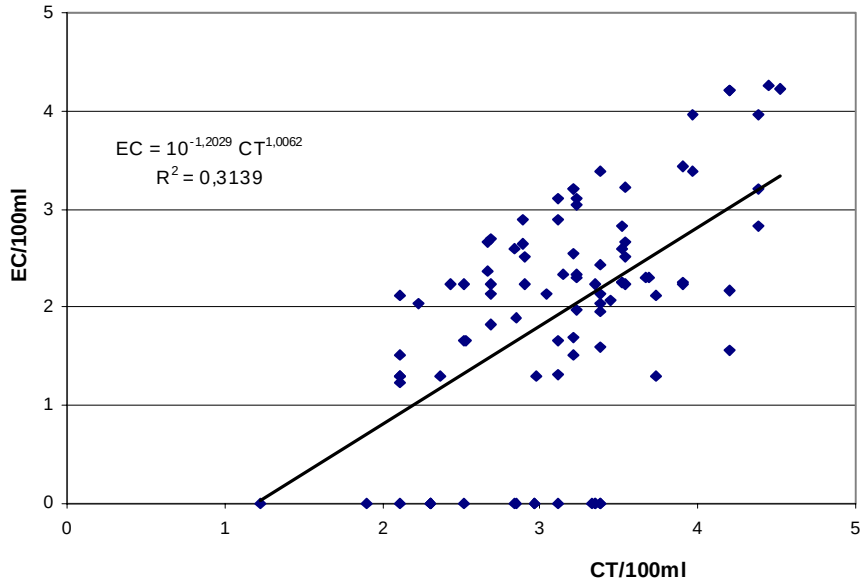

Figura 2: Relação entre densidades de CT e EC, método FL-In.

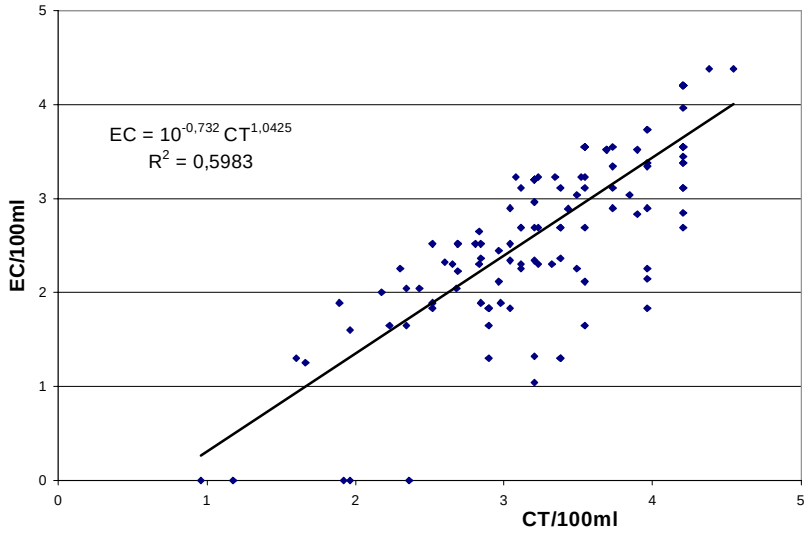

Figura 3: Relação entre densidades de CF e EC, método FL-In.

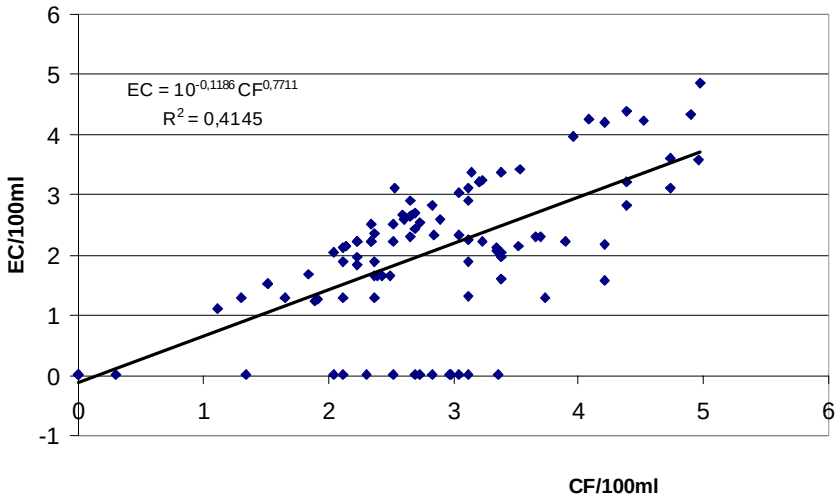

Figura 4: Relação entre densidades de CT e EC, método CrF.

Guardadas as devidas ressalvas (significância estatística dos coeficientes das regressões e reprodutibilidade dos resultados), poder-se-ia especular que: as densidades de CT, CF e EC, determinadas pelo método FL-In, tendem a apresentar-se, respectiva e sensivelmente, em ordem decrescente de 1 unidade logarítmica (UL); pelo mesmo método, à medida que as densidades de CF se elevam, alargam-se as diferenças entre as densidades destes e de EC, ou seja, menos os CF são confirmados como *E. coli*; por sua vez, as densidades de CT e EC, determinadas pelo método CrF, diferem entre si de, aproximadamente, 1 UL; quando os CT apresentam-se em densidades inferiores a 10^2org./100 ml, *E. coli* tende a apresentar-se em densidades não-detectáveis; inversamente a presença de *E. coli* foi, preponderantemente, detectada em água com CT > 10^3org./100 ml e, ou, CF > 10^2org./ml.

As observações acima permitem inferir sobre a superioridade do método CrF (maior especificidade) na detecção de *E. coli*, sendo isto ilustrado também pelo melhor ajuste da reta EC x CT determinada por este método; além disso a análise realizada reforça os questionamentos acerca da validade do teste de termotolerância como indicador de contaminação fecal.

Entretanto, de acordo com os dados da Tabela 1, poder-se-ia especular que o teste de termotolerância em simultaneidade com o teste do indol, comparados ao método cromofluorogênico, gardam certa equivalência. De toda sorte, os resultados confirmam a sugestão do emprego de *E. coli* como um indicador mais preciso de contaminação e de seu respectivo nível.

Nas Tabelas 2, 3 e 4 são apresentados, respectivamente, os resultados de análises de amostras de poços rasos escavados, poços profundos, minas e nascentes.

Ainda que limitadas pelo pequeno número de amostras, algumas considerações sobre águas subterrâneas poderiam ser destacadas. Os CT e CF podem não apresentar qualquer significado sanitário, principalmente quando presentes em baixas densidades; quanto mais protegida a fonte de água, mais os coliformes totais e termotolerantes mantêm o atributo de indicadores de contaminação; preponderantemente, *E. coli* foi detectada quando as densidades de CT e CF são mais elevadas e, ou, de ordens de grandeza próximas entre si.

Tabela 2: Ocorrência de coliformes em amostras de poços rasos escavados (org./100 ml).

CT	CF	*E. coli*	Método	CT	CF	*E. coli*	Método
1,8	NR	ND	CrF	$1,1 \times 10^2$	ND	ND	FL-In
4,5	ND	ND	FL-In	$> 1,6 \times 10^2$	NR	$3,5 \times 10^2$	FL-In
4,5	2,0	ND	FL-In	$1,8 \times 10^2$	ND	ND	CrF
$1,7 \times 10^1$	ND	ND	FL-In	$3,3 \times 10^2$	NR	ND	CrF
$1,7 \times 10^1$	2,0	ND	FL-In	$4,9 \times 10^2$	NR	ND	CrF
$2,1 \times 10^1$	$1,1 \times 10^1$	2,0	FL-In	$7,0 \times 10^2$	NR	ND	CrF
$2,3 \times 10^1$	ND	ND	FL-In	$7,9 \times 10^2$	NR	ND	CrF
$3,3 \times 10^1$	$1,1 \times 10^1$	4,5	FL-In	$2,4 \times 10^2$	ND	ND	FL-In
$4,8 \times 10^1$	3,7	ND	FL-In	$1,3 \times 10^3$	$1,3 \times 10^3$	$1,2 \times 10^1$	FL-In
$4,9 \times 10^1$	$4,9 \times 10^1$	ND	FL-In	$> 1,6 \times 10^3$	$> 1,6 \times 10^3$	4,5	FL-In
$7,8 \times 10^1$	NR	ND	CrF	$3,5 \times 10^3$	$2,4 \times 10^3$	NR	FL-In
$7,9 \times 10^{1*}$	5,6	ND	FL-In	$3,5 \times 10^3$	NR	$3,3 \times 10^2$	CrF

*Teste presuntivo para CT; NDÇ não-detectado; NR: não-realizado; FL-In: fermentação da lactose, teste do indol e CrF: método cromogênico-fluorogênico.

Tabela 3: Ocorrência de coliformes em amostras de poços profundos (org./100 ml).

CT	CF	*E. coli*	Método
2,0	2,0	ND	FL-In
2,0	2,0	2,0	FL-In
2,0	2,0	2,0	FL-In
4,5	ND	ND	FL-In
$2,0 \times 10^1$	NR	ND	CrF
$2,3 \times 10^1$	$1,3 \times 10^1$	ND	FL-In
$2,3 \times 10^1$	$2,3 \times 10^1$	ND	FL-In
$1,7 \times 10^1$	4,5	2,0	FL-In
$1,7 \times 10^2$	NR	ND	CrF
$2,7 \times 10^2$	NR	ND	CrF
$7,2 \times 10^2$	NR	ND	CrF
$1,1 \times 10^3$	NR	ND	CrF

CT: coliformes totais; CF: coliformes fecais; ND: não-detectado; NR: não-realizado; FL-In: fermentação da lactose, teste do indol e CrF: método cromogênico-fluorogênico.

Tabela 4: Ocorrência de coliformes em amostras de nascentes (org./100 ml).

CT	CF	*E. coli*	Método
2,0	2,0	ND	FL-In
3,6	NR	ND	CrF
4,0	1,8	ND	FL-In
$1,1 \times 10^1$	NR	ND	CrF
$2,2 \times 10^{1*}$	6,1	ND	FL-In
$2,3 \times 10^{1*}$	ND	ND	FL-In
$4,9 \times 10^1$	$3,3 \times 10^1$	ND	FL-In
$4,9 \times 10^1$	$3,3 \times 10^1$	ND	FL-In
$1,1 \times 10^2$	$7,0 \times 10^1$	1,8	FL-In
$1,1 \times 10^2$	ND	ND	FL-In
$1,3 \times 10^2$	$1,7 \times 10^1$	ND	FL-In
$1,4 \times 10^{2*}$	4,5	4,5	FL-In
$5,4 \times 10^2$	$3,2 \times 10^1$	ND	FL-In
$5,4 \times 10^2$	$5,4 \times 10^2$	$5,4 \times 10^2$	FL-In
$9,2 \times 10^2$	$9,2 \times 10^2$	$9,2 \times 10^2$	FL-In
$> 1,6 \times 10^{3*}$	$3,3 \times 10^1$	$3,1 \times 10^1$	FL-In
$> 1,6 \times 10^{3*}$	$9,2 \times 10^2$	$5,4 \times 10^2$	FL-In
$> 1,6 \times 10^4$	NR	$1,3 \times 10^3$	CrF

* Teste presuntivo para CT; ND: não-detectado; NR: não-realizado; FL-In: fermentação da lactose, teste do indol e CrF: método cromogênico-fluorogênico.

Breves Considerações Acerca dos Métodos Empregados na Detecção de Coliformes

Os métodos cromofluorogênicos são reconhecidamente superiores em sensibilidade e especificidade na detecção de coliformes (CT) e *E. coli* (CERQUEIRA et al., 1999; CERQUEIRA e SÁ HORTA, 1990), por serem baseados na hidrólise de substratos definidos por enzimas específicas das espécies (APHA, 1995).

Adicionalmente, apresentam as grandes vantagens de dispensarem o emprego de temperatura elevada ($44,5 \pm 0,2^oC$) (CERQUEIRA e SÁ HORTA, 1990) e fornecerem leitura em 24 h, tanto para CT quanto para *E. coli*. CERQUEIRA et al. (1990) registraram cerca de 4% de resultados falso-negativos para *E. coli* em amostras de água naturais; entretanto outros estudos indicam percentuais bem superiores em amostras de fezes humanas (Chang et al., citado por CERQUEIRA et al., 1999).

Em contrapartida, as técnicas baseadas na fermentação da lactose, além de apresentarem sensibilidade e especificidade inferiores (maior ocorrência de falso-positivos e negativos), são bem mais trabalhosas: requerem duas temperaturas de incubação ($35,5 \pm 0,2^oC$ para CT e $44,5 \pm 0,2^oC$ para CF ou coliformes termotolerantes) e sucessivas repicagens, podendo totalizar 72 h para leitura conclusiva (APHA, 1995).

A indicação de contaminação através do "coliformes fecais" tem sido amplamente questionada, uma vez que o teste da termotolerância acaba por incluir algumas espécies de origem não-exclusivamente fecal, principalmente do gênero *Klebsiella* (COX et al., 1988), podendo resultar em até 15% de "falso-positivos" (CERQUEIRA et al., 1999).

Por sua vez, na busca de agilidade na detecção de *E. coli*, tem-se, simplificadamente, definido este organismo como um coliforme termotolerante (capaz de fermentar a lactose à 44^oC), simultaneamente indol-positivo à mesma temperatura (DHSS, 1982). Este teste simplificado não detecta, portanto, cerca de 10% de espécies de *E. Coli* lactose-negativas ou 3-5% de indol-negativas; além disso espécies de *Klebsiella oxytoca* podem contribuir para resultados falso-indol-positivos (HOFSTRA e HUISIN´T VELD, 1988).

Embora neste trabalho não se tenha desenvolvido experimentos comparativos entre os dois métodos, no âmbito, e tão somente, dos resultados analisados, as técnicas revelaram certa equivalência na detecção de coliformes totais. O mesmo poderia ser dito em relação a *E.coli*, guardada a ressalva de indícios de maior especificidade do método cromofluorogênico. Os questionamentos acerca da validade do teste da termotolerância são, aparentemente, reforçados. Em que pesem as desvantagens de maior volume de trabalho

e consumo de tempo, fica a sugestão de que os teste de detecção rápida de *E. coli* mantém aplicabilidade, o que pode revestir-se de especial importância quando fatores econômicos revelarem-se limitantes.

Alcance e Limitações do Emprego de Coliformes como Indicadores da Qualidade da Água

Dadas as dificuldades de isolamento rotineiro de organismos patogênicos em amostras ambientais, desde os primórdios da Microbiologia Sanitária sugere-se que a indicação de contaminação seja determinada, prioritária e rotineiramente, através de indicadores microbiológicos da presença de material fecal no meio-ambiente. Há décadas, na verdade há mais de um século, os organismos que melhor têm cumprido este papel são as bactérias do grupo coliforme, classicamente definidas como:

- Coliformes (Totais): grupo de bactérias, em forma de bacilos, gram-negativas, não-esporuladas, aeróbias ou anaeróbias facultativas, oxidase-negativas, que fermentam a lactose com produção de ácido, gás e aldeído dentro de 24-48 horas à 35-37^{o}C.

- Coliformes fecais: bactérias do grupo coliforme que fementam a lactose com produção de ácido e gás dentro de 24 horas à 44-45^{o}C.

É de se observar que tais definições revestem-se de significado apenas prático-laboratorial, não guardando qualquer valor taxonômico; sugiram de subsequentes tentativas de diferenciar *Bacterium coli* (*E. coli*) de outras bactérias da família *Enterobacteraceae* (JONES, 1988) e, dentre estas, aquelas mais nitidamente associadas à contaminação de origem fecal (HOFSTRA e HUISIN´T VELD, 1988).

Neste sentido, surgiu a sub-classificação do grupo coli-aerogenes, ou "coliformes" e a definição de sua composição pelos gêneros *Escherichia, Klebsiella* e *Citrobacter* (1956), posteriormente complementada pela inclusão do gênero *Enterobacter* (MÜLLER e MOSSEL, 1982). Entretanto, a classificação taxonômica mais recente revela que o grupo é mais heterogêneo. Compreende, por exemplo, espécies como *Enterobacter cloacae* e *Citrobacter freundii*, encontradas tanto em fezes quanto em águas ricas em nutrientes, solos e matéria orgânica em decomposição; ou ainda espécies como *Serratia fonticola*, *Rahnella aquatilis* e *Buttiauxella agrestis*, raramente encontradas em fezes, porém capazes de multiplicar-se em água tratadas de qualidade razoável (OMS, 1995).

Por isso, na avaliação da qualidade de águas naturais, os coliformes totais têm valor sanitário limitado. Sua aplicação restringe-se praticamente à avaliação da qualidade da água tratada, onde sua presença pode indicar falhas no tratamento, uma possível contaminação após o tratamento ou, ainda a presença de nutrientes em excesso, por exemplo, nos reservatórios ou nas redes de distribuição.

De forma análoga, o grupo dos coliformes fecais inclui diversas espécies de vida livre dos gêneros *Escherichia*, *klebsiella*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, e *Proteus* (CERQUEIRA et al., 1999). Portanto, a utilização dos coliformes fecais na avaliação da qualidade de águas naturais, principalmente em países de clima tropical, também tem sido questionda e a tendência atual é de se referir ao grupo como *coliformes termotolerantes* (DHSS, 1982; OMS, 1995). Apesar disso, e com base no fato de que dentre os cerca de 10^6-10^8 coliformes fecais/100 ml, usualmente presentes nos esgotos sanitários predomina a *Escherichia coli* (esta sim, uma bactéria de origem fecal), estes organismos ainda têm sido largamente utilizados como indicadores de poluição de águas naturais.

Por outro lado, é pouco provável que os "coliformes fecais" se desenvolvam em sistemas de distribuição, a menos que exista abundância de nutrientes, ocorra pós-contaminação, que a temperatura da água tratada seja inferior a 13^{o}C e que não exista cloro residual livre (OMS, 1995) e, por isto, ainda guardam certa credibilidade como indicadores da qualidade da água tratada e distribuída.

Avaliação da Qualidade da Água in natura

Neste contexto, a interpretação básica do emprego de organismos indicadores é que sua presença atesta poluição de origem fecal e, portanto, o risco de contaminação, ou seja, da presença de patógenos.

Para tanto, alguns requisitos, ou atributos dos organismos indicadores devem ser observados (CABELLI, 1978):

- Serem de origem exclusivamente fecal.
- Apresentarem maior resistência que os patogênicos aos efeitos adversos do meio ambiente.
- Apresentarem-se em maior número que os patogênicos.
- Não se reproduzirem no meio ambiente.

De fato, não há um único organismo que satisfaça simultaneamente todas estas condições. Assim, na ausência de um indicador ideal, deve-se trabalhar com o melhor indicador, que seria aquele que apresentasse melhor a correlação com os riscos de saúde associados com a contaminação de um determinado ambiente.

Reafirmando o já exposto, os coliformes totais (CT) carecem de maior significado sanitário na avaliação da qualidade de águas naturais. O indicador mais preciso de contaminação fecal é a *E. coli*. Mesmo em mananciais bem protegidos não se pode desconsiderar a importância sanitária da detecção de *E. coli* (LIMA et al., 2000), pois, no mínimo, indicaria a contaminação de origem animal silvestre, os quais podem ser vetores de agentes patogênicos ao ser humano. Não obstante, pelo fato de que a presença de coliformes termotolerantes, na maioria das vezes, guarda melhor relação com a presença de *E. coli*, aliado a simplicidade das técnicas laboratoriais de detecção, seu emprego ainda é aceitável (OMS, 1995). RAMETEKE et al. (1992), na Índia, encontraram que a quase totalidade dos coliformes termotolerantes isolados de águas superficiais eram *E. coli*, mas apenas aproximadamente a metade em águas subterrâneas.

O grau de contaminação das águas é usualmente aferido com base na densidade de organismos indicadores, no presuposto de que há uma relação semi-quantitativa entre estas e a presença de patogênicos.

A legislação brasileira (Resolução CONAMA 20/86) classifica as águas superficiais de acordo com seus usos, incorporando a lógica de padrões de exigência (densidade de organismos indicadores) proporcionais aos riscos potenciais de saúde. Para a irrigação o critério de classificação pode ser resumido como na Tabela 5.

Tabela 5: Padrões de qualidade de águas para irrigação (Resolução CONAMA 20/86)

Culturas Irrigadas	Critério/Padrão*
Hortaliças consumidas cruas, frutas que se desenvolvem rente ao solo e, ou, são ingeridas sem remoção de película.	Águas não devem ser poluídas por fezes humanas.
Outras hortaliças e plantas frutíferas.	< 1.000 CF/100 ml < 5.000 CT/100 ml
Culturas arbóreas e cerealíferas.	< 4.000 CF/100 ml < 20.000 CT/100 ml

* em 80% das amostras, mínimo de cinco amostras mensais.
CT = coliformes totais; CF = coliformes fecais.

Verifica-se uma aparente contradição ao se exigir para a Classe 1 (irrigação de hortaliças e frutas que se desenvolvem rente ao solo) uma qualidade bacteriológica similar aos padrões de potabilidade (virtual ausência de organismos indicadores), ao mesmo tempo que é permitido a recreação com contato primário em águas com até 1.000 CF/1000 ml.

Para a Classe 2 (irrigação de hortaliças e frutas que não são ingeridas cruas), o limite máximo passa a ser de 1.000 CF/100 ml, sendo que este número apresenta uma razão prática de ser. Senão vejamos: considerando que o esgoto sanitário bruto contém de 10^7-10^8 CF;100 ml (Von SPERLING, 1995), para que as águas de um corpo receptor mantenham 10^3 CF/100 ml, seria necessária uma diluição da ordem de 1:10^3; considerando agora que as bactérias patogênicas encontram-se em densidades bem mais reduzidas no esgoto bruto, por exemplo, da ordem de 10^3 *Salmonellae*/100 ml, com tal fator de diluição, estas praticamente "desapareceriam" na água, reduzindo o risco de exposição dos hospedeiros. De fato, diversos estudos constatam uma associação mais nítida entre a presença de *Salmonellae* e densidades de coliformes fecais, ou mais precisamente *E. coli*, acima de 10^3org./100 ml (MORIÑIGO et al., 1990; BASTOS e PERIN, 1995).

Por sua vez, a exigência para a classe seguinte (Classe 3 – irrigação de culturas arbóreas, cerealíferas e forrageiras) de 4.000 CF/100 ml, além da relação CT/CF, estabelecida em 5:1, não guardam qualquer

sustentação. Diversos estudos demostram que riscos potenciais crescentes de saúde são melhor avaliados através de incrementos graduais de densidades de indicadores em unidades logarítmicas (UL).

Neste trabalho foram reunidos indícios de que a detecção de *E. coli* tornou-se mais rara quando da presença de CT < 10^3org./100 ml, além do que CT, CF e *E. coli* mostraram-se presentes em densidades decrescentes em ordens, sensivelmente de 1 UL.

O exposto reforça sugestões no sentido de que a legislação incorporasse as seguintes adequações (BASTOS, 2000):

- Padrão de 10^3 coliformes termotolerantes/100 ml, ou preferencialmente *E. coli*, como valor máximo permito para irrigação de hortaliças e frutíferas, em geral;
- Exclusão dos coliformes totais como indicadores de contaminação, ou, no mínimo a revisão criteriosa das relações CF/CT;
- Revisão dos padrões gradualmente mais flexíveis por classes, talvez em ordens de grandeza de unidades logarítmicas (potências de 10).

No que diz respeito às fontes de abastecimento para consumo humano (incluindo poços e nascentes), a simples detecção de *E. coli* deve ser interpretada como indicação de contaminação fecal, e portanto, de sua não potabilidade. O emprego de coliformes totais deve ser evitado, enquanto o de coliformes fecais (termotolerantes) o deve ser de forma criteriosa, com as ressalvas cabíveis.

Avaliação da Eficiência do Tratamento da Água

Neste caso, o emprego dos organismos indicadores deve partir do seguinte entendimento: a ausência do organismo indicador indicaria a ausência de patógenos, pela destruição e, ou, remoção de ambos através dos processos de tratamento.

Neste sentido, para que um organismo cumpra o papel de indicador da eficiência do tratamento, torna-se necessário que além de ser mais resistente aos processos de tratamento que os patógenos, o mecanismo de remoção de ambos seja similar.

Em linhas gerais, bactérias e vírus são destruídos por desinfecção, enquanto protozoários (preponderantemente) e helmintos (quase exclusivamente) são removidos por filtração. Quanto à resistência aos agentes desinfetantes, também em linhas gerais, em ordem crescente apresentam-se as bactérias, vírus, protozoários e os helmintos, estes praticamente imunes.

Assim sendo, rigorosamente, os coliformes só se prestam como indicadores da remoção de bactérias patogênicas. Portanto, na aferição da qualidade bacteriológica da água tratada, a ausência dos coliformes totais é um indicador adequado e suficiente da eficiência do tratamento, uma vez que apresentam uma taxa de decaimento (inativação) similar ou superior à dos coliformes termotolerantes e da *E. coli* (OMS, 1995). No que toca à avaliação da qualidade virológica e parasitológia da água tratada, torna-se necessário o emprego de indicadores complementares não-biológicos, à exemplo do cloro residual e turbidez (BASTOS, 2000).

Avaliação da Qualidade da Água Distribuída

Mesmo que o tratamento seja adequado, a água pode muito bem deteriorar-se ao longo da distribuição. O isolamento de *E. coli* no sistema de distribuição é um sinal inequívoco de recontaminação fecal e, por medida de segurança, assim também deve ser interpretada a detecção de coliformes termotolerantes.

Já o isolamento de coliformes totais, embora não guarde uma relação exclusiva com recontaminação de origem fecal, serve como indicador da integridade do sistema de distribuição. Águas insuficientemente tratadas, por exemplo, sem a garantia de residual de cloro, ou infiltrações, podem permitir o acúmulo de sedimentos, matéria orgânica e promover o desenvolvimento de bactérias, incluindo aquelas do grupo coliforme que não *E. coli* ou termotolerantes.

Por isso, na avaliação da qualidade da água distribuída, em geral, tolera-se a detecção eventual de coliformes totais, mas requer-se a ausência sistemática de *E. coli* ou coliformes termotolerantes.

Na Tabela 6 encontra-se um resumo dos padrões bacteriológicos de potatibilidade vigentes no Brasil (Portaria 36/GM, 1990)

Tabela 10. Padrões bacteriológicos de potabilidade.

Organismos	Padrão Exigido
---------- Água para consumo humano em geral ----------	
Coliformes fecais	Ausência em 100 ml
---------- Água não-canalizada usada comunitariamente sem tratamento (poços, nascentes e fontes) ----------	
Coliformes totais	Ausência em 100 ml em 95% das amostras; nas 5% restantes serão tolerados até 10 CT/100 ml desde que isso não ocorra em duas amostras consecutivas.
---------- Águas tratadas na entrada do sistema de distribuição ----------	
Coliformes totais	Ausência em 100 ml.
---------- Água tratada no sistema de distribuição ----------	
Coliformes totais	Ausência em 100 ml em 95% das amostras, nas 5% restantes tolera-se até 3 CT/100 ml, desde que isso não ocorra em duas amostras consecutivas, coletadas sucessivamente no mesmo ponto.
Contagem de bactérais heterotróficas[5]	< 500 UFC/ml
---------- Água sem tratamento no sistema de distribuição ----------	
Coliformes totais	Ausência em 100 ml em 98% das amostras, nas 2% restantes tolera-se até 3 CT/100 ml desde que isso não ocorra em duas amostras consecutivas, coletadas sucessivamente no mesmo ponto.

Percebe-se nos padrões estabelecidos uma tradução nítida do entendimento necessário ao emprego dos organismos indicado. Entretanto, a legislação vigente merece algumas alterações, tais como (FORMAGGIA et al., 1996):

- A não-permissão de sistemas de distribuição de água para consumo humano sem tratamento;
- A pertinência do estabelecimento de um padrão único de aceitação de coliformes totais, sendo a tendência universal a aceitação da presença destes organismos em, no máximo, 5% das amostras;
- A pertinência de explicitação da *E. coli* como o indicador de primeira escolha em qualquer situação e o não aceite de sua presença, assim como dos coliformes termotolerantes (margem de segurança), em qualquer hipótese;
- A exclusão dos coliformes totais como indicadores da qualidade da água de poços, nascentes e fontes.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O avanço do conhecimento em Microbiologia Sanitária, aplicados sobre, e parcialmente ilustrados pelos, resultados reunidos neste e outros trabalhos, permitem as seguintes observações:

- O indicador mais preciso da poluição da água por material fecal é, em qualquer situação, a *E. coli*.
- Coliformes totais não são indicadores adequados da qualidade da água *in natura*, guardando validade apenas como indicadores da qualidade da água tratada.
- A presença de coliformes totais em baixas densidades pode ser desprovida de qualquer significado sanitário, o mesmo valendo para os "coliformes fecais".
- Coliformes não são indicadores plenos da eficiência do tratamento de água e devem ser empregados com critérios e ressalvas.
- O termo "coliformes fecais" deve ser evitado, empregando-se, preferencialmente, "coliformes termotolerantes".

- Quanto menos exposta a focos de poluição for um manancial, mais os coliformes totais e termotolerantes mantêm o atributo de indicadores de contaminação e vice-versa.
- A legislação vigente, mais especificamente, a Portaria 36 (padrões de potabilidade) e a Resolução CONAMA 20/86 (enquadramento das águas superficiais) demandam análises críticas e revisões.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. APHA, AWWA, WEF. Standard methods for the examination of water and wastewater. 19.ed. Washington, DC: APHA, 1995.
2. BAGLEY, S.T., SEIDLER, R.J. Significance of faecal coliform-positive *Klebsiella*. Applied Microbiology, v.33, n.5, p.1141-1148, 1977.
3. BASTOS, R.K.X. Controle e vigilância da qualidade da água. In: LIBÂNIO, M. et al., Controle e Vigilância da Qualidade da Água para Consumo Humano. Brasília: FNS/COVAM/CENEPI, 221p. 2000.
4. BASTOS, R.K.X., PERIN, C. Qualidade de águas superficiais para irrigação. Uma avaliação dos padrões vigentes e do emprego de organismos indicadores de contaminação. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, 18, 1995. Salvador-BA. **Anais**... 1995, Rio de Janeiro-RJ: ABES (em disquete).
5. BASTOS, R.K.X. Qualidade microbiológica da água para irrigação de hortaliças. Horticultura Brasileira. Vol.18, p.114-122. 2000.
6. BRASIL. Portaria nº 36, de 19 de janeiro de 1990, do Ministério da Saúde. Normas e padrões de potabilidade de água destinada ao consumo humano. Brasília-DF, 1990.
7. BRASIL. Resolução CONAMA nº 20, de 18 de junho de 1986. Estabelece a classificação das águas doces, salobras e salinas. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília-DF, p.11-356, 1986.
8. CABELLI, V.J. Microbial indicators system for assessing water quality. Antonie van Leeuwenhock, n.48, p.613-617, 1982.
9. CERQUEIRA, D.A., BRITO, L.L.A., GALINARI, P.C., AMARAL, G.C.M. Perfis de ocorrência de coliformes termotolerantes e *Escherichia coli* em diferentes amostras de água. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, 20, 1999. Rio de Janeiro. **Anais**... Rio de Janeiro: ABESA, 1999a, p.1251-1257 (CD room).
10. CERQUEIRA, D.A., SÁ HORTA, M.C. Coliformes fecais não existem. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, 20, 1999. Rio de Janeiro. **Anais**... Rio de Janeiro: ABESA, 1999b, p.1239-1244 (CD room).
11. L.V., KELLER, N., Van SCHOTHORST, M. The use and misuse of quantitative determinations of *Enterobacteriaceae* in food microbiology. Jounal of Applied Simposium Supplement. Vol.65. p.2375-2495.
12. DEPARTMENT OF HEALTH AND SOCIAL SECURITY. The bacteriological examination of drinking water supplies. Methods for the examination of waters and associated materials. London: DHSS/HMSO, p.122, 1982. (Report on Public Health and Medical Subjects, 71).
13. DUNCAN, W.D., RAZELL, W.E. *Klebsiella* biotypes among coliforms isolated from forest environments and farm produce. Applied Microbiology, v.24, n.6, p.933-938, 1972.
14. FORMAGGIA, D.M.E., PERRONE, M.A., MARINHO, M.J.F., SOUZA, R.M.G.L. Portaria 36 GM de 19/01/90 – Necessidade de revisão. Engenharia Sanitária e Ambiental. Ano I. Vol.2. 1996. p.5-10.
15. HOFSTRA, H., HUISIN'T VELD, J.H.J. Methods for the detection and isolation of *Escherichia coli* including pathogenic strains. Journal of Applied Bacteriology Symposium Supplement, p.197S-212S, 1988.
16. JONES, D. Composition and properties of the family *Enterobacteriaceae*. Jounal of Applied Bacteriology Simposium Supplement. Vol.65. p.215-345. In: *Enterobacteriaceae* in the Environment and as Pathogens, LUND, B.M., JONES, D., STRINGER, M.F. (eds.). London: Blackwell Scientitic Publication, 1988 (Society for Applied Bacteriology Simposium Series, 17).
17. LIMA, C.L.S., BRAZ, V.N., RIVERA, I.G. Pesquisa de coliformes e estreptococus fecais em um ambiente protegido. Engenharia Sanitária e Ambiental. Vol. 4, n.3 e 4, 2000. p.127-132.
18. LOPEZ-TORREZ, A.J., HAZEN, T.C., TORANZOS, G.A. Distribution in situ, survival and activity of *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* in a tropical rainforest watershed. Current Microbiology, v.15, p.213-218, 1987.

19. MORIÑIGO, AM., CORNAX, R., MUÑOZ, AM., ROMERO, P., BARREGO, J.J. Relationships between *Salmonellai* spp and indicator microorganisms in polluted natural waters. Water Research, v.24, n.1, p.117-120, 1990.

20. MÜLLER, H.E., MOSSEL, D.A.A. Observation on the occurrence of *Salmonella* in 20.000 samples of drinking water and a note on the choice of marker organisms for monitoring water supplies. Antonie van Leeuwenhock, n.48, p.641-643, 1982.

21. ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD-OMS. Guías para la calidad del agua potable. Ginebra: OMS, 1995. 195p.

22. RAMETEKE, P.W., BHATTACHARJEE, S.P., KAIRA, N. Evaluation of coliforms as indicators of water quality in India. Journal of Applied Bacteriology, n.72, 1992, p.352-356.

23. Von SPERLING, M. Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, Universidade Federal de Minas Gerais, 1995. 240p. (Princípios do tratamento biológico de águas residuárias, v.1).