

ANÁLISE DE MICRORGANISMOS DE IMPORTÂNCIA CLÍNICA PRESENTES EM ÁGUA MINERAL: UMA REVISÃO DE LITERATURA

Matheus Alves Cavalcanti¹
José Mateus Santos²
Alavanny Batista Medeiros³
Silvan Calado Queiroz Júnior⁴
Thaise Gabriele da Silva Brito⁵

RESUMO: O objetivo do estudo foi fazer uma análise dos principais microrganismos que interferem na qualidade sanitária da água mineral segundo a legislação brasileira e das principais técnicas de coletas e análises segundo artigos publicados no Brasil. Os principais microrganismos encontrados no estudo para avaliar a qualidade e potabilidade de água mineral foram *Escherichia Coli*/Coliformes fecais, Coliformes totais, Clostrídios sulfito redutores, *Enterococcus spp*, *Pseudomonas aeruginosa* e Bactérias heterotróficas. Os marcadores de qualidade para avaliar os indicativos de presença ou ausência e concentração de colônias por volume de água variam de acordo com a legislação federal ou local e de acordo com a finalidade da água analisada, como observado na RDC Nº275/2005, PORTARIA Nº 2914/2011 e CETESB por exemplo. As principais técnicas de coletas e análises das amostras foram baseadas em instruções da ANVISA (2022) e APHA que levaram em consideração a higienização e adequabilidade dos recipientes e pontos de coleta e onde era indicado a utilização de técnicas como: Tubos múltiplos, Número Mais Provável (NMP), Filtração por Membrana e utilização de substratos cromogênicos. A análise de 12 artigos sobre qualidade de água mineral resultou em uma incidência de 30,20% de amostras contaminadas.

Palavras-chave: Água Mineral, Padrão microbiológico da água mineral, Qualidade da água

ANALYSIS OF CLINICALLY IMPORTANT MICROORGANISMS DISPOSING IN MINERAL WATER: A LITERATURE REVIEW

ABSTRACT: The objective of the study was to analyze the main microorganisms that interfere in the sanitary quality of mineral water according to Brazilian legislation and the main techniques of collection and analysis according to articles published in Brazil. The main microorganisms found in the study to evaluate the quality and potability of mineral water were *Escherichia Coli*/Fecal coliforms, Total coliforms, reducing sulfite Clostridia, *Enterococcus spp*, *Pseudomonas aeruginosa* and Heterotrophic bacteria. The quality markers to evaluate the indications of presence or absence and concentration of colonies by volume of water vary according to federal or local legislation and according to the purpose of the water analyzed, as observed in RDC No. 275/2005, ORDINANCE No. 2914/2011 and CETESB, for example. The main sample collection and analysis techniques were based on instructions from ANVISA (2022) and APHA that took into account the hygiene and suitability of containers and collection points and where the use of techniques such as multiple tubes, Most Probable Number (MPN), Membrane Filtration and the use of chromogenic substrates was indicated. The analysis of 12 articles on mineral water quality resulted in an incidence of 30.20% of contaminated samples.

Keywords: Mineral Water, Microbiological Standard of Mineral Water, Water Quality

¹Graduando em Biomedicina. Unifavip Wyden/Caruaru. Matheus531@live.com

²Graduando em Biomedicina. Unifavip Wyden/Caruaru. Jose.mateus0030@gmail.com

³Graduando em Biomedicina. Unifavip Wyden/Caruaru. Alavanny@hotmail.com

⁴Graduando em Biomedicina. Unifavip Wyden/Caruaru. Silvancqjunior@gmail.com

⁵Professora Dr^a. Da Unifavip Wyden/Caruaru. Email. Thaise.gabrielle@gmail.com

INTRODUÇÃO

A definição de água mineral natural pode ser estabelecida como todo recurso hídrico que se origina de reservatórios naturais, sejam eles encontrados diretamente na superfície ou localizados em camadas subterrâneas da Terra (BRASIL, 2005).

Ela é um dos principais recursos para a existência e manutenção da vida no nosso planeta, tornando-se insubstituível nos nossos hábitos diários (MENDONÇA et al., 2017). Sua preservação e manutenção no local de origem é de grande importância tanto para a comunidade quanto às autoridades sanitárias, pois diversos fatores podem acarretar em sua contaminação, como descarte irregular de lixo ou esgoto em recursos hídricos, encanamentos sem manutenção e construção de reservatórios irregulares, podendo transportar doenças para o consumidor (COLET et al., 2020). Nesse contexto, ao analisar estatísticas levantadas pelo Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento (SNIS, 2018), é observado que uma grande parcela da população não possui abastecimento de água tratada (cerca de 16% dentre uma população de 200 milhões de brasileiros), e metade desses habitantes não usufrui de tratamento adequado para esgoto (SILVEIRA et al., 2017).

Outro importante fator de contaminação que necessita de atenção sanitária é o armazenamento dentro de caixas d'água e o transporte da água pelas tubulações até o local de destino, pois podem estar contaminados por biofilmes ou outros microrganismos e muitas vezes a higienização desses locais não ocorre, são higienizados com uma baixa frequência ou a forma de limpeza é mal executada, seja por dificuldade de acesso, conhecimento, falta de profissional capacitado ou até mesmo devido a irregularidade do fornecimento de recursos hídricos do local (MACANHAM e HARDOIM, 2016).

Contudo, ao direcionar a qualidade microbiológica à (RDC) nº 275, à Portaria do Ministério da Saúde Nº 2914/2011 e a Portaria de Consolidação nº 5 (PRC-5)-Anexo XX, de 28 de setembro de 2017, torna-se possível utilizá-las como referências para as principais cepas de microrganismos analisadas, visando estabelecer um padrão e os limites de concentração de certos microrganismos presentes na água mineral natural ou especificamente para água voltada para o consumo humano. Os dois grupos de bactérias mais citados no presente estudo são os coliformes totais que entre 24 a 48 horas a 35°C possuem capacidade de fermentar lactose produzindo gás e ácidos, e os coliformes termotolerantes, também chamados de coliformes fecais, os quais possuem como o principal representante a *Escherichia Coli*, que em um ambiente propício à 44°C conseguem fermentar a lactose em 24 horas produzindo gás (RATTI et al., 2011).

Assim, quando existe uma fonte hídrica destinada ao consumo humano que não está sanitariamente segura para a população ela aumenta a possibilidade das pessoas se contaminarem por doenças de veiculação hídrica, sendo doenças como febres tifoide e paratifoide, parasitoses, cólera, hepatite A e diarreias, muitas vezes por fontes de água comprometidas por contaminação de material fecal (DA SILVA et al., 2023). A bactéria *Pseudomonas aeruginosa* está vinculada a complicações clínicas relevantes e a elevados custos no tratamento de pacientes, recorrentes de infecções causadas pela colonização de dispositivos médicos e pela formação subsequente de biofilmes bacterianos (QUATRIN et al., 2015). Por tanto, para a análise desses microrganismos, muitos estudos como o de Mendonça et al., (2017) embasaram-se em técnicas, métodos e padronizações da *American Public Health Association* (APHA), Surgindo assim, a possibilidade da realização do seguinte trabalho com o intuito de demonstrar os principais meios utilizados de padronização, análises microbiológicas e coleta de água mineral para identificar fontes de água seguras para o consumo humano.

METODOLOGIA

Para a realização deste trabalho foi utilizado a plataforma do Google Drive com pastas compartilhadas como base de armazenamento, análise e triagem dos dados obtidos na pesquisa. O levantamento bibliográfico foi subdividido em 3 fases. Na primeira fase foi utilizado o Google Acadêmico e serviços de busca da Scielo para a coleta de todo material científico que fosse publicado ou vinculado à Fiocruz, Scielo, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) e normativas do Governo Brasileiro que abordassem os temas de: “Microbiologia da água mineral”, “Definição de água mineral”; “Qualidade da água mineral”, “Métodos de análise de água mineral” e “Padrão microbiológico da água mineral”.

Depois de todos os documentos científicos correlacionados serem baixados, estudados e anexados em pastas distintas informando sua fonte, foram iniciadas as fases 2 e 3 em sua respectiva sequência. Na fase 2 foi realizada uma triagem onde todos os documentos com pesquisas realizadas antes da RDC nº 275 (2005) e que não abordassem especificamente sobre águas minerais para o consumo humano seriam descartados. Logo na sequência, foi realizada a fase 3 onde foram criadas pastas onde seriam condensados os principais documentos que melhor sintetizam: Metodologias e resultados de coleta das amostras, Definições do conceito de padrão microbiológico de água mineral, Métodos e resultados de formas de análises microbiológicas, Principais cepas de importância clínica encontradas.

Desta forma, com o banco de dados estruturado, analisado e de acordo com as diretrizes da pesquisa, foi possível avaliar, estudar e elaborar um referencial teórico atual e conciso para o artigo, condensando os principais resultados dos documentos selecionados na presente revisão bibliográfica.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Principais cepas de importância clínica

No Brasil, a regulamentação da qualidade microbiológica da água mineral é estabelecida pela Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) nº 275, emitida em 22 de setembro de 2005 pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Este Regulamento Técnico de Características Microbiológicas para Água Mineral Natural e Água Natural, serve como diretriz para avaliação sanitária da água mineral ao estabelecer limites para a existência de microrganismos indicadores de contaminação fecal na água, como: coliformes totais, coliformes termotolerantes e/ou *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, Clostrídios sulfato redutores e *Enterococos spp* (BRASIL, 2005).

Segundo o estudo de Roewer et al., (2016), os índices da Organização Mundial da Saúde (OMS), demonstram que países em desenvolvimento, possuem como causa da maioria das doenças bacterianas uma transmissão por veiculação hídrica, fato que evidencia a qualidade da água como uma problemática de indispensável resolução para a garantia da qualidade da saúde pública. Para Freitas (2002), a água para consumo humano sem tratamento adequado, apresenta-se como um importante elemento de risco à saúde da população que a consome, pois se torna um dos principais veículos transmissores de parasitas e microrganismos causadores de doenças.

Nesse contexto, a RDC Nº 275/2005 surgiu para definir os parâmetros microbiológicos qualitativos e quantitativos que a água mineral deve atender para ser considerada segura para consumo humano. Na visão de Koneman et al., (2018) as amostras microbiológicas foram desses parâmetros, caracterizadas como insatisfatórias, caso sejam ingeridas podem provocar infecções intestinais os coliformes, as patologias diversas como: infecções urinárias,

intoxicações alimentares, pneumonias e meningites, inclusive as nosocomiais. Além disso, as infecções provocadas por esses organismos são consideradas mais complexas devido aos seus múltiplos modos de transmissão.

O grupo de coliformes, encontrado nas fezes de animais de sangue quente, incluindo os seres humanos, é amplamente utilizado como um sinal de contaminação fecal. Sua maior durabilidade na água, em relação a outras bactérias intestinais, reforça sua eficiência na análise do grau de contaminação fecal (BRASIL, 2006).

De acordo com a pesquisa realizada por Ratti et al., (2011), coliformes totais são bacilos gram-negativos, aeróbicos ou anaeróbicos facultativos e oxidase-negativos que são incapazes de formar esporos. Em uma temperatura de 35°C, num período de 24 a 48 horas conseguem fermentar a lactose e gerar gases, ácidos e aldeídos. Além disso, possuem a capacidade de se desenvolver na presença de sais biliares ou demais compostos ativos de superfície, com característica inversa que promove a limitação do crescimento. No grupo dos coliformes totais estão bactérias integrantes da família Enterobacteriaceae, como os gêneros *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella* e *Escherichia* (SILVA JR, 2002).

Ainda para Ratti et al., (2011), existe o grupo de bactérias contaminantes, que são utilizadas para mensurar nível de potabilidade, chamado de coliformes termotolerantes ou coliformes fecais, sendo esse grupo caracterizado por produzir gás a temperaturas entre 44 a 45 °C, ser capaz de fermentar lactose e possuir a *Escherichia coli* como a principal espécie representante do grupo. De acordo com Dias (2008), as doenças de veiculação hídrica podem ser definidas como aquelas doenças em que o agente infeccioso tem a água como veículo. Sendo assim, devido a grande importância da água na vida humana por se tratar de um recurso indispensável para seu metabolismo, a análise microbiológica desse líquido é essencial para garantir sua potabilidade (YAMAGUCHI, 2013). Segundo Souza et al., (2016), outro microrganismo de relevância nesse aspecto é a *E. coli*. Em meio ao ambiente natural, esse microorganismo é comumente encontrado, muitas vezes na espécie de *E. coli* comensal, estabelecendo relações proveitosas comensalistas para o metabolismo dos seres humanos, fazendo parte da sua microbiota intestinal natural. Contudo, também existem espécies patogênicas que debilitam o sistema metabólico, causando infecções diarreicas ou, até mesmo, infecções extra-intestinais.

O grupo de bactérias coliformes não faz parte da composição natural da água mineral, portanto sua presença indica que ocorreu interferência externa na água (FARACHE FILHO; DIAS, 2008). Segundo a FUNASA (2006), o grupo de bactérias coliforme foi determinado como indicador de contaminação da água devido aos seguintes fatores: estão presentes nas fezes de seres humanos e demais animais de sangue quente; apresentam-se como microrganismos de fácil detecção e quantificação em qualquer tipo de água através de técnicas economicamente viáveis e simples; o grau de contaminação fecal da água possui relação direta com a concentração desses microrganismos na água contaminada; por serem menos fastidiosas, incapazes de se multiplicar em ambientes aquáticos ou se multiplicarem menos que as bactérias entéricas, as bactérias coliformes possuem maior tempo de sobrevivência na água que as bactérias patogênicas intestinais; em comparação as bactérias patogênicas, os coliformes possuem maior resistência aos agentes tensoativos e desinfetantes.

A pesquisa de Silva et al. (1997) Demonstrou que a presença de coliformes totais na água é menos significativa como indicador de contaminação fecal, pois esses microrganismos podem ser encontrados em diversas fontes ambientais. Já os coliformes fecais e a *E. coli* são indicadores mais específicos de contaminação fecal. No entanto, é amplamente empregada na indústria alimentícia, sinalizando possíveis contaminações após a sanitização ou o processamento, evidenciando práticas de higiene e desinfecção abaixo dos padrões exigidos para o processamento de alimentos.

Além do grupo Coliforme, o estudo de Vasconcelos et al., (2006) apresenta a presença de *Pseudomonas aeruginosa* como um agravante no que diz respeito à qualidade da água, pois destaca-se por sua notável adaptabilidade, permitindo-lhe colonizar uma ampla variedade de ambientes, incluindo habitats marinhos, solo, plantas, seres humanos e animais. (WAGNER et al., 2003). Esse microrganismo está relacionado com surtos de gastrenterites veiculadas pela água. Sendo capaz de sobreviver em substratos com baixa disponibilidade de nutrientes, demonstrar tolerância a níveis relativamente elevados de pH e metabolizar uma ampla variedade de compostos. Fatores que, associados a sua alta proliferação em águas minerais torna a espécie merecedora de atenção especial (GUILHERME et al., 2000).

A *P. aeruginosa* é um patógeno capsulado com capacidade de formar biofilmes em equipamentos, caracterizado por seu comportamento oportunista, resistência a antibióticos e potencial para causar infecções em pacientes com sistema imunológico debilitado. Fatores que elevam a atenção para os índices de incidência de infecção de tal microrganismo. (SANT'ANA et al., 2003).

Segundo Freire et al., (2012), a percepção de bactérias heterotróficas na água mineral pode oferecer uma visão abrangente sobre sua qualidade microbiológica. Esse grupo de bactérias pode ser definido, de forma genérica, como sendo caracterizados por microrganismos que necessitam da utilização de carbono orgânico como fonte de energia. Esse grupo de bactérias é capaz de fermentar manitol e lactose produzindo ácido e gerando gás em um período de 24 horas, a uma temperatura de 44,5 a 0,2 °C, além de serem oxidase-negativas (BRASIL, 2006). Na água, o controle da densidade dessas bactérias torna-se importante, pois, apesar da maioria das bactérias heterotróficas constituidoras da flora natural da água serem consideradas não patogênicas, densidades detectadas elevadas dessas bactérias na água podem gerar riscos à saúde humana (FARACHE FILHO E DIAS, 2008).

A portaria Nº 2.914, de dezembro de 2011, do Ministério da Saúde, inciso 3º, dispõe que a quantidade de bactérias heterotróficas presentes na água mineral não deve ultrapassar o limite máximo de 500 UFC/ml, pois alterações de valores acima do limite estabelecido devem ser investigados para identificação de irregularidade e providências devem ser adotadas para o restabelecimento da integridade do sistema de distribuição.

O gênero Enterococcus ou Enterobacter é composto por bactérias que possuem forma de cocos e são gram-positivas aeróbicas.

Essas bactérias são resistentes à seca e ao cloro, e ,por isso, podem habitar diferentes locais, fator que torna possível a sua permanência no ambiente. Dessa forma, a sua identificação por si só indica que houve uma prática sanitária inadequada. (MASSAGO et al., 2021; FILHO et al., 2008; MCFETERS et al., 1974).

O gênero Enterococcus abrange mais de 41 espécies distintas, que podem ser localizadas no solo, na água, em alimentos e no trato digestivo de seres humanos e outros animais. (NACHTIGALL., 2011). Os Clostrídos redutores de sulfitos a 46°C são bacilos gram positivos, esporulados e anaeróbios, que em condições ambientais desfavoráveis à sua sobrevivência possuem uma grande capacidade de resistência às intempéries. Esses microrganismos estão presentes no solo, assim como no trato intestinal de seres humanos e outros animais. A identificação dessa bactéria aponta para contaminação fecal de origem remota, além de ser capaz de indicar falhas nas práticas de fabricação, podendo também sugerir possível contaminação do solo em reservatórios ou fontes afetadas por águas superficiais. (SANT'ANA et al., 2003; SCHMIDT-LORENZ et al., 1983).

Os padrões de potabilidade da água prescritos na RDC Nº 275/2005 têm o objetivo de promover o constante aperfeiçoamento das ações de controle sanitário com enfoque em manter atualizadas as técnicas de avaliação do risco de danos à saúde da população em relação águas mineral e garantir a proteção à saúde pública (BRASIL, 2005). Com esse objetivo, foram definidos critérios para a avaliação da presença e concentração de coliformes totais,

Pseudomonas aeruginosa, *Enterococcus spp.*, *Clostridium sulfito-redutores*, *coliformes termotolerantes* e/ou *Escherichia coli*. Dessa forma, a ANVISA prevê que o padrão de avaliação de ausência dessas bactérias na água é realizado pela análise da quantidade mensurada em UFC de cada microrganismo presente em 100mL da amostra coletada. Para proporcionar melhor explanação dos dados da legislação vigente, o artifício do uso de quadros foi utilizado a seguir.

TABELA 1. Características microbiológicas para Água Mineral Natural.

	Bactérias Heterotróficas/ mL	Coliformes Totais, em 100mL	<i>Escherichia coli</i> ou Coliformes Fecais /Termotolerantes, em 100 mL	Clostrídios sulfito redutores, em 100mL	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , em 100mL	<i>Enterococcus spp.</i> , em 100mL
Limites	<500 UFC; ou Inexistente	<1,0 UFC; <1,1 NMP ou Inexistente	Totalmente Inexistente	<1,0 UFC; <1,1 NMP ou Inexistente	<1,0 UFC; <1,1 NMP ou Inexistente	<1,0 UFC; <1,1 NMP ou Inexistente
<i>n</i>	5	5	5	5	5	5
<i>c</i>		1	0	1	1	1
<i>m</i>		<1,0 UFC; <1,1 NMP ou Inexistente		<1,0 UFC; <1,1 NMP ou Inexistente	<1,0 UFC; <1,1 NMP ou Inexistente	<1,0 UFC; <1,1 NMP ou Inexistente
<i>M</i>		2,0 UFC ou 2,2 NMP	Inexistente	2,0 UFC ou 2,2 NMP	2,0 UFC ou 2,2 NMP	2,0 UFC ou 2,2 NMP

FONTE: RESOLUÇÃO-RDC No 275, DE 22 DE SETEMBRO DE 2005; PORTARIA DO MINISTÉRIO DA SAÚDE Nº 2.914, DE DEZEMBRO DE 2011.

Na Tabela 1, as siglas UFC (Unidades Formadoras de Colônias) e NMP (Número mais provável) representam o número de bactérias ou fungos presentes em 100ml da amostra. A letra "n" indica a quantidade de unidades da amostra representativa que será posteriormente coletada e examinada individualmente. A letra "c" refere-se ao número máximo de unidades da amostra representativa que podem apresentar resultados dentro de determinados valores aceitáveis e respectivamente, as letras "m" e "M" representam os limites mínimos e máximos aceitáveis da presença de cada microrganismo na água (BRASIL, 2005).

De acordo com a RDC 275/2005, para garantir que água mineral esteja em conformidade com os padrões vigentes, a análise precisa ser realizada com duas categorias de amostra: amostra indicativa e amostra representativa. A amostra indicativa é utilizada para uma análise preliminar na qual uma quantidade menor de amostras é utilizada, enquanto na representativa uma quantidade maior de amostras é requerida, sendo somente realizada caso a indicativa aponte resultados acima do limite estabelecido. O regulamento ainda indica uma estipulação volumétrica de concentração dessas duas formas de amostragem, delimita a

inexistência de população bacteriana em 100mL de amostra indicativa ou menos de 2,00 UFC/100mL na amostra representativa de populações de *Escherichia coli*; *Enterococcus* spp, coliformes totais; *Clostridium perfringens* e *Pseudomonas aeruginosa*s.

Técnicas de coleta

O Método de coleta da água representa a adequabilidade da pesquisa, fazendo-se necessário os cuidados com os equipamentos e técnicas para determinar a segurança para o consumo humano, onde a embalagem deve tornar a amostra inviolável desde a coleta até a recepção pelo laboratório que irá realizar a análise (Anvisa, 2022). Para Colet et al (2020), O Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (APHA, 2006) foi utilizado para determinar as normas de coleta e armazenamento da sua pesquisa, onde mostra a análise da água de 40 poços, em que foram utilizados frascos estéreis de polipropileno dispostos em caixas isotérmicas com gelo para a análise ser feita posteriormente. Ainda para Colet et al (2020), Como uma medida preventiva de contaminações dos canos, as torneiras próximas aos poços foram esterilizadas com álcool 70% e abertas por 3 minutos.

A forma de coleta da água utilizada por Ferreira et al (2017), desempenha-se a lograr do livro “métodos laboratoriais de análises físico-químicas e microbiológicas” por Macedo (2003), operando recipientes acondicionados em caixas térmicas e esterilizados. As coletas foram feitas mensalmente de forma triplicata, sendo analisadas 24 horas após a coleta em quatro pontos da comunidade morro redondo, fazendo-se a coleta da água proveniente de três minas e dois rios.

A técnica de esterilização em autoclave é um processo de vapor saturado sob pressão, onde destroi os microrganismos através da temperatura, tempo, pressão e umidade favorecendo a desnaturação das proteínas de sua estrutura genética e a termocoagulação (TIPPLE et al, 2010). Através dessa técnica, Silveira et al (2017) diz que fez com que não houvesse interferência externa de outros microrganismos, além das que estavam presentes na água em sua pesquisa de coleta no Rio Bacacheri. Sua pesquisa ainda fala que 5 frascos de polipropileno estéril de 500 ml foram utilizados para cada uma de suas amostras, obtidas através da contra corrente do rio.

Para Siqueira et al (2008), adição de 0,1 mL de tiosulfato de sódio(Na₂S₂O₃) a 10% para cada 100 ml de água coletada aos frascos da coleta, que anteriormente foram lavados e secos, teve como objetivo impedir a ação do cloro residual das unidades de cisternas e caixas-d’água no entorno da Universidade federal de pernambuco(UFPE) e a Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). Posteriormente, esses mesmos frascos foram esterilizados a 121° por 21 minutos. A pesquisa também fala sobre a assepsia das torneiras feitas através de álcool iodado 2% e pulverização das torneiras por dentro e por fora durante alguns minutos.

Através da análise da coleta feita em onze artigos brasileiros sobre a análise microbiológica da água mineral em diferentes vertentes, vimos que 5 dos onze artigos tiveram suas amostras armazenadas e esterilizadas por meio do álcool 70% (Moreno et al, 2018; Colet et al, 2020; Reis et al, 2014; Mendonça et al, 2017, Lima et al, 2013) dois através do método de autoclave (Silveira et al, 2017; Siqueira et al, 2008), onde um deles também fez o uso do tiosulfato de sódio (Siqueira et al, 2008), três através de uma esterilização não especificada nos artigos (Filho, Dias, 2014; Cunha et al, 2012; Pedrosa et al, 2014) e uma através da técnica de recipientes acondicionados em caixas térmicas e esterilizados, demonstrado no livro publicado por macedo (2003) “métodos laboratoriais de análises físico-químicas e microbiológicas” (Ferreira et al, 2017).

Técnicas de análise

Atualmente com a variedade de técnicas de análise disponíveis, cada uma com suas especificidades e usos, é possível ajustar as análises de acordo com as demandas de cada circunstância. A combinação das técnicas mais convencionais, como Tubos Múltiplos e a Membrana Filtrante, com métodos contemporâneos, como os substratos cromogênicos, permite uma análise completa da qualidade da água. Isso é fundamental para garantir a qualidade e a segurança da água potável (FUNASA, 2013).

Este processo começa com o uso de caldos adequados para cada estudo, como no caso da *P. aeruginosa*, onde foram empregados os caldos Asparagina e Acetamida para as fases presuntiva e confirmatória, respectivamente, incubados a 35-37°C por um intervalo de tempo que varia de 24 a 48 horas (Mendonça et al., 2017; Filho, Dias, 2008). Durante a incubação de coliformes no Caldo PA triplo para a fase presuntiva, eles fermentam a lactose existente no ambiente, gerando ácidos e gases que são visíveis pelas alterações na coloração e pelo surgimento de bolhas nos tubos (Siqueira et al., 2010). Para a confirmação da presença de coliformes, utiliza-se o meio Verde Brilhante, com incubação de 24 a 48 horas, mantendo a temperatura entre 35°C e 44,5°C. (Siqueira et al., 2010; Mendonça et al., 2017).

A técnica estatística conhecida como Número Mais Provável (NMP) possibilita a avaliação de amostras em larga escala, calculando a quantidade de microrganismos presentes. Isso é realizado através da diluição da amostra em tubos de ensaio, reduzindo assim o número de amostras a serem analisadas (FUNASA, 2013). A detecção da presença de coliformes é feita através do número de meios que apresentarem crescimento, para confirmar a presença de *E. coli*, amostras positivas são transferidas para meios de cultura, como o ágar Eosina Azul de Metileno, onde colônias específicas são reconhecidas por suas características morfológicas (Rocha et al., 2010). Conforme demonstrado por Filho e Dias (2008), o método NMP pode ser combinado com a técnica de múltiplos tubos para obter resultados mais eficazes.

A utilização de Filtração por Membrana é um procedimento eficaz e ágil para a identificação de microrganismos, tais como coliformes totais e fecais (Silveira et al., 2018). Este procedimento consiste em filtrar uma amostra de água com uma membrana que retém os micro-organismos, depois de filtrada, a membrana é inserida em um meio de cultura adequado e incubada a uma temperatura específica, normalmente 35°C, por um período que oscila entre 24 e 48 horas, isso possibilita a contagem e identificação das colônias que se formaram na membrana, possibilitando a estimativa do número de microrganismos presentes na amostra (Silveira et al., 2018; FUNASA, 2013).

Em diversas pesquisas, como as realizadas por Cunha et al. (2012) e Reis et al. (2014), A aplicação de substratos cromogênicos tem se mostrado uma ferramenta eficaz e precisa na detecção de coliformes totais e *E. coli*, além disso a utilização de substratos cromogênicos é notável pela sua facilidade de manuseio, rápida resposta e ausência de testes confirmatórios, evidenciando sua boa relação custo-benefício (FUNASA, 2013).

A utilização de substratos cromogênicos, como os fabricados pela Colilert, possibilita que, ao serem metabolizados pelas enzimas específicas de *E. coli* e coliformes, haja uma alteração de cor no ambiente, facilmente perceptível sob a fluorescência da luz UV (Reis et al., 2014). A amostra é incubada a 35-37°C durante 24 horas, e a leitura é feita observando a cor do tubo após esse intervalo e a fluorescência. Isso dispensa a realização de testes confirmatórios e diminui consideravelmente o tempo de análise (Filho e Dias, 2008).

Ao analisar estudos que avaliaram o perfil de qualidade microbiológico de amostras de reservatórios de água variados, residências e em meios de transporte e distribuição de água mineral pelo Brasil, podemos traçar um perfil da quantidade geral de amostras contaminadas, os parâmetros de não potabilidade mais incidentes e encontrar um padrão médio de segurança da água mineral no país.

Pesquisas feitas no Brasil

Oliveira et al., (2020) realizaram uma pesquisa onde utilizaram a Portaria do Ministério da Saúde Nº 2.914, de dezembro de 2011 como um meio para delimitar padrões de qualidade que estipula a ausência ou a presença de *E. coli*, Coliformes Totais em 100ml de amostra e quantidade limite de unidades formadoras de colônia por ml de Bactérias heterotróficas (BRASIL, 2011), como parâmetro para suas análises e citaram a portaria Nº 518, de 25 de março de 2004 (BRASIL, 2004) que foi revogada pela portaria anteriormente citada mas aplicava os mesmos limites microbiológicos para as amostras. O padrão utilizado de acordo com a portaria foi que não poderia existir *E. coli* ou coliformes totais em volumes amostrais de 100ml para análises microbiológicas e uma eventual concentração de bactérias heterotróficas, não poderia exceder o limite de 500 UFC/ml estabelecido na legislação. Analisaram microbiologicamente a água de 10 residências, uma cachoeira e um reservatório em Santana do Riacho no estado de Minas Gerais. Do total das residências analisadas, somente 3 locais adequavam-se à legislação vigente sobre controle de qualidade, fazendo com que a totalidade das 12 amostras coletadas, 75% delas não estavam aptas para o consumo humano.

Rocha et al., (2010) realizaram uma pesquisa onde utilizaram a portaria Nº 518, de 25 de março de 2004 como parâmetro de suas análises e utilizaram métodos recomendados pela Associação Americana de Saúde Pública - *American Public Health Association* (APHA). O padrão utilizado de acordo com a portaria foi que não poderia existir *E. coli*, coliformes totais em 100ml de amostra, utilizaram a técnica de Número Mais Provável (NMP) para quantificar resultados positivos de microrganismos e também utilizaram a pesquisa de identificação de *E. coli* feita por Vanderzant e Splittstoesser (1992). Estudaram e catalogaram um total de 80 amostras que tiveram como origem um grupo de 36 escolas que foram analisadas pelo grupo de pesquisa na cidade de Teixeira de Freitas no estado da Bahia, 27 escolas estavam com amostras de água adequadas para o consumo e 25 % das escolas estavam em desacordo com os parâmetros microbiológicos (9 escolas).

Moreno et al., (2018) realizaram uma pesquisa que foi utilizada a Resolução da ANVISA RDC Nº 275 de 22 de setembro de 2005 como forma de embasamento legislativo para a estipulação padrões de qualidade que quantificasse o limite de concentração ou ausência de coliformes termotolerantes, coliformes totais, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus* e *Clostridium perfringens* (BRASIL, 2005), junto com a Portaria Nº 518 de 25 de março de 2004 para delimitar a quantidade de bactérias heterotróficas na pesquisa (BRASIL, 2004), métodos fundamentados da APHA, (1998) e técnicas referenciadas em pesquisas de Silva et al., (2005) para estabelecer os parâmetros dos resultados e métodos analíticos. Analisaram microbiologicamente 4 marcas distintas de água mineral natural armazenadas em recipientes de 20 litros que eram comercializadas em Goiânia no estado de Goiás. Durante quatro semanas, coletaram uma amostra de cada novo lote semanal das marcas de água. Todas as amostras estavam com qualidade 100% compatível com a (RDC Nº 275/2005), contudo, uma das amostras apresentou resultados pouco acima do limite para bactérias heterotróficas, em relação a Portaria nº 518, que foram normalizados logo após a primeira semana e apresentou níveis decrescentes ao longo das 4 semanas.

Ritter e Tondo, (2009) realizaram uma pesquisa onde utilizaram a Resolução da ANVISA RDC nº 173 de 2006 e a Portaria Nº 222 de 28 de julho de 1997 como embasamento legislativo para a averiguação da adequabilidade sanitária dos locais estipulados para realização das coletas de amostragem de água e a Resolução da ANVISA RDC Nº 275 de 22 de setembro de 2005 como base de orientação legislativa para estabelecer uma avaliação de adequação das amostras obtidas. Analisaram microbiologicamente 152 amostras de 100ml de um poço de

água mineral utilizado por uma indústria para a distribuição de água envasada na Cidade de Novo Hamburgo no estado do Rio Grande do Sul e 15 amostras do produto final dessa indústria, garrafões de 20L por 5 dias. Todas as amostras estavam 100% compatíveis com a qualidade estipulada pela (RDC 275/2005). Apesar dos resultados satisfatórios, a contagem de bactérias heterotróficas nos primeiros dias de análise foi maior que a valores estipulados pela (Portaria 518/2004), contudo, esses números reduziram significativamente ao decorrer dos dias após as higienizações dos tanques de armazenamento (RITTER, TONDO, 2009).

Da Silva et al., (2023) fizeram um estudo onde utilizaram as Normas Técnicas L5 201, de janeiro de 2006 e L5 202, de janeiro de 2018 da Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental de São Paulo (CETESB) para delimitação da quantidade ou ausência na avaliação e métodos para análise microbiológica das amostras, juntamente com Portaria de Consolidação N° 05 DE 2017 do Ministério da Saúde (SILVA et al., 2023; CETESB, 2006; CETESB, 2018; BRASIL, 2017). Analisaram cisternas de 5 escolas públicas na cidade de Esperança no estado da Paraíba. Das 5 amostras estudadas, 0% estavam em conformidade com a Portaria de Consolidação N° 5/2017 do Ministério da saúde por todas apresentarem quantidades de coliformes totais e termotolerantes em 100ml das amostras, tornando-as impróprias para o consumo da população (SILVA et al., 2023). Em conjunto com esses resultados obtidos, os níveis de presença de bactérias heterotróficas atingiram concentração superior ao limite de 500 UFC/ml em um montante de 4 das 5 amostras totais analisadas.

Mouchrek e Carvalho, (2016) realizaram um estudo com base na Portaria do Ministério da Saúde N° 2914/2011 como base para os resultados apresentados (BRASIL, 2011) e de acordo com métodos de APHA, (2012) como métodos para estabelecer limites de controle de qualidade e técnicas de análises das amostras. Foram analisados 8 de 9 estabelecimentos alimentícios em um bairro de São Luís no estado do Maranhão. Dos 8 estabelecimentos, 75% apresentaram padrões de qualidade satisfatórios em relação a Portaria do Ministério da Saúde e, correlativamente, a outra fração de 25% dos estabelecimentos averiguados, estabeleceram dados indicativos de uma concentração de bactérias heterotróficas acima do limite de 500 UFC/ml e presença de coliformes totais nas análises amostrais realizadas.

Farache Filho e Dias, (2009) elaboraram uma pesquisa com base metodológica na (RDC N°275/2005), (PORTARIA N°518/2004) e na (APHA, 1998) para a análise das amostras e catalogação dos dados obtidos. A pesquisa foi realizada em 21 marcas de garrafões de 20 litros de água mineral onde são distribuídas por vários pontos de vendas nas cidades de Araraquara e Américo Brasiliense na Região Sudeste no estado brasileiro de São Paulo. Ao total foram coletadas 84 amostras originadas das 21 marcas, posteriormente aos garrafões serem devidamente higienizados e com as devidas precauções para evitar contaminação externa das amostras. Das 84 amostras e 21 marcas, somente 47% das marcas apresentaram critérios dentro do padrão estabelecido pela metodologia da pesquisa.

Yamaguchi et al., (2013) realizaram uma pesquisa em uma instituição de ensino na cidade de Maringá no estado do Paraná onde foram obtidas 50 amostras de água, sendo dessas amostras 37 originárias de bebedouros com água tratada na própria instituição onde foi realizada a pesquisa e 13 originadas de bebedouros que possuem abastecimento de água mineral natural envasada por uma empresa terceirizada de engarrafamento. As amostras foram coletadas em recipientes plástico estéreis com 0,2ml de 10% de tiossulfato de sódio visando eliminar interferência de resíduos de cloro, para a análise de coliformes totais foi utilizada a técnica de Número Mais Provável (NMP), para coliformes termotolerantes foi utilizado a técnica de tubos múltiplos, juntamente com mais técnicas e métodos de confirmação descritos em (YAMAGUCHI et al., 2013). Da amostragem realizada nos modelos de bebedouros que tinham como fonte de seu abastecimento águas envasadas, foram obtidas 13 amostras que resultaram no indicativo de presença de coliformes totais em 15,38% dessa amostragem e em relação aos bebedouros que possuíam como fonte de abastecimento a água que era tratada no próprio local,

originaram-se 37 amostras que apresentaram dados indicativos de ausência de coliformes totais na averiguação realizada. O estudo não realizou método de contagem de bactérias heterotróficas para estudo das amostras coletadas.

Com base em dados apontados em 12 artigos sobre análise de água mineral que estudaram diferentes fontes e armazenamentos tanto de água mineral natural quanto água mineral destinada para o consumo humano, foram contabilizadas um total de 463 amostras de água (Figura 1). Essas amostras foram realizadas tanto em duplicata e triplicata quanto de forma unitária nos locais coletados. Do total de amostras catalogadas 323 apresentaram conformidade com a legislação existente na época do estudo e 140 não estavam em conformidade com a respectiva legislação da época de cada estudo. Os dados apresentados foram fornecidos pelos artigos de Siqueira et al., 2008; Colet et al., 2020; Mendonça et al., 2017; Lima et al., 2013; Cunha et al., 2021; Pedrosa et al., 2014; Rocha et al., 2010; Oliveira et al., 2020; Moreno et al., 2018; Silva et al., 2023; Mouchrek et al., 2016; Yamaguchi et al., 2013.

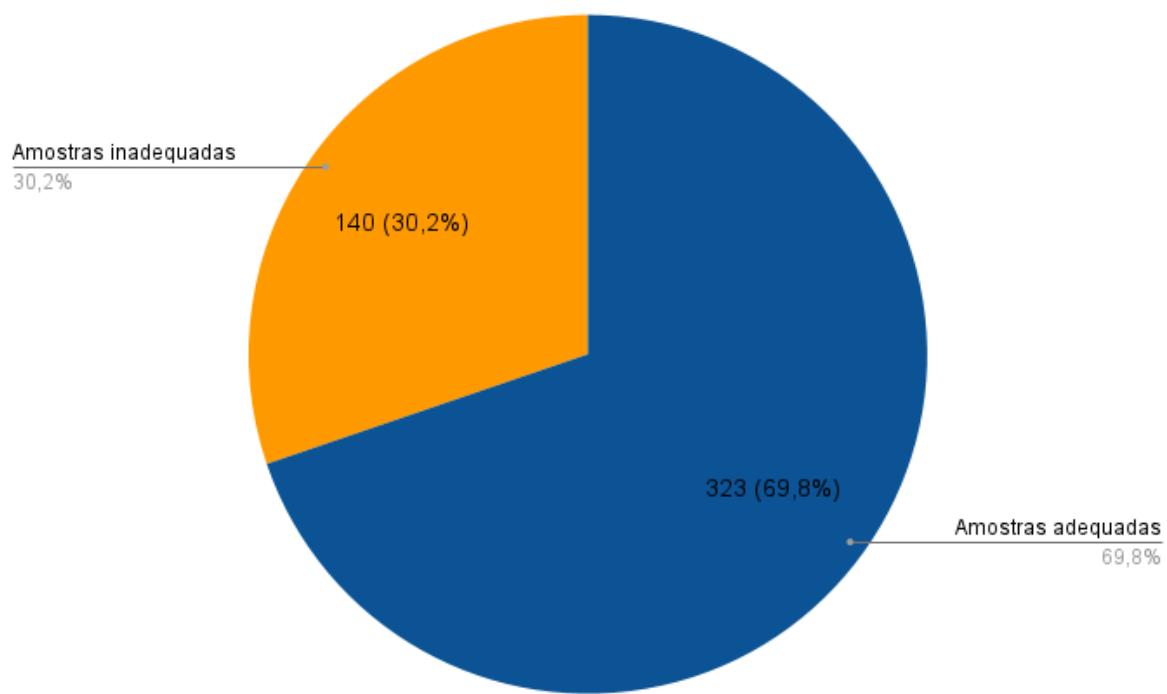


FIGURA 1: Estudo de incidência de amostras contaminadas em 12 artigos de pesquisas feitas no Brasil

CONCLUSÃO

Foi constatado um grande respaldo legislativo e normativo por parte do governo brasileiro em relação à qualidade microbiológica da água mineral e para água ao consumo humano por parte de decisões colegiadas e portarias que foram se complementando e atualizando conforme os anos e novos estudos científicos. Em conjunto, alguns pesquisadores também buscam metodologias e técnicas internacionais para melhor eficiência da geração de dados analíticos em busca de um resultado mais próximo da realidade. Foi observado um escopo de técnicas e análise de amostra de água bem estabelecido por anos e o surgimento de técnicas mais inovadoras para determinadas análises.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA). **Standard methods for the examination of water and wastewater.** 20 th ed. Washington, DC, 1998. p.9-140.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA). **Standard methods for the examination of water and wastewater.** 18th ed. Washington, DC, 1992.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA). **Standard methods for the examination of water and wastewater.** 22. ed. Washington: APHA; 2012.

ANVISA, **Coleta, acondicionamento, transporte, recepção e destinação de amostras para análises laboratoriais no âmbito do SNVS**, Guia no 19/2019 – versão 3, de 06/01/2022.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA). **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. Microbiological examination (9060 SAMPLES).** Washington, D.C.: American Public Health Association (APHA), 2006. Disponível em: <https://www.standardmethods.org/doi/full/10.2105/SMWW.2882.184>.

ALVES-MAZZOTTI, A. J. A; “revisão bibliográfica” em teses e dissertações: meus tipos inesquecíveis – o retorno. In: BIANCHETTI, L.; MACHADO, A. M. N. (Org.). **A bússola do escrever: desafios e estratégias na orientação de teses e dissertações.** São Paulo: Cortez, 2002. p. 25-44

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. Portaria no 518 de 25 de março de 2004. Diário Oficial da União 2004; 26 mar.

BRASIL. 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 República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 23 set. 2005, Seção 1. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>>.

BRASIL. Portaria no 2.914, de 12 de dezembro de 2011. Dispõe sobre os **procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade.** Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2011/prt2914_12_12_2011.html>.

BRASIL. Ministério das Minas e Energia. **Departamento Nacional de Produção Mineral.** Portaria no 222, de 28 de julho de 1997. Aprova o regulamento técnico no 001/97, que dispõe sobre as especificações técnicas para o aproveitamento das águas minerais e potáveis de mesa. Disponível em: <http://www.dnpm.gov.br/conteudo.asp?IDSecao=67&IDPagina=84&IDLegislacao=107>.

BRASIL; Ministério da saúde. **Portaria de Consolidação nº 5 (PRC-5)-Anexo XX,** de 28 de setembro (2017).

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC no 173, de 13 de setembro de 2006. Dispõe sobre o **regulamento técnico de boas práticas para industrialização e comercialização de água mineral natural e de água natural e a lista de verificação das boas práticas para industrialização e comercialização de água mineral**

natural e de água natural. Disponível em: <http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=23915&word=>.

COLET, C.; PIEPER, M.; KAUFMANN, J. V.; SHWAMBCH, K.; PLETSCH, M. **Qualidade microbiológica e perfil de sensibilidade a antimicrobianos em águas de poços artesianos em um município do noroeste do Rio Grande do Sul.** Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental, v.26 n.4, jul/ago 2021, 683-6902020.

COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL DE SÃO PAULO (CETESB). 2006. Norma técnica L5 201, de janeiro de 2006. **Contagem de bactérias heterotróficas: método de ensaio.** São Paulo: CETESB. 14 p. 2006.

COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL DE SÃO PAULO (CETESB). 2018. Norma técnica L5 202, de janeiro de 2018. **Coliformes totais, coliformes termotolerantes e Escherichia coli - Determinação.**

CUNHA, H. F. A.; LIMA, D. C. I.; BRITO, P. N. de F.; CUNHA, A. C. da. ; SILVEIRA JUNIOR, A. M. da.; BRITO, D. C. **Qualidade físico-química e microbiológica de água mineral e padrões da legislação.** Ambiente e Água - An Interdisciplinary Journal of Applied Science, v. 7, n. 3, p. 155–165, 2012.

DIAS, M. F. F.; FARACHE FILHO, A. **Qualidade microbiológica de águas minerais em garrafas individuais comercializadas em Araraquara.** 2007.

FARACHE FILHO, A.; & DIAS, M. F. F. **Qualidade microbiológica de águas minerais em galões de 20 litros.** Alimentos e Nutrição Araraquara, v. 19, n. 3, p. 243-248, 2008.

FARACHE FILHO, A.; DIAS, M. F. F.; TAROMARU, P. H.; CERQUEIRA, C. de S.; DUQUE, J. G. **Qualidade microbiológica de águas minerais não carbonatadas em embalagens de 1,5 litros, comercializadas em Araraquara-SP.** Alimentação e Nutrição, v. 19, n. 4, p. 421-425, 2008.

FERREIRA, F. DA S.; QUEIROZ, T. M. DE .; SILVA, T. V. DA .; ANDRADE, A. C. DE O. **À margem do rio e da sociedade: a qualidade da água em uma comunidade quilombola no estado de Mato Grosso.** 2017. *Saúde E Sociedade*, 26(3), 822–828. <https://doi.org/10.1590/S0104-12902017166542>

FREIRE, R. C.; LIMA, R, A. **Bactérias heterotróficas na rede de distribuição de água potável no município de Olinda-PE e sua importância para a saúde pública.** J Manag Prim Health Care 2012 Out 12; 3(2): 91-95

FUNASA -FUNDAÇÃO NACIONAL DA SAÚDE. **Manual prático de análise de água.** Brasília, [2006].

FUNASA. **Manual prático de análise de água.** 4. ed. Brasília, 2013. Disponível em: https://www.funasa.gov.br/site/wp-content/files_mf/manual_pratico_de_analise_de_agua_2.pdf.

GUILHERME, E. F. M.; SILVA, J. A. M. D.; OTTO, S. S. (2000). **Pseudomonas aeruginosa, como indicador de contaminação hídrica.** *Hig. aliment*, 43-7.

KONEMAN, E. W.; ALLEN, S. D.; JANDA, W. M.; SCHRECKENBERGER, P. C.; WINN, W. C. *Diagnóstico Microbiológico: Texto e Atlas Colorido de Koneman*. 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2018.

MASSAGO, M. ; MACHADO, R. ; CONEGERO, C. I. **Perfil das bactérias patogênicas nas águas minerais comercializadas no Brasil: um panorama de 2010 a 2019**. Revista Brasileira de Pesquisa em Saúde/Brazilian Journal of Health Research, v. 23, n. 3, p. 81-89, 2021.

MENDONÇA, M. H. M.; ROSENO, S. A. M.; CACHOEIRA, T. R. L.; SILVA, Á. F. S.; JÁCOME, P. R. L. de A.; JUNIOR, A. T. J. **Análise bacteriológica da água de consumo comercializada por caminhões-pipa**. 2017. *Revista Ambiente & Água*, 12(3), 468-475.

MACÊDO, J. A. B. **Métodos laboratoriais de análises físico-químicas e microbiológicas**. 2. ed. Belo Horizonte: CRQ/MG, 2003.

MCFETERS, G. A.; BISSONNETTE, G. K.; JEZESKI, J. J.; THOMSON, C. A.; STUART, D. G. **Comparative survival of indicator bacteria and enteric pathogens in well water**. *Applied microbiology*, v. 27, n. 5, p. 823-829, 1974.M

MORENO, R. T. C.; DE LIMA PÁDUA, D. R.; MIRANDA, B. M.; CALIARI, M.; JÚNIOR, M. S. S.; OLIVEIRA, A. R. **Análise microbiológica de água mineral natural de diferentes marcas comercializadas na cidade de goiânia, goiás**. In: VI SIMPÓSIO DE ENGENHARIA E CIÊNCIA DE ALIMENTOS, 2018, São José do Rio Preto. Anais eletrônicos..., Campinas, Galoá, 2018. Disponível em: <https://proceedings.science/seca/seca-2018/trabalhos/analise-microbiologica-de-agua-mineral-natural-de-diferentes-marcas-comercializa?lang=pt-br>.

MOUCHREK, A. N.; CARVALHO, E. C. C. de. **Qualidade da água em serviços de alimentação de um bairro da zona rural de São Luís, Maranhão, Brasil**. Revista Brasileira de Pesquisa em Saúde/Brazilian Journal of Health Research, 18(3), 130-136, 2016.

NACHTIGALL, G; JESUS, A. G.; ZVOBODA, D. de A.; SANTESTEVAN, N. A.; MINOTTO, E.; MOURA, T. M. de; D'AZEVEDO, P.; FRAZZON, J.; VAN DER SAND, S.; FRAZZON, A. P. G. **Diversidade e perfil de susceptibilidade antimicrobiana de *Enterococcus* sp. isolados das águas do Arroio Dilúvio-Porto Alegre, RS, Brasil**. Revista Brasileira de Biociências, v. 11, n. 2, 2013.

OLIVEIRA, R. P. B. de.; SIQUEIRA, A. A.; NUNES, A. L. V. F.; MONÇÃO, K. C. R.; GONÇALVES, L. de L. D.; CHAVES, S. R.; GREGÓRIO, E. L.; DO AMARAL, D. A. **Análise Microbiológica da Água para Consumo Humano em uma Comunidade do Município de Santana do Riacho – MG**. Brazilian Journal of Development, [S. l.], v. 6, n. 4, p. 18552–18563, 2020. DOI: 10.34117/bjdv6n4-140. Disponível em: <https://ojs.brazilianjournals.com.br/ojs/index.php/BRJD/article/view/8647>.

PEDROSA, A. P.; BRANDÃO, M. L. L.; MEDEIROS, V. DE M.; ROSAS, C. DE O., BRICIO, S. M. L.; & ALMEIDA, A. E. C. C. **Pesquisa de fatores de virulência em *Pseudomonas aeruginosa* isoladas de águas minerais naturais**. *Revista Ambiente & Água*, 9(2), 313–324, 2014. <https://doi.org/10.4136/ambi-agua.1359>

QUATRIN, P. M.; COMIM, V. M.; LOPES, L. Q. S.; GUNDEL, A.; VAUCHER, R. de A.; SANTOS, R. C. V. **Avaliação de diferentes substratos para a formação de biofilmes in vitro de *Pseudomonas aeruginosa*.** 2015. *Disciplinarum Scientia| Saúde*, 16(2), 191-203.

RATTI, B. A.; BRUSTOLIN, C. F.; SIQUEIRA, T. A.; TORQUATO, A. S. **Pesquisa de coliformes totais e fecais em amostras de água coletadas no bairro Zona Sete, na cidade de Maringá-PR.** 2011. *Anais EletrônicoVII*.

REIS, L. R.; BEVILACQUA, P. D.; CARMO, R. F. **Água envasada: qualidade microbiológica e percepção dos consumidores no município de Viçosa (MG).** Cadernos saúde coletiva, v. 22, n. 3, p. 224–232, 2014.

RITTER, A. C.; TONDO, E. C. **Avaliação microbiológica de água mineral natural e de tampas plásticas utilizadas em uma indústria da grande Porto Alegre/RS.** Alimentos e Nutrição Araraquara, v. 20, n. 2, p. 203-208, 2009.

ROCHA, E. S.; ROSICO, F. S.; SILVA, F. L.; DA LUZ, T. C. S.; FORTUNA, J. L. **Análise microbiológica da água de cozinhas e/ou cantinas das instituições de ensino do município de Teixeira de Freitas (BA).** Revista Baiana de Saúde Pública, v. 34, n. 3, p. 694-694, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.22278/2318-2660.2010.v34.n3.a66>.

SOUZA, C. O.; MELO, T. R. B.; MELO, C. S. B.; MENEZES, E. M.; CARVALHO, A. C. de.; MONTEIRO, L. C. R. **Escherichia coli enteropatogênica: uma categoria diarréogênica versátil.** Revista Pan-Amazônica de Saúde, v. 7, n. 2, p. 13-13, 2016.

SILVA, A. B.; SILVA, J. da C.; FILHO, E. D. da S.; DE MELO, B. F.; DO NASCIMENTO, R. F. **Monitoramento bacteriológico da água de cisternas nas escolas públicas da cidade de Esperança/pb.** Revista OWL (OWL Journal) - REVISTA INTERDISCIPLINAR DE ENSINO E EDUCAÇÃO, [S. l.], v. 1, n. 3, p. 133–149, 2023. DOI: 10.5281/zenodo.8419622. Disponível em: <https://www.revistaowl.com.br/index.php/owl/article/view/91>.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos.** 2a edição. Ed. Varella. 2005. 317p.

ROCHA, E. S.; ROSICO, F. S.; SILVA, F. L.; LUZ, T. C. S. da.; FORTUNA, J. L. **Análise microbiológica da água de cozinhas e/ou cantinas das instituições de ensino do município de Teixeira de Freitas (BA).** Revista Baiana Saúde Pública, v. 34, n. 3, p. 694, 1970.

SILVEIRA, C. A. da.; CASTRO, F. B. G. de.; GODEFROID, R. S.; SILVA, R. C. da.; SANTOS, V. L. P. dos. **Análise microbiológica da água do Rio Bacacheri, em Curitiba (PR). Engenharia sanitária e ambiental,** v. 23, n. 5, p. 933–938, 2018.

SIQUEIRA, L. P. D.; SHINOHARA, N. K. S.; LIMA, R. M. T. D.; PAIVA, J. D. E. D.; LIMA FILHO, J. L. D.; & CARVALHO, I. T. D. **Avaliação microbiológica da água de consumo empregada em unidades de alimentação.** Ciência & saúde coletiva, v. 15, n. 1, p. 63–66, 2010.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e Água.** 1. ed. São Paulo: Varela, 1997. p. 295.

SILVA JUNIOR, E. A. D. **Manual de controle higiênico-sanitário em alimentos.** 5. ed. São Paulo: Varela, 2002.

SANT'ANA, A. DE S.; SILVA, S. C. F. L.; FARANI, I. O. J.; AMARAL, C. H. R.; MACEDO, V. F. **Qualidade microbiológica de águas minerais.** 2003. *Food Science and Technology*, 23, 190–194.

SIQUEIRA, L. P. de; SHINOHARA, N. K. S. LIMA, R. M. T. de; PAIVA, J. D. E. de; LIMA FILHO, J. L. de; & CARVALHO, I. T. de. **Avaliação microbiológica da água de consumo empregada em unidades de alimentação.** *Ciência & Saúde Coletiva*, 15(1), 63–66, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1413-81232010000100011>

SCHMIDT-LORENZ, W.; & JAEGGI, N. **Colony counts at 42°C the evaluation of hygienic quality of bottled natural uncarbonates mineral water.** *Microbiol. Aliments. Nutr.* v. 1, 377-391. 1983.

SILVEIRA, C. A.; CASTRO, F. B. G.; GODEFROID, R. S.; SILVA, R. C.; SANTOS, V. L. P.; **Analise microbiológica da água do Rio Bacacheri, em Curitiba (PR).** *Engenharia Sanitária e Ambiental*, 23(5), 933–938, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1413-41522018163474>

TIPPLE, A. F. V.; PIRES, F. V.; GUADAGNIN, S. V. T.; MELO D. da S. **O monitoramento de processos físicos de esterilização em hospitais do interior do estado de Goiás.** *Revista Da Escola De Enfermagem Da USP*, 45(3), 751–757, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0080-62342011000300029>

VANDERZANT C. & SPLITTSTOESSER D.F. **Compendium of methods for the microbiological examinations of foods.** 3rd edition. Washington: American Public Health Association (APHA); 1992.

VASCONCELOS, U.; CALAZAND, G. M. T.; ANDRADE, M. A. G.; MEDEIROS, L. V. **Evidência do antagonismo entre *Pseudomonas aeruginosa* e bactérias indicadoras de contaminação fecal em água.** *Revista Higiene Alimentar* 20: 127-131, 2006.

WAGNER, V. E.; BUSHNELL, D.; PASSADOR, L.; BROOKS, A. I.; & IGLEWSKI, B. H. **Microarray Analysis of *Pseudomonas aeruginosa* Quorum-Sensing Regulons: Effects of Growth Phase and Environment.** (2003) *Journal of Bacteriology*, 185(7):. <https://doi.org/10.1128/jb.185.7.2080-2095.2003>

YAMAGUCHI, M. U.; CORTEZ, L. E. R.; OTTONI, L. C. C.; & OYAMA, J. **Qualidade microbiológica da água para consumo humano em instituição de ensino de Maringá-PR.** *O mundo da saúde*, v. 37, n.