

Original**Avaliação microbiológica da qualidade da água para o consumo humano na província do Huambo****Microbiological Evaluation Of The Quality Of Water For Human Consumption In The Province Of Huambo**

Lafayette de Assunção Fernandes, Máster em Qualidade e Segurança Alimentar, Professora Assistente, Instituto Superior Politécnico do Kwanza Sul, Cuanza Sul, Angola,

lweje2017@gmail.com

João Nilton Maco, Licenciado em Cultura Física, Professor Assistente estagiário, Instituto Superior Politécnico do Kwanza Sul, Cuanza Sul, Angola, lwejemaco@gmail.com

María de los Angeles Villegas Dorticós, Máster em Longevidade Satisfactória, Professora Auxiliar, Instituto Superior Politécnico do Kwanza Sul, Cuanza Sul, Angola

mariangeles31071@gmail.com

Recibido: 10-01-2020 - Aceptado 16-06-2020

Resumo

A água é um dos recursos mais abundante no planeta e essencial a vida, pelo que é imprescindível a sua gestão e qualidade. No entanto, a sua utilidade deve ser salvaguardada quer nos aspectos ambientais quer sanitários. O presente estudo teve como objectivo analisar amostras de água para o consumo humano provenientes da província do Huambo e associar a qualidade com o meio ambiente. Assim colheram-se duas amostras de água da torneira e do poço e avaliou-se a qualidade microbiológica (número de colónias a 22°C e 37°C, *Pseudomonas aeruginosa*, esporos de *Clostridium* sulfito redutores, coliformes totais e *E. coli* e *Enterobacteriaceae*). As análises foram efectuadas de acordo com as normas portuguesas e europeias. No que diz respeito aos resultados obtidos nas análises microbiológicas, as águas foram classificadas como impróprias, pois os valores máximos admissíveis (VMA) legalmente estipulados pelo Decreto-Lei nº 306/2007 de 27 de Agosto, foram ultrapassados em relação aos microrganismos a 22°C e 37°C e coliformes totais. *E. coli*, esporos de *Clostridium* sulfito-redutores e *Pseudomonas aeruginosa* estavam ausentes em todas as amostras analisadas. A contaminação microbiológica observada revela a necessidade de vigilância do sistema de abastecimento de água na cidade do Huambo.

Palavras-chave: qualidade da água; microbiologia; contaminação; bacterias

Abstract

The water is one of the most resource abundant on planet and essential to life, however it is extremely indispensable their quality. Meanwhile, their utility must be safeguard either on ambient aspects even sanitary. The present study has as objective to analyze the samples of water for the human being consume originating from Central Tableland Huambo-city, and to associate the quality with the environment so, it was collecting two samples of tape water and from shaft and it was evaluated microbiology's quality (colonies number to 22⁰C and 37⁰C, *Pseudomonas aeruginosa*, *Clostridium* spores, total coli forms and *E. coli* and *Enterobacteriaceae*). Analyzes it was effectuated in order with portuguese and europeans standards. In relations to the obtained results on microbiology's analyzes, the water it was classified as improper so the maximum acceptable values (VMA) legally stipulated from Decree Law n 306/2007 of 27 of August, it was exceeded in relation to microorganism from 22⁰C e 37⁰C and total coli forms. *E. coli*, *Clostridium* spores, sulphite-reducing and *Pseudomonas aeruginosa* it was absent in all samples analyzed. Relatively to the parameters the values obtained to the parameters analyzed it was inferior. In spite of what we observe inferior values the limit legally stipulated by the law. It was concluded that the water is improper for the human being consume. Being in attention the values obtained on microbiology's analyzes. The microbiology's contamination observed, it reveals the necessity of vigilance of the system of supplies of water in Huambo city.

Key words: water quality; microbiology; contamination; bacterium

Introdução

A água é um elemento fundamental para o desenvolvimento sustentável dos países, desde a protecção e conservação ambiental à segurança alimentar, ao aumento do turismo e investimento, à educação e promoção da igualdade do género, em todos os processos produtivos e às perdas de produtividade devidas a doenças e má nutrição Mendes (2010). Ao longo dos tempos tem-se registado um crescente aumento populacional em algumas regiões da província do Huambo em detrimento do recurso hídrico mais valioso, a água. Este aumento tem vindo a diminuir a sua qualidade, tornando-a imprópria para o consumo humano.

O acesso das populações ao saneamento básico adequado não é universal e todos os anos morrem milhões de pessoas de doenças associadas a água imprópria. A existência de uma rede de saneamento básico, juntamente com o uso de disseminação de práticas higiénicas adequadas (lavagem das mãos, por exemplo), é considerada uma condição prévia para a redução das taxas de morbilidade e mortalidade do homem Mendes y Oliveira (2004).

De acordo com o Decreto-Lei nº 306/2007 de 27 de Agosto, a água destinada ao consumo humano, é definida como:

- Toda a água, no seu estado original ou depois do tratamento, que é usada para beber, cozinhar, preparar alimentos ou outros usos domésticos, independentemente da sua origem e de ser fornecida a partir de uma rede de distribuição, de um camião ou navio cisterna, em garrafas ou outros recipientes, com ou sem fins comerciais;
- Toda a água utilizada numa empresa da indústria alimentar para o fabrico, transformação, conservação ou comercialização de produtos ou substâncias destinadas ao consumo humano, excepto quando a utilização dessa água não afecta a salubridade do género alimentício na sua forma acabada.

Toda a água destinada ao consumo humano antes do seu uso sofre um processo de potabilização.

A água utilizada para o consumo humano não deve causar danos à saúde pública, deve ser agradável ao paladar, à vista dos consumidores e, não causar deterioração ou destruição das diferentes partes dos sistemas de abastecimento. O presente estudo teve como objectivo avaliar as amostras de água para o consumo humano provenientes da província do Huambo e associar a qualidade com o meio ambiente.

Poblação e muestra

Amostragem. Para o efeito colheram-se amostras provenientes do sistema de abastecimento público (água da torneira) e águas subterrâneas (poços profundos).

Foram colhidas amostras em dois pontos da cidade em estudo, onde duas foram acondicionadas a temperatura ambiente e outra em condições de refrigeração. As amostras foram colhidas da rede de sistema de abastecimento público (torneiras) e outra em poços profundos. A colheita ocorreu entre os meses de Setembro de 2016 a Janeiro de 2017, de acordo com o Decreto-Lei 236/98.

As amostras de água foram colhidas em frascos de vidro de 500 mL estéreis (amostras para análise microbiológica). As análises iniciaram após a chegada das amostras ao laboratório. Na colheita das amostras teve-se a precaução que estas fossem homogéneas, ou seja representativas do local amostrado. Foram determinados parâmetros microbiológicos (número de colónias a 22° e 37°C, coliformes totais e *Escherichia coli*, esporos de *Clostridium* sulfito-redutores, *Pseudomonas aeruginosa* e *Enterobacteriaceae*).

Análises microbiológicas. Foi efectuada a análise microbiológica a todas as amostras de água (torneira e poço).

As análises microbiológicas foram realizadas de acordo com as normas internacionais e portuguesas e por Kits (Métodos Oficiais da AOAC).

Materiais e métodos

O material usado foi comum no laboratório de microbiologia e todo foi lavado, passado por água destilada 20 min, seco em estufa e esterilizado pelo calor seco/estufa a 180°C durante 3 h.

Colheita, acondicionamento e transporte das amostras. Para o procedimento das análises microbiológicas foram recolhidas amostras de água provenientes de diversas origens. A colheita foi efectuada de acordo com a NP – 1828 (1982), em condições de assepsia. Para a colheita das águas do poço usou-se frascos de mergulho devidamente esterilizados com a capacidade de 500 mL. A recolha foi feita com a máxima precaução evitando que os mesmos roçassem nas paredes e arrastassem alguns resíduos. De acordo com o Decreto-Lei nº 306/2007 de 27 de Agosto, para a colheita de águas da torneira devem-se ter em conta o seguinte:

1. Flamejar o algodão em álcool e desinfectar a torneira;
2. Deixar correr água durante 5 min para eliminar qualquer vestígio de matéria orgânica existentes na tubagem;
3. Recolher para um tubo estéril em condições de assepsia e identificar a amostra.

Após a colheita as amostras de água foram transportadas para o laboratório de microbiologia onde permaneceram no frigorífico a temperatura controlada até ao momento da análise.

A preparação das amostras foi efectuada de acordo com a NP – 1829 (1982), os frascos foram identificados durante todas as fases da análise, a fim de se evitar qualquer hipótese de confusão. A manipulação das amostras foi feita em condições de assepsia.

Meios de cultura Os meios de cultura fornecem aos microrganismos os nutrientes necessários para o seu desenvolvimento e multiplicação. Cada grupo de microrganismos tem necessidades nutricionais específicas, como tal, os meios são escolhidos de modo a satisfazer essas necessidades. A incubação dos meios de cultura, após a inoculação da amostra de água, permite o desenvolvimento dos microrganismos resultando na formação de colónias típicas (no caso de meios sólidos) o que facilita a sua identificação.

Neste trabalho os meios de cultura utilizados para a pesquisa e quantificação dos microrganismos pesquisados, foram escolhidos de acordo com as normas em vigor e estão descritos na tabela 1.

Tabela 1. Meios de cultura usados na pesquisa e enumeração dos microrganismos estudados

Microrganismos	Meios de cultura
Coliformes Totais e <i>Escherichia coli</i>	KitSimPlate
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Agar Cetrimide
Esporos de <i>Clostridium</i> sulfito - redutores	ReinforcedClostridial Agar (RCA)
<i>Enterobacteriaceae</i>	KitSimPlate
Número de colónias a 22 e 37°C	<i>PlateCount Agar</i> (PCA)

Contagem de microrganismos total a 22 e 37°C. A contagem de microrganismos aeróbios foi realizada de acordo com a ISO 6222 (1999). Semeou-se por incorporação 1mL (para os mesófilos a 37°C), de cada uma das diluições decimais seriadas 10⁻¹, 10⁻² e 10⁻³ em placas de Petri contendo meio de cultura *Plate Count Agar* (PCA) e por espalhamento para os mesófilos a 22°C adaptados ao frio (0,1 mL), as quais foram incubadas a temperaturas diferentes, 22 e 37°C durante 48 h. Após o período de incubação procedeu-se a contagem das colónias. Os resultados foram expressos em unidades formadoras de colónias por mL de água analisada (UFC/mL). Para realização dos cálculos utilizou-se a seguinte fórmula:

$$\text{UFC/mL} = \frac{\sum c}{[V \times (n1 + 0,1n2) \times d]}$$

Onde:

$\sum c$ - somatório das colónias em todas as placas contadas;

V - volume de inoculo semeada em cada placa;

n1 - número de placas da primeira diluição;

n2 - número de placas da segunda diluição;

d - diluição a partir da qual se obtiveram as primeiras contagens.

Contagem de bactérias coliformes totais e *Escherichia coli*. A contagem de coliformes totais e *Escherichia coli* foi realizado utilizando o SimPlate® da Bio Control (método oficial AOAC 2005.03) e procedeu-se de acordo com as recomendações do fabricante. O meio de cultura fornecido foi hidratado em 100 mL de água estéril. Em todos os tubos de ensaio foram colocados 9 mL de meio de cultura previamente hidratado e 1mL da amostra, homogeneizou-se

com auxílio do vortex. Seguidamente, verteu-se o conteúdo dos tubos para uma placa contendo 84 poços e espalhou-se uniforme e cuidadosamente o líquido com movimentos circulares para que os poços ficassem totalmente cobertos e sem bolhas de ar. Por último, o excesso foi removido. As placas foram incubadas a 37°C durante 24 a 48 h. Após o período de incubação, procedeu-se a enumeração dos coliformes totais através da contagem do número de poços em que ocorreu a mudança de cor do meio de cultura. Enquanto, para a identificação e enumeração da *Escherichia coli*, procedeu-se à contagem do número de poços em que se observou a fluorescência após exposição da placa a uma lâmpada de UV a 365 nm.

Com base na tabela fornecida pelo fabricante, calculou-se o número de coliformes e *Escherichia coli* presentes na amostra e os resultados foram expressos em UFC/mL.

Enterobacteriaceae. A contagem de *Enterobacteriaceae* foi realizada utilizando o Kit SimPlate® da Bio Control (método oficial AOAC 2005.03). O procedimento analítico foi idêntico ao referido anteriormente.

Contagem de esporos de *Clostridium* sulfito-redutores. A quantificação de esporos de *Clostridium* sulfito-redutores foi realizada aquecendo-se previamente a amostra a uma temperatura de 80°C para inactivar as formas vegetativas das bactérias. Após esse processo a amostra foi incubada em meio de cultura selectivo e diferencial *Reinforced Clostridial Agar* (RCA) (em condições de anaerobiose), seguida de sementeira directa ou filtração por membrana. Assim em tubos de ensaio esterilizados e com a máxima assepsia, colocaram-se 1 mL e 5 mL da amostra e foi aquecida em banho-maria a 80°C durante 10 min. Após este período, as amostras foram retiradas do banho, e arrefecidas rapidamente em água fria. Seguidamente as amostras foram transferidas para placas de Petri contendo o meio RCA, as quais foram envolvidas em parafilme. Incubou-se a 37°C durante 48 h. Após incubação, contaram-se as colónias negras.

Contagem de *Pseudomonas aeruginosa*. A quantificação de *Pseudomonas aeruginosa* foi feita de acordo com o referencial ISO 16266 (2008). Num frasco de poliestireno estéril de capacidade de 200 mL, hidratou-se o meio de cultura Agar Cetrimida como recomendado pelo fabricante. O método utilizado baseou-se na sementeira por incorporação das diluições de 10⁻¹ e 10⁻² das amostras. As placas foram incubadas a 37°C durante 48 h.

Resultados e discussão

Os resultados obtidos das análises microbiológicas (Tabela 1), indicam que as amostras de água da torneira para os microrganismos crescidos a 22 como a 37°C apresentaram valores superiores ao legislado (Decreto-Lei nº 306/2007 de 27 de Agosto), o qual recomenda que o

número de colónias a 22 e a 37°C da água destinada ao consumo humano não ultrapasse o valor de 100 UFC/mL e 20 UFC/mL respectivamente. Estudos realizados por Matos (2008), afirma que o número de colónias pode ser reduzido através de processos de tratamento da água, como a sedimentação e coagulação, outro sim, o seu número aumentará quando são utilizados outros processos de tratamento como a infiltração, isto quando os filtros não são alvos de uma adequada manutenção. Nos seus estudos demonstraram que a contaminação da água pode ocorrer nas fontes de captação, nos reservatórios e/ou redes de distribuição, pois é comum ocorrer a disposição inadequada de resíduos orgânicos oriundos de actividades humana e animal, propiciando maior oportunidade de contaminação da água. Isto significa que as águas do presente trabalho são impróprias para o consumo humano.

Na contagem de coliformes totais, verificaram-se valores superiores (Tabela 2) ao legislado em todas amostras analisadas. De acordo com o Decreto-Lei nº 306/2007 de Agosto, os valores paramétricos para água destinada ao consumo humano são <10 UFC/mL. Convém salientar que a contaminação das águas por coliformes totais pode ter outra origem (contaminação ambiental, manipuladores, transporte) que não apenas por fezes. Estes resultados corroboram com os resultados encontrados ao analisar o sistema de abastecimento de água de consumo da cidade do Huambo, verificou altos índices de contaminação por bactérias coliformes totais, sendo esta a principal causadora de doenças intestinais. Alinhado aos resultados obtidos observa-se que as análises de Coliformes totais apresentaram valores adequados em 100 mL de acordo com a Portaria nº 2914/2011. A presença de coliformes totais nas águas de consumo não é resultado somente de factores ambientais mas, sim de pouca informação, falta de estruturas sanitárias, má conservação dos poços domésticos de abastecimento, a falta de manutenção dos reservatórios, baixa qualidade de redes de distribuição e principalmente o manejo inadequado. Autores justificam que a ocorrência de contaminação microbiológica da água por coliformes totais pode ser pela percolação e infiltração das chuvas em locais de pastagem que arrastam excretos humanos e animais.

O facto de não se encontrar *Escherichia coli* (indicador de contaminação fecal), em nenhuma das amostras analisadas pode estar relacionado com as condições de transporte e manuseamento da água. De facto, trata-se de microrganismos muito sensíveis as condições de stress WHO (2002).

Em relação aos esporos de *Clostridium* sulfito-redutores, verificou-se ausência de esporos em todas as amostras, sugerindo que não houve contaminação fecal remota. Também se observou que *Pseudomonas aeruginosa* estava ausente em todas as amostras estudadas.

Tabela 2. Média e desvio padrão dos resultados obtidos para os parâmetros microbiológicos nas amostras de água provenientes do poço e torneira, transportadas à temperatura ambiente.

		Poço	Torneira	Valor Paramétrico
Número de colónias a 37°C (UFC)/mL (48 h)	Média S*	8,273*10 ³ ± 2,186*10 ³	4,405*10 ³ ± 1,91*10 ³	20/mL
Número de colónias a 22°C (UFC)/mL (48 h)	Média S*	5,73*10 ⁵ ± 4,00*10 ⁵	3,95*10 ⁵ ± 2,57*10 ⁵	100/mL
<i>Coliformes totais</i> (UFC)/100mL	Média S*	4,00*10 ¹ ± 3,46*10 ¹	2,67*10 ³ ± 1,15*10 ³	0/100 mL
<i>Escherichia coli</i> (UFC)/100mL	Média	<10	<10	0/100 mL
<i>Enterobacteriaceae</i>	Média S*	2,67*10 ¹ ± 1,15*10 ¹	2,00*10 ¹ ± 0,00	
Esporos de <i>Clostrídium</i> sulfitorreduzidores (UFC)/100mL	Média	<10	<10	0/100mL
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (UFC)/mL	Média	<10	<10	0/250mL

Os valores obtidos para todos os parâmetros analisados, que apresentaram resultados positivos, foram superiores nas águas transportadas à temperatura ambiente, sugerindo a necessidade do transporte ser feito de forma adequada.

Conclusões

1. *Escherichia coli*, esporos de *Clostridium* sulfito-redutores e *Pseudomonas aeruginosa* estavam ausentes em todas as amostras analisadas. Estes resultados sobretudo da *Escherichia coli*, poderão estar relacionados com elevadas temperaturas durante o transporte.
2. Os valores obtidos para os coliformes totais, número de colónias a 22 e 37°C e *Enterobacteriaceae*, foram superiores aos limites legalmente estipulados, sugerindo que as águas são impróprias para o consumo humano.
3. O factor temperatura deve ter influenciado no aumento de crescimento bem como na morte de alguns microrganismos durante o transporte das amostras.
4. As condições de acondicionamento e a manipulação das amostras podem estar na origem dos valores superiores nos parâmetros analisados.
5. As análises microbiológicas da água revelaram altos índices de contaminação relativamente às *Enterobacteriaceae*, coliformes totais, número de colónias a 22 e 37°C.

Referência bibliográfica

APDA (2012^a). *Bactérias coliformes*. São Paulo.

AOAC (1990) *Official Method of analysis*, 15 th ed.,AOAC. Washinton, Dc, aspect chemistry, microbiology, technology. Utrecht:ECCEAMST. ISBN: 90-75319-04-5 pp 31-46.

Matos, A. (2008). *Água destinada ao consumo humano*. Departamento de saúde pública. São Paulo.

Decreto-Lei n.º 306/2007, de 27 de Agosto, Diário da república, N.º 164 - I Série-A *Estabelece o regime da qualidade da água destinada ao consumo humano*, revendo o Decreto - Lei n.º 243/2001, de Setembro, que transpõe para ordem jurídica interna a Directiva n.º 98/83/CE, do Conselho, de 3 de Novembro. Norma Portuguesa 1829 (1982) - Microbiologia Alimentar - Preparação da amostra para análises microbiológicas. Instituto Português de Qualidade (IPQ), Portugal.

ISO 3788 (2008) - *Microbiologia Alimentar* - Regras gerais de contagem de microrganismos a 30 °C. IPQ. Portugal.

Mendes, B, Oliveira J. F. S (2004). *Qualidade da água par o consumo humano*. Lidel edições técnicas, Lda, ISBN: 9789727572748.

- Mendes, B (2010). Microbiologia da água. in Ferreira, W.F.C, Sousa, J.C.F.; Lima, N (coords). Microbiologia. Lidel-Edições técnicas, Lda. Lisboa. 622 Páginas. ISBN 978-972-757-515-2.
- WHO (2008). *World Health Organization, Guidelines for Drinking-Water Quality - Volume 1 Recommendations*, WHO Library Cataloguing-in-Publication Data, Geneva.