

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE ÁGUAS MINERAIS COMERCIALIZADAS POR AMBULANTES NO CENTRO DO RECIFE - PE

**Lívia Maria Miranda Gonçalves de Lima¹, Lúcia Roberta de Souza Filizola²,
Manuela Bernardo Câmara Barbosa³**

MICROBIOLOGICAL QUALITY OF MINERAL WATERS IN VENDORS MARKETED IN THE CENTER OF THE RECIFE - PE

Endereço dos autores:

^{1,2,3} Faculdade Pernambucana de Saúde, Recife, PE, Brasil.

² Laboratório Central de Pernambuco, Recife, PE, Brasil.

1-Lívia Maria Miranda Gonçalves de Lima

E-mail: livia40@gmail.com

2- Lúcia Roberta de Souza Filizola.

E-mail: lrfilizola@gmail.com

3- Manuela Bernardo Câmara Barbosa.

E-mail: manuelacbernardo@yahoo.com.br

RESUMO

Objetivos: Avaliar a qualidade microbiológica de águas minerais comercializadas por ambulantes no Centro do Recife - PE quanto à presença de bactérias do grupo coliforme, *Enterococos sp* e *Pseudomonas aeruginosa*.

Métodos: A pesquisa se fundamentou na análise de possíveis contaminações microbiológicas nas amostras através da técnica de tubos múltiplos, preconizada no “Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater” (APHA, 2005), que determina o Número Mais Provável (NMP) dos micro-organismos nas amostras, através da distribuição em uma série de tubos contendo meio de cultura diferencial para o crescimento dos micro-organismos alvos. Após a incubação, para cada resultado positivo no teste presuntivo foram inoculadas alíquotas das amostras para meios de cultura seletivos, a fim de serem realizados testes confirmativos.

Resultados: Das 04 amostras representativas de água mineral, 03 (75%) foram consideradas impróprias para o consumo, por apresentarem *Pseudomonas aeruginosa* acima do valor permitido (<1,1 NMP/100mL a 2,2 NMP/100mL), segundo limites da

RDC nº 275/2005. Entre essas amostras, em 01 unidade amostral foi quantificado o micro-organismo *Enterococos spp* no valor de 1,1NMP/100mL. Não foi detectada a presença de bactérias do grupo coliforme em nenhuma das amostras analisadas.

Conclusões: Diante dos resultados obtidos, verificamos que o produto água mineral está sujeito a contaminação bacteriana podendo oferecer riscos a saúde dos consumidores, demonstrando a necessidade do contínuo monitoramento das condições higiênico-sanitárias das águas minerais ofertadas à população.

Palavras Chave: Água mineral; Qualidade; Microbiologia; *Pseudomonas aeruginosa*

ABSTRACT

Objectives: To evaluate the microbiological quality of mineral waters commercialized by street vendors in downtown Recife - PE for the presence of coliform bacteria, enterococci and *Pseudomonas Aureginosa*.

Methods: The research was based on analysis of possible microbiological contamination in the samples through the multiple tube method, published in "Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater" (APHA, 2005), that determines the most probable number (MPN) of micro-organisms in the samples, distribution through the a series of tubes containing differential culture means for the growth of micro-organisms targets. After incubation, for each positive presumptive test were inoculated in aliquots of samples for selective culture means, in order to perform the confirmatory tests

Results: Of the 04 representative samples of mineral water, 3 were considered unfit for consumption by *Pseudomonas aeruginosa* present above the allowed value (<1,1 NMP/100mL a 2,2 NMP/100mL), within limits of the RDC 275/2005. Among these samples, in 01 sample unit was quantified microorganism *Enterococcus spp* worth 1.1 NMP/100mL. Was not detected the presence of coliform bacteria in any sample analyzed.

Conclusions: Based on these results, we verify that the mineral water product is subject to bacterial contamination can pose risks to consumer health, demonstrating the need for continuous condition monitoring sanitary-hygienic of mineral water offered to the population.

Key Words: Mineral Water, Quality, Microbiology; *Pseudomonas aeruginosa*

INTRODUÇÃO

A água é fundamental para o homem, seja para sua nutrição ou na higiene, e é a principal substância por ele ingerida e excretada. O ser humano é composto por cerca de 70% de água. (RIEDEL, 2005)

Águas Minerais Naturais são águas obtidas diretamente de fontes naturais ou por extração de águas subterrâneas. É caracterizada pelo conteúdo definido e constante de determinados sais minerais, oligoelementos e outros constituintes considerando as flutuações naturais (BRASIL, 2005). Deve apresentar qualidade que garanta ausência de perigo à saúde do consumidor, e ser captada, processada e envasada obedecendo às condições higiênico-sanitárias e as boas práticas de fabricação (CARDOSO et al., 2003).

As embalagens utilizadas no envasamento das águas minerais deverão garantir a integridade do produto final, sem alteração das suas características físicas, físico-químicas, químicas, microbiológicas e organolépticas. Os garrafões, garrafas e copinhos deverão ser fabricados com resinas virgens, tipo policarbonato, politerifalato de etileno (PET) ou similar, que assegurem a manutenção das propriedades originais da água (BRASIL, 2009).

A água mineral é um produto, que vem merecendo maior e especial atenção da sociedade, pelo reconhecimento de sua qualidade, e por se constituir opção ao uso de água natural com a vantagem de poder ser consumida sem qualquer tratamento químico e por seus reconhecidos benefícios à saúde humana (VAITSMAN & VAITSMAN, 2005). Além disso, a qualidade microbiológica de água mineral engarrafada é de grande interesse já que muitos consumidores a usam como uma alternativa para a água de abastecimento público (RAMALHO et al., 2001).

Existe a percepção de que o consumo de água mineral natural representa um estilo saudável de vida e que esses produtos são relativamente seguros (VILENA et al., 1996; JEENA et al., 2006). Entretanto, as ocorrências de distúrbios gastrintestinais seguidas ao consumo destas águas têm focado atenção ao estudo de sua microbiologia (SANT'ANA et al., 2003).

Desta forma, o consumo de águas contaminadas é altamente nocivo à saúde principalmente em ambientes de clima quente, devido ao rápido crescimento e viabilidade de micro-organismos patogênicos, associados à necessidade da ingestão de grandes volumes de água (GUEDES et al., 2004).

No Brasil, os parâmetros microbiológicos para água mineral são determinados pela Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) nº 275, de 22 de Setembro de 2005 (ANEXO A), que estabelece como indicadores de contaminação os micro-organismos coliformes totais, coliformes termotolerantes e/ou *Escherichia coli*, Clostrídios sulfito-redutores, *Enterococos spp* e *Pseudomonas aeruginosa* (BRASIL, 2005).

O grupo coliforme é dividido em coliformes totais e coliformes termotolerantes ou fecais. Estão presentes nas fezes de animais de sangue quente, inclusive os seres humanos; sua presença na água possui uma relação direta com o grau de contaminação fecal; possuem maior tempo de vida na água que as bactérias patogênicas intestinais (BRASIL, 2006).

Define-se coliformes totais como bastonetes gram-negativos não esporogênicos, aeróbios ou anaeróbios facultativos, capazes de fermentar a lactose com produção de gás, em 24 a 48 horas à temperatura de 35°C (MACÊDO, 2001). Pertencem a este grupo, predominantemente, bactérias dos gêneros *Escherichia*, *Citrobacter*, *Klebsiella* e *Enterobacter* (FRANCO; LANDGRAF, 2003).

O outro subgrupo dos coliformes são os coliformes termotolerantes ou fecais, que, são capazes de fermentar a lactose a 44 - 45°C ($\pm 0,2$) em 24 horas. Nessas condições, cerca de 90% das bactérias são *Escherichia coli*, o restante pertence ao gênero *Enterobacter* e *Klebsiella*. A ocorrência de *E. coli* é considerada um indicador específico de contaminação fecal e uma possível presença de patógenos entéricos (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2006).

Os Enterococos são bactérias lácticas na forma de cocos ou bacilos gram-positivos, catalase negativa e anaeróbios facultativos. São típicos da microbiota fecal de animais de sangue quente ou frio (TECPAR, 2007). Podem ser usados como indicadores de poluição fecal e apresentam importantes vantagens como, sobreviver mais tempo em ambientes aquáticos do que a *E. coli* (ou coliformes termotolerantes), são mais resistentes à seca e ao cloro (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2006).

P. aeruginosa é classificada como um dos micro-organismos mais versáteis e oportunistas, portanto, sua presença já é por si só um agravante no que diz respeito à qualidade da água podendo oferecer risco à saúde de indivíduos sadios e imunocomprometidos, uma vez que possui poder de adaptação e resistência a antibióticos (VASCONCELOS et al., 2006). São bacilos gram-negativos, aeróbios

móveis por flagelos polares, oxidase e catalase positivas e que se multiplicam a 37° - 42°C.

A sua tolerância a valores relativamente altos de pH, a sobrevivência em substratos com pequenas quantidades de nutrientes e a capacidade de metabolizar uma grande variedade de compostos, faz com que esta espécie mereça atenção especial (GUILHERME et al. 2000), pois têm grande capacidade de proliferar em água destilada e águas minerais (TRABULSI; ALTERTHUM, 2005).

Assim, o presente trabalho tem por finalidade avaliar a qualidade microbiológica, quanto à presença de Coliformes totais, Coliformes termotolerantes/*Escherichia Coli*, *Enterococos sp* e *Pseudomonas aeruginosa*, em 04 amostras de águas minerais, de diferentes marcas, comercializadas por ambulantes no Centro do Recife – PE.

MÉTODOS

- **Amostragem:**

Foram analisadas 04 amostras, representadas por 20 unidades amostrais de água mineral, não gaseificadas, embaladas em copos plásticos de uso individual com volume de 300 mL, identificadas como marca A, marca B, marca C e marca D, sendo 05 unidades amostrais de cada marca, enumeradas de 1 a 5. As amostras comercializadas por ambulantes no centro da cidade do Recife estavam armazenadas em caixas de poliestireno expandido e refrigeradas com gelo tipo “escama”.

- **Preparo das amostras:**

As amostras foram adquiridas no período de abril a junho de 2013, nas embalagens originais, devidamente lacradas e dentro do prazo de validade. Depois de adquiridas, estas foram acondicionadas em caixas isotérmicas e transportadas para o Laboratório de Microbiologia da Faculdade Pernambucana de Saúde, cujas embalagens foram desinfetadas com álcool 70% e mantidas em temperatura ambiente até o momento da análise. Foram utilizadas as seguintes cepas controles: *Escherichia coli* = ATCC 11105, *Pseudomonas aeruginosa* = ATCC 25853 e *Enterococcus* = ATCC 4083.

- **Análise microbiológica:**

A pesquisa se fundamentou na análise de possíveis contaminações microbiológicas nas amostras através da Técnica dos tubos múltiplos, a qual se subdivide em testes

presuntivos e confirmativos, que permite determinar o Número Mais Provável (NMP) dos micro-organismos alvos nas amostras, através da distribuição de alíquotas em uma série de tubos contendo um meio de cultura diferencial para o crescimento de cada micro-organismo. Para amostras em que se espera ausência ou baixas contagens do micro-organismo estudado, como é o caso das amostras utilizadas nesse trabalho (águas destinadas ao consumo humano), foram distribuídas 10 alíquotas de 10 mL da amostra, em 10 tubos contendo 10 mL do caldo de cultura, totalizando 100 mL da amostra para cada teste, segundo metodologia preconizada pelo Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 2005.

- **Determinação do número mais provável (NMP) de Coliformes Totais e Coliformes Fecais/*E.coli*:**

Para o teste presuntivo foram inoculadas alíquotas de 10 mL da amostra em cada um dos 10 tubos contendo 10 mL de Caldo Lauril Sulfato Triptose (LST) em concentração dupla. Os tubos inoculados foram incubados em estufa bacteriológica à temperatura entre 36 +/- 1°C. Após 24h/48 h de incubação, observar se houve crescimento com produção de gás (nos tubos contendo tubo de Durham para coleta), evidenciando resultado positivo. A não ocorrência de gás após 48 horas de incubação indica ausência de coliformes (totais e fecais) nos 100 mL da amostra. Para o teste confirmatório, transferir três alçadas (10uL cada) da cultura dos tubos positivos em tubos contendo 10 mL Caldo Verde Brilhante Bile (VB) para identificação de Coliformes totais, e em tubos contendo 10 mL de Caldo *Escherichia coli* (EC) para identificação de Coliformes fecais. A reação confirmatória positiva é o crescimento com produção de gás, em 24-36h de incubação a 36 +/- 1°C e 44,5°C, respectivamente. A partir dos tubos positivos na prova confirmatória, calcula-se o número mais provável de Coliformes Totais e Coliformes Fecais/*E.coli* (NMP/100mL) empregando-se tabela apropriada (Anexo B).

- **Determinação do número mais provável (NMP) de Enterococos e Streptococos Fecais:**

Para o teste presuntivo foram inoculadas alíquotas de 10 mL da amostra em cada um dos 10 tubos contendo 10 mL de Caldo Azida Dextrose em concentração dupla. Os tubos inoculados foram incubados em estufa à temperatura entre 36 +/- 1°C. Após 24h/48h de incubação, observar se houve crescimento com turvação do meio, evidenciando resultado positivo. A não ocorrência de turvação do meio após 48h de

incubação indica ausência de Enterococos e Estreptococos Fecais em 100 mL da amostra. Para o teste confirmatório, transferir uma alçada da cultura dos tubos positivos em placas com Ágar Pfizer Seletivo *Enterococcus* (PSE) para identificação de Enterococos e Estreptococos Fecais. A reação confirmatória positiva é o desenvolvimento de colônias típicas, castanho enegrecidas com halo marrom em 48h de incubação a 36 +/- 1°C. A partir das placas positivas na prova confirmatória, calcular o número mais provável de Enterococos e Estreptococos Fecais (NMP/100mL) empregando-se tabela apropriada (Anexo B).

Testes para confirmação de Enterococos:

- Teste de catalase;
- Coloração de Gram;
- Crescimento em Ágar Bile Esculina; e
- Crescimento em presença de 6,5% de NaCl.

- **Determinação do número mais provável (NMP) de *Pseudomonas aeruginosa*.**

Para o teste presuntivo foram inoculadas alíquotas de 10 mL, da amostra em cada um dos 10 tubos contendo 10 mL de Caldo Asparagina, em concentração dupla. Os tubos inoculados foram incubados em estufa bacteriológica à temperatura entre 36 +/- 1°C. Após 24h/48h de incubação, os tubos foram examinados sob luz ultravioleta (360nm de comprimento de onda) em uma câmara escura. O aparecimento de pigmento esverdeado fluorescente constituiu teste presuntivo positivo. Para o teste confirmatório transferir uma alçada da cultura dos tubos positivos em tubos contendo Caldo Acetamida. A reação confirmatória positiva é indicada pela mudança da cor do meio de vermelho para púrpura em 24-36h de incubação a 36 +/- 1°C. A partir dos tubos positivos de Acetamida, transferir uma alçada da cultura para placas contendo Ágar Leite, a ocorrência de hidrólise de caseína evidenciada por um halo claro ao redor das colônias após 24h de incubação a 36 +/- 1°C, é característica conformativa de *Pseudomonas aeruginosa*. A partir das placas positivas na prova confirmatória calculou-se o número mais provável de *Pseudomonas aeruginosa* (NMP/100mL) empregando-se tabela apropriada (Anexo B).

RESULTADOS

Os resultados das análises microbiológicas estão apresentados na Tabela 1 que expressa respectivamente o número mais provável de bactérias (NMP/100mL) Coliformes totais, coliformes fecais/*E.coli*, Enterococos e *Pseudomonas aeruginosa*.

Coliformes Totais e Coliformes Fecais/*E.coli*: Todas as amostras atenderam ao padrão para coliformes fecais/*E.coli*, ou seja, ausência deste grupo microbiano, apresentando <1,1 NMP/100mL. A legislação permite que uma das cinco amostras analisadas, apresente resultados entre os valores m e M (<1,1 NMP/100mL a 2,2 NMP/100mL) (Anexo A) para Coliformes Totais. Quanto a presença de Coliformes Fecais/*E.Coli*. a legislação não permite nenhuma amostra entre os valores m e M , ou seja, ausência total desse micro-organismo.

Enterococos sp: Apenas na amostra 3 da marca B foi observado a presença de Enterococos, apresentando 1,1NMP/100mL, porém, atende ao padrão da legislação, que permite que uma das cinco amostras analisadas, apresente resultados entre os valores m e M (<1,1 NMP/100mL a 2,2 NMP/100mL) (Anexo A).

Pseudomonas aeruginosa: Foi verificada a presença de *Pseudomonas aeruginosa* em 3 amostras , ou seja, a mais frequente das bactérias encontradas. A marca B foi a que apresentou mais irregularidades, com maiores valores de NMP/100mL, seguida da marca C e marca A. A marca D foi a única que não apresentou contaminação por *Pseudomonas aeruginosa*.. A legislação permite que uma das cinco amostras analisadas, apresente resultados entre os valores m e M (<1,1 NMP/100mL a 2,2 NMP/100mL) (Anexo A) para *Pseudomonas aeruginosa*.

DISCUSSÃO

De acordo com a RDC nº 275 de 22 de setembro de 2005 da ANVISA que dispõe sobre o Regulamento Técnico de Características Microbiológicas para Água Mineral Natural e Água Natural, a água mineral natural não deve apresentar risco à saúde do consumidor (ausência de micro-organismos patogênicos) e estar em conformidade com as características microbiológicas descritas no quadro dos critérios microbiológicos (ANEXO A).

Coliformes Totais e Coliformes Fecais/*E.coli*: A ausência de coliformes totais nas águas envasadas evidencia que não houve contaminação de origem externa visto que estas bactérias não fazem parte da composição do produto (WENDPAP et al., 1999; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2006). A enumeração de coliformes fecais/*E. coli* é importante, pois sua presença indica a possibilidade de ocorrência de outros micro-organismos patogênicos entéricos na água e a possibilidade de contaminação fecal (SILVA, 2000). Entretanto, resultado negativo de coliformes fecais não significa ausência de contaminação fecal porque esse resultado é influenciado pelo número e tamanho da amostra, sensibilidade da metodologia, quantidade presente de coliformes, interação sinérgica com *Pseudomonas aeruginosa*, além de haver cepas de *Salmonella* mais resistentes do que os coliformes (FRANCO; LANDGRAF, 2003).

***Enterococos sp*:** O resultado obtido se assemelha com muitos estudos pesquisados, pois mesmo sendo um micro-organismo indicador de contaminação fecal e constar na legislação como padrão microbiológico de água, a pesquisa de enterococos não é tão usual. Apesar das limitações do uso desses micro-organismos como indicadores de contaminação fecal, pois eles também são encontrados em ambientes diferentes do trato gastrointestinal, sua presença em números elevados em alimentos indica práticas sanitárias inadequadas ou exposição do alimento a condições que permitiram a multiplicação de micro-organismos indesejáveis (FRANCO; LANDGRAF, 2003). Portanto, a presença de enterococos em uma única amostra como foi detectado, não condena sua qualidade, porém, indica a necessidade de intensificação de cuidados nas indústrias engarrafadoras para evitar a presença desses micro-organismos no produto final, pois podem causar danos à saúde dos consumidores (DIAS, 2008).

***Pseudomonas aeruginosa*:** A presença da *Pseudomonas aeruginosa* em água mineral não é aceitável por ser um patógeno oportunista capaz de causar infecções em indivíduos imunocomprometidos (HUNTER, 1993). *Pseudomonas aeruginosa* apresenta maior resistência do que os microrganismos patogênicos, sendo capaz de inibir as bactérias do grupo coliforme (GUILHERME et al., 2000). Isto pode ter ocorrido nesta pesquisa, pois se verificou que todas as amostras contaminadas por *Pseudomonas aeruginosa* não apresentaram contaminação por coliformes. A presença de *Pseudomonas aeruginosa* em amostras de água mineral da mesma marca pode ser

explicada pela capacidade de aderência a superfícies que este micro-organismo apresenta, pois de acordo com Hunter (1993); McFeters et al. (1974); Schimdt-Lorenz (1976), no primeiro contato de *Pseudomonas aeruginosa* com a linha de engarrafamento, pode haver colonização dos tanques ou de outras partes, de modo a fornecer uma contaminação constante para as águas que passem por esse ponto. Assim, podendo formar focos de contaminação em diversos pontos da linha que, se não forem removidos por um programa adequado de limpeza e sanitização do sistema de adução e engarrafamento podem propiciar a presença da bactéria no produto final (EIROA et al., 1996). O fato de que outras amostras da mesma marca não estavam contaminadas, pode ser explicado pela temperatura, um fator importante para a multiplicação das bactérias após o engarrafamento, pois, durante o período de estocagem elas são geralmente maiores que na fonte (SCHIMDT-LORENZ, 1976). Se a água é estocada em temperatura inadequada, fato corrente entre ambulantes do centro da cidade do Recife, em apenas alguns dias as contagens bacterianas poderão atingir concentrações altas como 10^4 a 10^5 UFC/mL. A refrigeração retarda esse processo (ROSENBERG, 2003). Estudos têm mostrado que as bactérias geralmente ocorrem em maior número nas garrafas plásticas do que nas de vidro (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2006). COELHO et al. (1998); ROSENBERG (2003) acreditam que maior número de micro-organismos são encontrados em águas de garrafas plásticas, devido á característica do plástico em permitir a passagem de O_2 ; os nutrientes liberados dos plásticos são também um possível contribuinte para o aumento da multiplicação bacteriana na água (EIROA et al., 1997).

Diante dos resultados obtidos, foi possível verificar que o produto água mineral está sujeito a contaminação bacteriana podendo oferecer riscos a saúde dos consumidores, demonstrando a necessidade do contínuo monitoramento das condições higiênico-sanitárias das águas minerais ofertadas à população.

AGRADECIMENTOS

A Faculdade Pernambucana de Saúde que proporcionou a realização desse projeto.

As minhas orientadoras, Lúcia e Manuela, pela colaboração, dedicação e amizade, durante todo o desenvolvimento do projeto.

Aos meus pais, pelo incentivo na minha realização profissional e pessoal.

REFERÊNCIAS

- 1- RIEDEL, Guenther. **Controle sanitário dos alimentos**. São Paulo: Atheneu; 2005. 320p
- 2- BRASIL, 2005. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução nº 275 de 22 de setembro de 2005**. Regulamento Técnico de Características Microbiológicas para Água Mineral Natural e Água Natural. Diário Oficial da União. Brasília, 23 de setembro de 2005. [Acesso em: 15 abr. 2013]Disponível:<http://legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=18834&Word>
- 3- CARDOSO, C.C.; VEIGA, S.M.O.M.; NASCIMENTO, L.C.; FIORINI, J.E.; AMARAL, L.A. **Microbiological evaluation of mineral water packing sanitizing processing with ozone**. Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas, v. 23, nº1. p.59-61,2003. . [Acesso em: 24 abr. 2013] Disponível em : www.scielo.br
- 4- BRASIL, 2009. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Portaria Nº 374, DE 1º OUTUBRO DE 2009**, DOU de 07/10/2009 que aprova a Norma Técnica que dispõe sobre as Especificações Técnicas para o Aproveitamento de água mineral, termal, gasosa, potável de mesa.
- 5- VAISTMAN, D. S.; VAISTMAN, M. S. **Águas Minerais**. Rio de Janeiro: Interciência, 2005.
- 6- RAMALHO, R.; AFONSO, A.; CUNHA, J.; TEIXEIRA, P.; GIBBS, P. A. **Survival characteristics of pathogens inoculated into bottled mineral water**. Food Control, v.12, p.311-316. 2001.
- 7- VILENA, R. S.; BORGES, D. G.; CURY, J. A. **Avaliação da concentração de flúor em águas minerais comercializadas no Brasil**. Rev. Saúde Pública. v.30, n. 6, p. 512-518., 1996.
- 8- SANT'ANA, A . S.; SILVA, S.C.F.; FARINI, I.O.JR.; AMARAL, C.H.R. e MACEDO, V.F. **Qualidade Microbiológica de Águas Minerais**. Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas, v. 23, p.190 –194. Dez 2003.
- 9- GUEDES, Z. B. L. et al., **Controle Sanitário da Água Consumida na Unidade de Saúde do Município de Fortaleza, CE**. Revista Higiene Alimentar. v.18, nº 125, 125, p. 28-31, set. 2004.

- 10- BRASIL, 2006. Fundação Nacional de Saúde. **Manual prático de análise de água**. 2ª ed. rev. - Brasília: Fundação Nacional de Saúde, 2006. 146 p./ 1. Saneamento. I. Título.
- 11- MACÊDO, J. A. B. de. **Águas & águas**. São Paulo: Varela, 2001. 263p.
- 12- FRANCO, B. D. G. de M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2003. 182p.
- 13- WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Water and Public Health**. 2006. [Acesso em: 30 mai. 2013] Disponível em: http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/S01.pdf
- 14- INSTITUTO DE TECNOLOGIA DO PARANÁ (TECPAR: 2007) **Dossiê técnico do Instituto de Tecnologia do Paraná**. . [Acesso em: 02 mai. 2013] Disponível em: www.respostatecnica.org.br/dossie-tecnico/downloadsDT/MjIz
- 15- VASCONCELOS, U, CALAZANZ, G.M.T. **Antibiogramas de linhagens de *Pseudomonas aeruginosa* isoladas de diferentes ambientes aquáticos**. Rev. Patol. Trop. 2006; 35 (3): 241-4.
- 16- GUILHERME, E. F. M.; SILVA, J. A. M. da.; OTTO, S. S. ***Pseudomonas aeruginosa*, como indicador de contaminação hídrica**. Hig. Alim., v.14, n.76, p.43-47, 2000.
- 17- TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F. (Ed). **Microbiologia**. 4. ed. São Paulo: Atheneu, 2005. 718p.
- 18- PARRON, LUCILIA MARIA. **Manual de procedimentos de amostragem e análise físico-química de água**. Dados eletrônicos. – Colombo: Embrapa Florestas, 2011. [Acesso em: 09 mai. 2013] Disponível em: <http://www.cnpf.embrapa.br/pubblia/seriedoc/edicoes/doc219.pdf>
- 19- BRASIL, 2011. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Coordenação-Geral de Vigilância em Saúde Ambiental. **Portaria MS n.º 2914 de 2011**. Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. Brasília: SVS, 2011. Ministério da Saúde.
- 20- ASSOCIAÇÃO DOS DISTRIBUIDORES DE ÁGUA MINERAL DO ESTADO DO RIO GRANDE DO SUL (ADAMRS, 2010) . [Acesso em: 09 mai. 2013] Disponível em: <http://adamrs.wordpress.com/2010/08/21/agua-mineral-os-cuidados-que-voce-deve-ter-na-hora-de-comprar/>

- 21- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA, 2005). **Standard Methods for the examination of water and wastewater** 21th ed., p.9-33/9-34, 2005.
- 22- WENDPAP, L. L.; DAMBROS, C. S. K.; LOPES, V. L. D. Qualidade das águas minerais e potável de mesa, comercializadas em Cuiabá-MT. **Higiene Alimentar**, v.13, n.64, p.40-44, 1999.
- 23- SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. São Paulo: Varela, 1997. 295p.
- 24- FRANCO, B. D. G. de M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2003. 182p.
- 25- DIAS, MFF. Qualidade microbiológica de águas minerais em garrafas individuais comercializadas em Araraquara-SP [dissertação]. São Paulo: Faculdade de Ciências Farmacêuticas, UNESP – Campus de Araraquara; 2008.
- 26- HUNTER, P. R. A. Review: the microbiology of bottled natural mineral waters. **J. Appl. Bacteriol.**, v. 74, p. 345-352. 1993.
- 27- EIROA, M. N. U.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. de A. Avaliação microbiológica de linhas de captação e engarrafamento de água mineral. **Ciênc. Technol. Aliment.**, v. 16, n. 2, p. 165-169, 1996.
- 28- SCHMIDT-LORENZ, W. Microbiological characteristics of natural mineral water. **Ann. Ist. Super Sanita**, v.12, p. 93-112, 1976.
- 29- ROSENBERG, F. A. The microbiology of bottled water. **Clin. Microbiol. Newslett.**, v.25, n.6, p.41-44, 2003.

ANEXOS

ANEXO A: Características Microbiológicas para Água Mineral Natural e Água Natural

Microorganismo	Amostra Indicativa Limites	Amostra representativa			
		n	c	m	M
Escherichia coli ou coliformes (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
Enterococos, 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
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>, 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
Clostrídios sulfito redutores ou <i>Clostridium perfringens</i>, 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

Fonte: BRASIL, 2005.

(UFC): unidade formadora de colônias; (NMP); número mais provável; (n): número de unidades de amostra representativa a serem coletadas e analisadas individualmente; (c): número de unidades da amostra representativa que pode apresentar resultado entre os valores "m" e "M"; (m): limite inferior mínimo aceitável corresponde ao valor que separa uma qualidade satisfatória de uma qualidade marginal, sendo desejáveis valores abaixo do limite "m"; (M): limite superior máximo aceitável e conseqüentemente valores acima de "M" não são aceitos.

ANEXO B – Tabela dos índices de NMP e limites de 95% de confiança para várias combinações de resultados positivos e negativos quando dez alíquotas de 10mL são usadas.

Nº de tubos positivos	NMP/ 100mL	Limites de confiança	
		Inferior	Superior
0	<1,1	0	3,0
1	1,1	0,03	5,9
2	2,2	0,26	8,1
3	3,6	0,69	10,6
4	5,1	1,3	13,4
5	6,9	2,1	16,8
6	9,2	3,1	21,1
7	12,0	4,3	27,1
8	16,1	5,9	36,8
9	23,0	8,1	59,8
10	>23,0	13,5	Infinito

Fonte: AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION, 2005

IMAGENS E TABELAS

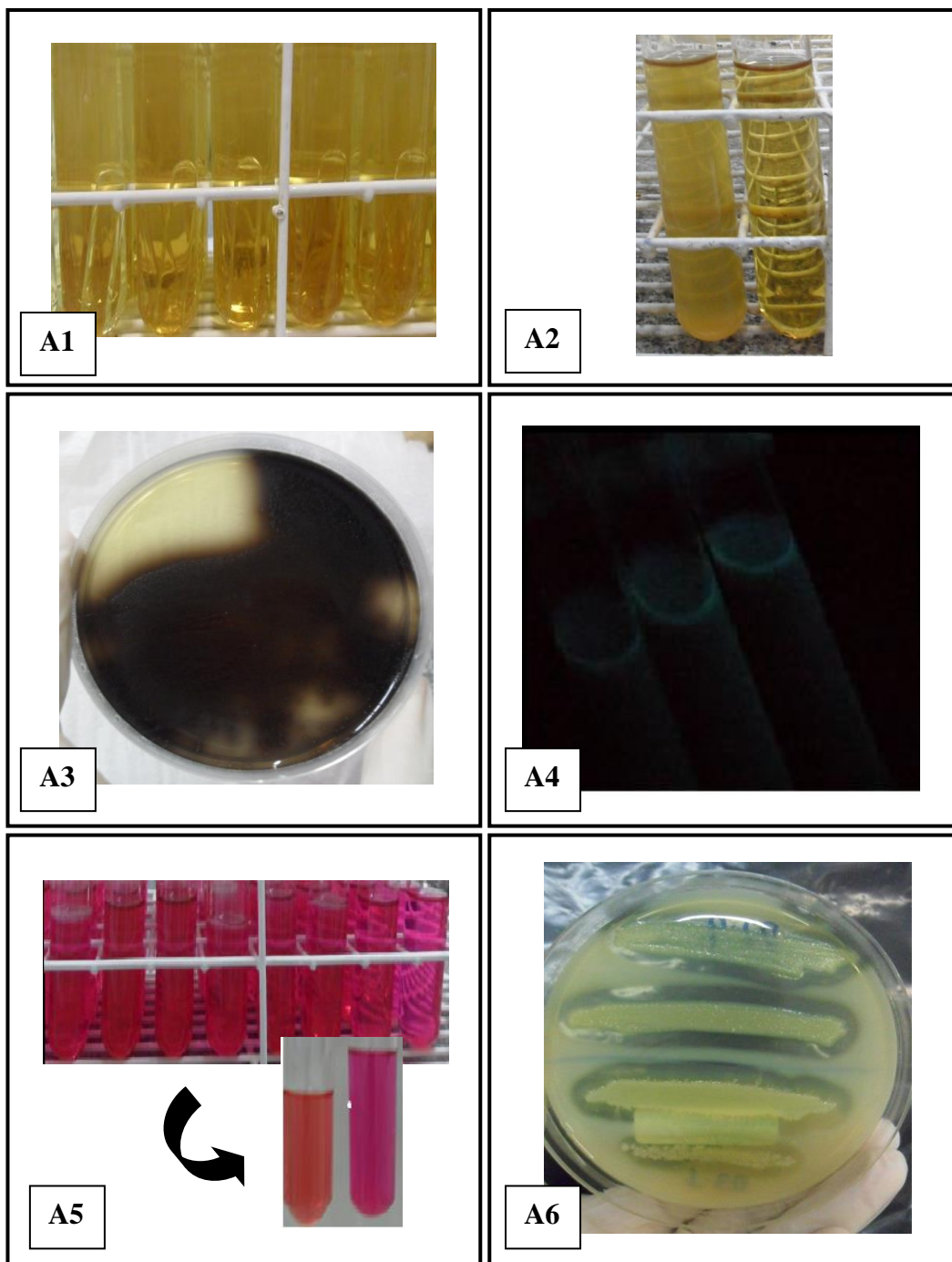


FIGURA 1: Resultados obtidos. A1= Caldo Lauril Sulfato Triptose sem produção de gás/bolhas nos tubos de Durham indicando resultado negativo para bactérias do grupo coliformes; A2= Turvação do Caldo Azida Dextrose indicando possível presença de Enterococos; A3= Ágar Pfiser Seletivo *Enterococcus* com colônias castanho enegrecidas e halo marrom, característica confirmativa de Enterococos; A4= Caldo Asparagina com pigmento esverdeado fluorescente sob câmara UV indicando possível presença de *Pseudomonas Aeruginosa*; A5= Mudança da cor do caldo Asparagina de vermelho para púrpura, indicando presença de *Pseudomonas Aeruginosa* e A6= Ágar Leite com formação de halo claro ao redor das colônias, característica confirmativa de *Pseudomonas Aeruginosa*.

TABELA 1: NMP/mL de Coliformes totais, Coliformes fecais/*E.coli*, Enterococos e *Pseudomonas aeruginosa* representado pelas marcas e números das amostras de água mineral em copos de 300mL comercializadas no centro da cidade do Recife - PE

		Coliformes Totais (NMP/mL)	Coliformes Fecais/ <i>E.Coli</i> (NMP/mL)	Enterococos (NMP/mL)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (NMP/mL)
A	1	<1,1	<1,1	<1,1	3,6
	2	<1,1	<1,1	<1,1	2,2
	3	<1,1	<1,1	<1,1	<1,1
	4	<1,1	<1,1	<1,1	1,1
	5	<1,1	<1,1	<1,1	<1,1
B	1	<1,1	<1,1	<1,1	12
	2	<1,1	<1,1	<1,1	23
	3	<1,1	<1,1	1,1	2,2
	4	<1,1	<1,1	<1,1	<1,1
	5	<1,1	<1,1	<1,1	12
C	1	<1,1	<1,1	<1,1	3,6
	2	<1,1	<1,1	<1,1	5,1
	3	<1,1	<1,1	<1,1	2,2
	4	<1,1	<1,1	<1,1	<1,1
	5	<1,1	<1,1	<1,1	<1,1
D	1	<1,1	<1,1	<1,1	<1,1
	2	<1,1	<1,1	<1,1	<1,1
	3	<1,1	<1,1	<1,1	<1,1
	4	<1,1	<1,1	<1,1	<1,1
	5	<1,1	<1,1	<1,1	<1,1