

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
EMBRAPA MANDIOCA E FRUTICULTURA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MICROBIOLOGIA
AGRÍCOLA
CURSO DE MESTRADO**

**QUALIDADE DE ÁGUAS DESTINADAS À PRODUÇÃO DE
ALIMENTOS EM UM EMPREENDIMENTO ECONÔMICO SOLIDÁRIO
DO BAIXO SUL DA BAHIA**

EDILEIDE SANTANA DA CRUZ

CRUZ DAS ALMAS - BAHIA

JANEIRO – 2021

**QUALIDADE DE ÁGUAS DESTINADAS À PRODUÇÃO DE
ALIMENTOS EM UM EMPREENDIMENTO ECONÔMICO SOLIDÁRIO
DO BAIXO SUL DA BAHIA**

EDILEIDE SANTANA DA CRUZ

Nutricionista

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, 2018

Dissertação submetida ao Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia e Embrapa Mandioca e Fruticultura, como requisito parcial para obtenção do Grau de Mestre em Microbiologia Agrícola.

Orientadora: Isabella de Matos Mendes da Silva

Co-orientadora: Fernanda de Freitas Virgínio Nunes

CRUZ DAS ALMAS - BAHIA

JANEIRO – 2021

FICHA CATALOGRÁFICA

C957q	<p>Cruz, Edileide Santana da. Qualidade de águas destinadas à produção de alimentos em um Empreendimento Econômico Solidário do Baixo Sul da Bahia / Edileide Santana da Cruz._ Cruz das Almas, Bahia, 2021. 117f.; il.</p> <p>Orientadora: Isabella de Matos Mendes da Silva. Coorientadora: Fernanda de Freitas Virgínio Nunes.</p> <p>Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas, Programa de Pós-graduação em Microbiologia Agrícola.</p> <p>1.Água – Uso – Microorganismos. 2.Água – Bactéria – Controle de qualidade. 3.Economia solidária – Análise. I.Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas. II.Ramos, Andresa Priscila de Souza. III.Título.</p> <p>CDD: 556.5</p>
-------	---

Ficha elaborada pela Biblioteca Central de Cruz das Almas - UFRB.
Responsável pela Elaboração - Antonio Marcos Sarmiento das Chagas (Bibliotecário - CRB5 / 1615).
(os dados para catalogação foram enviados pelo usuário via formulário eletrônico).

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
EMBRAPA MANDIOCA E FRUTICULTURA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MICROBIOLOGIA
AGRÍCOLA
CURSO DE MESTRADO**

**COMISSÃO EXAMINADORA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE
EDILEIDE SANTANA DA CRUZ**

Isabella de Matos Mendes da Silva

Dr.^a Isabella de Matos Mendes da Silva
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia – UFRB
Orientadora

*Ludmilla Santana Soares e Barros
Ludmilla Santana Soares e Barros*

Dr.^a Ludmilla Santana Soares e Barros
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia – UFRB

Hélio Mitoshi Kamida

Dr. Hélio Mitoshi Kamida
Universidade Federal de Feira de Santana – UEFS

“Dissertação homologada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola em _____ conferindo o grau de Mestre em Microbiologia Agrícola em _____.”

À minha mãe, meu pai, meus irmãos, meu “namorado” e especialmente à minha vó,
que na reta final deste meu ciclo desencarnou e me mostrou o quão forte eu sou,
apesar de toda a dor

Dedico.

AGRADECIMENTOS

À Deus, por me manter forte e colocar no meu caminho seres iluminados que me motivaram ao longo dessa jornada.

À minha mãe, Maria Petronília, minha maior incentivadora (mesmo não sabendo o que significa ao certo este título, como ela diz), minha inspiração e a responsável por eu não desistir diante das adversidades.

A meu pai, Verivaldo, que mesmo não demonstrando se mostra orgulhoso a cada conquista minha.

A meus irmãos, Edicarlos e Edielson, por todo o cuidado comigo e por me motivarem a ir sempre além.

A meu “namorado”, Amauri, por me apoiar nos momentos de incertezas e por todos os puxões de orelha para que eu acreditasse mais em mim.

À minha tia Naiara, que também é minha mãe, por sempre ter acreditado em mim, por todo cuidado diário e por todos os conselhos.

À minha tia Ivoneide, pois se ela não tivesse custeado as minhas despesas com a taxa de inscrição e envio da documentação, e mais sem as suas palavras de incentivo e motivação, eu não teria ingressado no mestrado.

À minha madrinha de coração, Irací, que torce por mim, vibra e chora de alegria a cada conquista minha.

Às minhas primas e irmãs de alma, Leidiane e Fabiana, por sempre me lembrarem que eu nunca estou sozinha e nos meus momentos de dúvida e incerteza, me fazem lembrar que eu sou forte e que posso conquistar o que desejar.

Às minhas tias, tios e demais familiares, por todo apoio e incentivo.

Ao meu padrinho, meu exemplo de pai, que apesar de ser meu estresse diário, nunca me abandonou e sempre, sempre que eu preciso é só ligar que ele vai até a mim, não importa onde eu esteja.

Aos meus avós, que mesmo não estando mais entre nós, serão sempre o meu exemplo de força, garra, persistência e fé, especialmente o meu Vô Dedé e a minha Vó Zinha (que partiu meses antes desta conquista), é por vocês que sigo.

Ao grupo de whatsapp Primaiada, composto por meus primos (as) e agregados pelos momentos de distração e risos.

Às minhas tchucas, incubetes, divas da pesquisa, Mille Góes, Gabi Freitas, Fabi, Lari, Mila, Lety, Lua, Jel e Kari, por todas as resenhas, risos, choros, compartilhamento de comidas e conhecimento, pelas companhias nas viagens, parcerias no laboratório e na sala da INCUBA, e principalmente pelas palavras de apoio e incentivo. Obrigada por acreditarem tanto em mim, meninas!

À professora Dr.^a Valéria Camilo, a nutricionista mais nutricionista que eu conheço, exemplo de profissional para mim, por sempre me aconselhar e motivar na busca do melhor para o meu futuro pessoal e profissional.

À professora Dr.^a Fernanda Freitas, minha co-orientadora, exemplo de ser humano e profissional, pelo apoio, motivação e palavras de conforto e incentivo.

À minha eterna orientadora, professora Dr.^a Isabella Matos, um exemplo de ser humano e profissional a ser seguido, a quem eu devo muito, e por quem tenho um carinho e uma admiração imensa, por ter acreditado em mim desde sempre, mesmo quando nem eu acreditava que seria capaz, ela sempre me motivou a ir além. Gratidão!

À minhas tchucas, Eli, Mille Souza, Lari, Jai, Michele, Nataly, Ana, Elaine, Mile Ribeiro, Camila Godinho e tantas outras que me apoiaram durante essa jornada e me puseram de pé quando eu achei que não sabia mais andar.

Ao grupo de whatsapp, Microbiologists, que já teve nomes, como as sobreviventes (risos), composto por mim, Kristy e Jéssica, formamos o trio que está junto desde o início do mestrado e ao longo dele foram a minha base, o meu porto seguro, com quem compartilhei os momentos de angústia e incertezas da vida acadêmica e pessoal, com quem ri, chorei, tomei puxão de orelha, briguei, dividi a comida, compartilhei conhecimentos, comemorei aniversário com uma faca no meio do bolo simbolizando a vela, enfim... foi com elas que vivi cada momento feliz ou triste e a elas serei eternamente grata!

À amiga, presente que a vida me deu durante o mestrado, Adrielle, a pessoa que sem sequer trocar meia dúzia de palavras comigo, me convidou para a formatura dela e desde então tornou-se uma parceiraça, minha confidente.

À Elielva, colega de turma e hoje amiga, que esteve ao meu lado em muitos momentos de dificuldades me apoiando.

Ao meu amigo, Tiago Sampaio, um ser iluminado, que tive a honra de conhecer e dividir momentos que levarei para a vida inteira.

Aos professores do mestrado, que durante a minha caminhada foram essenciais à minha formação.

À Felipe Miranda, por toda a sua colaboração e orientação durante a reta final do meu caminhar.

A todos os motoristas da UFRB/CCS em especial a Beto, por me acompanharem durante as várias viagens, por toda a alegria, contação das histórias mais hilárias e, principalmente, por toda paciência.

A todos os demais profissionais da UFRB/CCS e CCAAB, que direta ou indiretamente contribuíram nesta etapa.

Ao professor Dr.º Ricardo Mendes, por cada conselho, cada palavra de afeto, por todo carinho que sempre teve comigo desde a graduação e por todos os ensinamentos para além da sala de aula.

Ao professor Dr.^o Marcilio Baliza e a técnica Flaviane, pela disponibilidade para me auxiliar nas atividades de laboratório e pelo conhecimento que me foi transmitido.

À INCUBA, onde sempre fui acolhida e que me abriu portas para a vida profissional.

Às cooperadas por sempre me acolherem, pelos abraços, sorrisos, conhecimento e todo carinho comigo e toda equipe.

À professora Dr.^a Tatiana Veloso, pela oportunidade de estar inserida em um projeto tão importante e de grande relevância para a sociedade.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio financeiro, sem o qual eu não teria possibilidade de estudar.

A todos, minha eterna gratidão!

LISTA DE TABELAS

Capítulo 2

Tabela 1. Resultados dos parâmetros físico-químicos e microbiológicos de amostras de água coletadas em Unidades Produtoras de Alimentos de Empreendimento Econômico Solidário do Baixo Sul da Bahia, Brasil, 2019.....76

Tabela 2. Correlação entre os parâmetros físico-químicos e microbiológicos de amostras de água coletadas em Unidades Produtoras de Alimentos de Empreendimento Econômico Solidário do Baixo Sul da Bahia, Brasil, 2019.....81

Capítulo 3

Tabela 1. Sequência dos *primers*, tamanho dos fragmentos amplificados e condições usadas na PCR.....100

Tabela 2. Densidade de coliformes totais e termotolerantes na pré-intervenção e na avaliação da intervenção de amostras de água destinadas à produção de alimentos em um EES do Baixo Sul da Bahia, Brasil, 2019.....102

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AA	Adesão agregativa
<i>aatA</i>	APEC autotransporter
AE	Fixação e apagamento
aEPEC	<i>E. coli</i> enteropatogênica atípica
AF	Agricultura Familiar
<i>aggR</i>	Activator aggregative adherence regulator
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
<i>bfpA</i>	Bundle Forming Pilus (pilus formador de feixe)
BHI	<i>Brain Heart Infusion</i> (Infusão de cérebro e coração)
BPF	Boas Práticas de Fabricação
CE	Condutividade elétrica
CF	Colonização específicos
COMEPS	Complexo Multidisciplinar de Estudos e Pesquisa em Saúde
Covid-19	Coronavírus
CT	Coliformes termotolerantes
Ct	Coliformes totais
DA	Adesão difusa
DAEC	<i>E. coli</i> de adesão difusa
DEC	<i>Escherichia coli</i> diarreiogênica
DNA	Ácido desoxirribonucleico
dNTPs	Desoxirribonucleotídeos Fosfatados
DP	Desvio Padrão
DTA	Doenças Transmitidas por Alimentos
EAEC	<i>E. coli</i> enteroagregativa
EES	Empreendimento Econômico Solidário
EHEC/STEC	<i>E. coli</i> enterohemorrágica (produtora de toxina <i>Shiga</i>)
EIEC	<i>E. coli</i> enteroinvasora
EMB	Eosin Methylene Blue

EPEC	<i>E. coli</i> enteropatogênica
ETA	Estações de Tratamento de Água
ETEC	<i>E. coli</i> enterotoxigênica
ExPEC	<i>E. coli</i> patogênicas extraintestinais
FAO	Food and Agriculture Organization (Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação)
FUNASA	Fundação Nacional de Saúde
Hep-2	Células epiteliais de laringe humana
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
ITU	Infecções do Trato Urinário
LT	Enterotoxinas termolábeis
mL	Mililitro
MS	Ministério da Saúde
NMEC	<i>E. coli</i> associada à meningite neonatal
NMP	Número Mais Provável
OD	Oxigênio dissolvido
OMS	Organização Mundial de Saúde
PAA	Aquisição de Alimentos
<i>pAA</i>	Plasmídeo de aderência agregativa
PCR	Polymerase Chain Reaction (Reação em Cadeia de Polimerase)
pH	Potencial hidrogeniônico
<i>pINV</i>	Plasmídeo de invasão
PNAD	Pesquisa Nacional por Amostra de Domicílios
PNAE	Programas de Alimentação Escolar
PNRS	Política Nacional de Resíduos Sólidos
PNSR	Projeto Nacional de Saneamento Rural
PRC	Portaria de Consolidação
PVC	Policloreto de vinila
RDC	RDC - Resolução da Diretoria Colegiada
RT-PCR	Reverse-transcriptase polymerase chain reaction
SEPEC	<i>E. coli</i> associada à sepse

SHU	Síndrome Urêmica Hemolítica
SINAN	Sistema de Informação de Agravos de Notificação
SNIS	Diagnóstico dos Serviços de Água e Esgoto do Sistema Nacional de Informação sobre Saneamento
SNSA	Secretaria Nacional de Saneamento Ambiental
SODIS	Solar Water Disinfection
ST	Enterotoxinas termoestáveis
<i>stx</i>	Toxina de Shiga
SUS	Sistema Único de Saúde
SVS	Secretaria de Vigilância em Saúde
T	Temperatura
UAN	Unidade de Alimentação e Nutrição
UFC	Unidade Formadora de Colônias
UFRB	Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
UNICEF	Fundo das Nações Unidas para a Infância
UPA	Unidades produtoras de alimentos
UPEC	<i>E. coli</i> uropatogênica
UV	Radiação ultravioleta
VE-DTA	Vigilância Epidemiológica das Doenças Transmitidas por Alimentos
VIGIAGUA	Programa Nacional de Vigilância da Qualidade da Água para Consumo Humano

LISTA DE FIGURAS

Capítulo 2

Figura 1. Condições sanitárias avaliadas em Unidade Produtora de Alimentos de um Empreendimento Econômico Solidário do Baixo Sul da Bahia, Brasil 2019. **A.** Reservatório utilizado em Unidade Produtora de Alimentos; **B.** Águas servidas lançadas diretamente no quintal de uma Unidade Produtora de Alimentos.....70

Figura 2. Instalações da fossa negra e da cisterna em uma Unidade Produtora de Alimentos de um Empreendimento Econômico Solidário do Baixo Sul da Bahia, Brasil, 2019.....71

Figura 3. Resultados microbiológicos e físico-químicos de amostras de água coletadas em Unidades Produtoras de Alimentos de um Empreendimento Econômico Solidário do Baixo Sul da Bahia, Brasil, 2019.....77

Figura 4. Influência da ação antrópica sobre a contaminação das águas superficiais utilizadas em um Empreendimento Econômico Solidário do Baixo Sul da Bahia, Brasil, 2019.....80

Capítulo 3

Figura 1. Fotografia do gel agarose a 2% da PCR para os genes *bfpA* (A) e *stx* (B) das cepas de *Escherichia coli* isoladas de água para consumo humano. **(A)** Tamanho do fragmento 330pb, PM - Peso Molecular 100pb, todas as amostras negativas; **(B)** Tamanho do fragmento 227pb, PM - Peso Molecular 100pb, todas as amostras negativas.....103

ÍNDICE

RESUMO	18
ABSTRACT	19
INTRODUÇÃO	20
CAPÍTULO 1	
Revisão de Literatura: Prospecção de micro-organismos em águas destinadas à produção de alimentos.....	23
Resumo.....	24
Abstract	25
A água e seu uso para a produção de alimentos.....	26
Qualidade da água.....	28
Parâmetros de qualidade da água.....	28
Fontes de contaminação.....	29
Parâmetros microbiológicos.....	29
Contagem de bactérias heterotróficas.....	30
Coliformes totais e termotolerantes.....	30
<i>Escherichia coli</i>	31
Reação em cadeia da polimerase (PCR).....	34
Parâmetros físico-químicos.....	35
Potencial hidrogeniônico (pH).....	35
Oxigênio dissolvido (OD).....	36
Temperatura.....	36
Turbidez.....	37
Condutividade.....	37
Legislação Sanitária.....	38
Alternativas para tratamentos da água.....	41
REFERÊNCIAS	44

CAPITULO 2

Qualidade da água utilizada na produção de alimentos em um Empreendimento Econômico Solidário.....	59
Resumo.....	60
Abstract.....	61
Introdução.....	62
Material e métodos.....	64
Caracterização do estudo.....	64
Coleta e processamento das amostras.....	65
Avaliação dos resultados obtidos.....	65
Aspectos éticas.....	66
Resultados e discussão.....	66
Diagnóstico das condições sanitárias do abastecimento de água das upa.....	66
Análises microbiológicas.....	73
Análise físico-química.....	77
Conclusões.....	82
REFERÊNCIAS.....	83

CAPITULO 3

Qualidade microbiológica e caracterização genotípica de cepas de <i>Escherichia coli</i> isoladas de águas para a produção de alimentos em um Empreendimento Econômico Solidário.....	91
Resumo.....	92
Abstract	94
Introdução.....	95
Material e métodos.....	96
Desenho do estudo.....	96
Coleta, análise microbiológica e isolamento de cepas das amostras de água.....	96
Amostragem e coleta.....	97

Pesquisa, isolamento e identificação de <i>E. Coli</i>	97
Intervenção.....	97
Caracterização genotípica das cepas de <i>Escherichia coli</i> isoladas na pré e pós-intervenção.....	98
Extração de DNA.....	98
Ensaio de PCR.....	99
Tabulação de dados.....	100
Aspectos éticos.....	100
Resultados e discussão.....	100
Conclusão.....	104
REFERÊNCIAS	105
CONSIDERAÇÕES FINAIS	108
Apêndices.....	109

RESUMO

CRUZ, E.S. QUALIDADE DE ÁGUAS DESTINADAS À PRODUÇÃO DE ALIMENTOS EM UM EMPREENDIMENTO ECONÔMICO SOLIDÁRIO DO BAIXO SUL DA BAHIA

Objetivou-se avaliar os parâmetros microbiológicos e físico-químicos e caracterizar genotipicamente os isolados de *Escherichia coli* de amostras de água destinadas à produção de alimentos em um empreendimento econômico solidário da zona rural de um município do Baixo Sul da Bahia, Brasil. O estudo foi realizado em dois momentos nas 15 unidades produtoras de alimentos (UPA), gerenciados por 52 mulheres da agricultura familiar. Inicialmente foi aplicado um *checklist* sobre a água e esgotamento sanitário. No segundo momento foi realizada a coleta, análise microbiológica e físico-química, isolamento e caracterização genotípica dos isolados de *E. coli* das amostras de água. A pesquisa e quantificação de coliformes totais e termotolerantes foi realizada pela Técnica de Fermentação em Tubos Múltiplos, o isolamento de *E. coli* pela técnica de esgotamento por estrias e, a partir das amostras positivas para *E. coli*, colônias foram isoladas e armazenadas em caldo *Brain Heart Infusion* (BHI). Em seguida foi realizada a extração do DNA e a Reação em Cadeia de Polimerase (PCR). A quantificação das bactérias heterotróficas foi feita por meio do método *Petrifilm* AQHC (3M *Company*). Foram realizadas as análises físico-químicas de pH, temperatura, oxigênio dissolvido e condutividade elétrica. Os laudos com os resultados das análises foram elaborados e entregues às responsáveis das UPA durante a atividade educativa. Verificou-se que no primeiro momento do estudo, 80,0% (n=12) das UPA estavam com a água imprópria para o consumo humano, enquanto que, no segundo momento, após a intervenção, a inadequação foi verificada em 33,3% (n=5) das UPA. Não houve amplificação dos genes *stx* e *bfpA* nos isolados de *E. coli*, os quais são característicos de *Escherichia coli* enterohemorrágica (EHEC) e *Escherichia coli* enteropatogênica (EPEC), respectivamente. Sugere-se que a implantação de medidas de controle, como a correta higienização dos reservatórios, por exemplo, é eficaz para melhorar a qualidade da água nestes locais.

Palavras-chaves: Potabilidade; Saneamento; Áreas rurais; Produção Artesanal; Economia solidária.

ABSTRACT

CRUZ, E.S. QUALIDADE DE ÁGUAS DESTINADAS À PRODUÇÃO DE ALIMENTOS DE UM EMPREENDIMENTO ECONÔMICO SOLIDÁRIO DO BAIXO SUL DA BAHIA

The objective of this study was to evaluate the microbiological and physicochemical parameters and to characterize genotypically the isolates of *Escherichia coli* from water samples destined for food production in a solidary economic enterprise in the rural area of a municipality in the Lower South of Bahia, Brazil. The study was carried out in two moments in the 15 food producing units (UPA), managed by 52 women from family farming. Initially, a checklist was applied on water and sewage. In the second moment, the collection, microbiological and physical-chemical analysis, isolation and genotypic characterization of *E. coli* isolates from water samples were performed. The research and quantification of total and thermotolerant coliforms was carried out by the Multiple Tube Fermentation Technique, the isolation of *E. coli* by the streak depletion technique and, from positive samples for *E. coli*, colonies were isolated and stored in broth Brain Heart Infusion (BHI). Then, DNA extraction and Polymerase Chain Reaction (PCR) were performed. The quantification of heterotrophic bacteria was performed using the Petrifilm AQHC method (3M Company). Physical-chemical analyzes of pH, temperature, dissolved oxygen and electrical conductivity were performed. The reports with the results of the analyzes were prepared and delivered to the heads of the UPA during the educational activity. It was found that in the first moment of the study, 80.0% (n = 12) of the PSUs had water that was unfit for human consumption, whereas in the second moment, after the intervention, the inadequacy was verified in 33.3 % (n = 5) of UPA. There was no amplification of the *stx* and *bfpA* genes in *E. coli* isolates, which are characteristic of enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) and enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC), respectively. It is suggested that the implementation of control measures such as the correct cleaning of the reservoirs, for example, are effective in improving water quality in these places.

Keywords: Potability; Sanitation; Rural areas; Artisanal Production; Solidarity economy.

INTRODUÇÃO

O direito humano à água está descrito na Constituição Federal de 1988, no Art. 6º, que versa: “São direitos sociais a educação, a saúde, o trabalho, a moradia, a água, o lazer, a segurança, a previdência, a assistência aos desamparados, na forma desta Constituição” (BRASIL, 1988), logo a oferta deste recurso em quantidade e com qualidade para consumo humano torna-se um direito dos povos e um dever do Estado. Ainda em se tratando de direitos, a UNESCO (2019), aponta a água potável e saneamento seguros como direitos básicos, pois são “indispensáveis para sustentar meios de subsistência saudáveis e fundamentais para manter a dignidade de todos os seres humanos”.

Para Bernardi (2003), mundialmente a oferta de água está intrinsecamente relacionada com a segurança alimentar, com o estilo de vida das populações, com o crescimento agrícola e industrial e com a sustentabilidade ambiental.

Frente ao atual cenário ambiental, um dos temas mais relevantes tem sido a água, seja em relação ao mau uso (desperdício), quanto à poluição desta. Em ambos os casos a escassez seria o fator preponderante, especialmente no que diz respeito à água destinada ao consumo humano, todavia, principalmente no Brasil, estes não são fatores isolados, pois ainda são encontradas inúmeras falhas nos sistemas de esgotamento sanitário, ou mesmo ausência destes, bem como a ausência de abastecimento de água potável, excepcionalmente em áreas rurais. Diante deste quadro, as populações locais buscam vias alternativas, como o uso de fossas rudimentares e o uso de poços rústicos, abertos manualmente, de maneira aleatória, sendo essa água destinada para as mais diversas atividades, como para atender às necessidades gerais (higiene pessoal e ambiental) e consumo direto ou para produção de alimentos (CORDEIRO, 2008).

Brasil (2006) alerta que a água destinada ao consumo humano vem sendo comumente relacionada como um possível veículo de agentes infecciosos e parasitários e, portanto, a água precisa atender aos padrões de potabilidade estabelecidos pela Portaria de Consolidação (PRC) n.º 5/2017 do Ministério da Saúde (MS) e, assim, não oferecer riscos à saúde (BRASIL, 2017).

Fatores como o aumento expressivo das populações, a existência de grupos populacionais vulneráveis, bem como o processo de urbanização descontrolado, que ocasionam na produção desenfreada de alimentos contribuem para a gravidade das Doenças Transmitidas por Alimentos - DTA (BRASIL, 2010). Vale salientar que a água está envolvida em todas as etapas de preparo dos alimentos, como: na limpeza e sanitização de alimentos; na higienização das mãos de manipuladores; na higienização de utensílios e superfícies que entram em contato com os alimentos; e diretamente na cocção dos alimentos (SILVEIRA et al., 2011), logo é imprescindível a garantia de sua qualidade.

Produzir alimentos de maneira segura tornou-se um desafio especialmente para os grupos que atuam na economia solidária e estão inseridos em Empreendimentos Econômicos Solidários (EES). Nestes grupos a produção de alimentos ocorre de maneira artesanal e, portanto, deve-se atentar para a qualidade do que é produzido, pois além de melhorar a sustentabilidade, a produção segura facilita a comercialização desses alimentos no mercado, aumentando a produtividade, e, conseqüentemente, impulsionando o desenvolvimento econômico e a diminuição da pobreza, principalmente em áreas rurais (OPAS, 2019).

Frente à importância da água para as mais diversas atividades cotidianas, dentre elas a produção de alimentos, o presente trabalho teve como objetivo avaliar os parâmetros microbiológicos e físico-químicos e caracterizar genotipicamente os isolados de *Escherichia coli* de amostras de água destinadas à produção de alimentos em um Empreendimento Econômico Solidário (EES) localizado na zona rural de um município do Baixo Sul da Bahia, Brasil. O presente foi organizado em três capítulos contando no primeiro com a revisão de literatura, contextualizando os parâmetros de qualidade da água destinada ao consumo e produção de alimentos; no segundo capítulo, escrito em formato de artigo, consta o diagnóstico higiênico-sanitário da água utilizada para a produção de alimentos nos empreendimentos; e, no terceiro capítulo se encontra a caracterização genotípica de isolados de *E. coli* provenientes das amostras de água contaminadas.

CAPÍTULO 1
Revisão de Literatura: Prospecção de micro-organismos em águas destinadas à produção de alimentos

RESUMO

A água é um bem indispensável à vida, essencial à sobrevivência humana, contudo é preciso que esta seja potável, ou seja, ausente de contaminantes e que não ofereça riscos à saúde, entretanto nos últimos anos, devido a ação antrópica a quantidade e qualidade das águas tem sido um dos principais problemas ambientais e de saúde pública a ser enfrentado pela sociedade. São inúmeros os poluentes encontrados na água, os quais são de características físicas, químicas e biológicas, entretanto, em se tratando da contaminação microbiológica, destacam-se as bactérias de origem entérica, especialmente as do grupo coliformes tendo como principal representante a bactéria *Escherichia coli*, responsável pelo surgimento de inúmeras doenças. Nos pequenos municípios, especialmente no que diz respeito às áreas rurais, a precariedade ou a ausência dos serviços de abastecimento de água e saneamento básico têm sido comumente associadas ao surgimento de DTA. Apesar da existência de uma Portaria que regulamenta os padrões de potabilidade da água e dos programas de vigilância da água do Ministério da Saúde, o abastecimento de água ocorre de maneira irregular ou inexistente nas áreas rurais. Desta forma, a população utiliza poços cavados manualmente como alternativa, muitas vezes próximos de fontes de contaminação, como as fossas rudimentares e, por essa razão, o risco de exposição dessas populações às DTA é grande. É necessário assegurar que a água utilizada não ofereça riscos à saúde e, por isso, é importante a adoção de medidas preventivas e de tratamento adequado, como a preservação das fontes de água e o uso de métodos alternativos de tratamento, que sejam de baixo custo e acessíveis à população, como a filtração.

Palavras-chave: Poluentes da água; DTA; Tratamentos alternativos; Saneamento; Áreas rurais.

ABSTRACT

Water is an indispensable asset for life, essential for human survival, however it must be drinkable, that is, free from contaminants and that does not offer health risks, however in recent years, due to anthropic action, the quantity and quality of water has been one of the main environmental and public health problems to be faced by society. There are countless pollutants found in water, which are of physical, chemical and biological characteristics, however, when it comes to microbiological contamination, bacteria of enteric origin stand out, especially those of the coliform group with the main representative of the bacterium *Escherichia coli*, responsible for the emergence of numerous diseases. In small municipalities, especially with regard to rural areas, the precariousness or lack of water supply and basic sanitation services has been commonly associated with the emergence of FTA. Despite the existence of an Ordinance that regulates the water potability standards and the water surveillance programs of the Ministry of Health, water supply occurs irregularly or does not exist in rural areas. In this way, the population uses wells dug manually as an alternative, often close to sources of contamination, such as rudimentary cesspools and, for this reason, the risk of exposure of these populations to DTA is great. It is necessary to ensure that the water used does not pose any health risks and, therefore, it is important to adopt preventive measures and appropriate treatment, such as the preservation of water sources and the use of alternative methods of treatment, which are of low cost. and accessible to the population, such as filtration.

Keywords: Water pollutants; DTA; Alternative treatments; Sanitation; Rural areas.

1.1 A ÁGUA E SEU USO PARA A PRODUÇÃO DE ALIMENTOS

A água é um constituinte essencial à sobrevivência humana, pois dela dependem muitas reações metabólicas e, em se tratando de quantidade e qualidade, este recurso é fundamental para o desenvolvimento das sociedades e manutenção da vida e, especialmente quanto ao parâmetro qualidade, este recurso torna-se um fator limitante à preservação ambiental e ao crescimento socioeconômico (ABERA et al., 2011; BAKER et al., 2013).

Neste contexto, o relatório “*Progresso na Casa de Água Potável, Saneamento e Higiene 2000 – 2017: Foco especial nas desigualdades*” da Organização Mundial de Saúde (OMS) e Fundo das Nações Unidas para a Infância (UNICEF) (2019), apontou que cerca de 2,2 bilhões de pessoas não têm serviços de água potável gerenciados de forma segura, ou seja, uma em cada três pessoas em todo o mundo não tem acesso à água potável. O relatório ainda indica que, apesar de 1,8 bilhão de pessoas terem acesso a serviços básicos de água potável desde 2000, há grandes desigualdades no que se refere à acessibilidade, disponibilidade e qualidade desses serviços. Estima-se que 144 milhões de pessoas consomem água sem tratamento, e em áreas rurais, oito em cada 10 pessoas não têm acesso a esses serviços (WHO/UNICEF, 2019).

Quanto ao uso da água para as diversas atividades, sabe-se que esta tem maior utilização por domicílios, indústrias, geração de energia e principalmente pela agricultura, por meio da irrigação. Contudo, segundo Barbosa (2014), apesar da água ser um dos principais componentes da alimentação do ser humano e de estar presente em vários alimentos, esse fato passa despercebido. Infelizmente não nos atentamos e não somos informados (por meio dos rótulos) quanto ao uso invisível da água.

Ressalta-se que a água invisível, também conhecida como água virtual, diz respeito ao uso indireto da água, ou seja, aquela que está embutida intrinsecamente em toda a cadeia de produção, desde a obtenção da matéria-prima até a chegada do produto final na mesa do consumidor (HOEKSTRA; HUNG, 2002).

Para a indústria alimentícia, segundo a Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação (FAO, 2018), há um consumo de água de cerca de

22% distribuído em todo o fluxograma da cadeia de produção, sendo o seu uso largamente utilizado na higienização de ambientes, do pessoal, dos equipamentos e utensílios, dentre outros. A água ainda é utilizada como matéria-prima compondo diversos produtos, auxiliando no cozimento e na formação de gelo (BRASIL, 2007).

Por se tratar de um constituinte essencial na produção de alimentos, a qualidade da água utilizada deve ser avaliada. Assim, dentre as formas de produção e processamento de alimentos, a origem da água e sua qualidade se torna um desafio para os trabalhadores ou produtores autônomos e seus familiares nos modelos adotados pelos EES.

Salienta-se que os EES fazem parte de um movimento surgido no final do século XX em resposta ao desemprego e precarização do trabalho, constituindo-se em uma nova forma de organização socioeconômica fundamentada na cooperação (GUARDABASSIO et al., 2017). Logo se trata de uma forma de trabalho na qual a produção de alimentos, por exemplo, ocorre de maneira artesanal, tendo como unidades de produção as cozinhas de seus domicílios.

Outra grande preocupação é a produção artesanal de alimentos no ambiente rural, uma vez que a maior parte das comunidades rurais brasileiras não são atendidas pelos sistemas públicos de abastecimento, desta forma, necessitam de estratégias alternativas para atender essa qualidade (TUNDISI, 2003; ARAÚJO et al., 2011).

1.2 QUALIDADE DA ÁGUA

Considerando a água um elemento indispensável na produção de alimentos, ressalta-se que há necessidade da garantia da sua qualidade. Gava et al., (2008) cita que os alimentos são contaminados de várias formas ao longo da cadeia de produção, sendo a matéria-prima, ambiente e os manipuladores considerados as principais maneiras, nas quais todas abrangem o uso da água potável.

Para Bacci e Pataca (2015) a água para consumo humano, bem como a usada na produção de alimentos deve ser ausente de alterações físico-químicas ou biológicas, do contrário o seu consumo/uso acarretaria problemas à saúde de indivíduos e coletividades.

Para Libânio (2008) a qualidade microbiológica da água é de extrema importância para o consumo e uso na produção de alimentos, já que vários microorganismos patogênicos, como bactérias, vírus e protozoários, não devem ser encontrados na água subterrânea, senão, torna-se um indicativo de determinada fonte de contaminação que é comumente originada por lixiviação das fossas, dispersão de esgotos no solo e aterros sanitários ou lixões.

Frente aos aspectos citados, vê-se a necessidade de maior atenção quanto ao controle de qualidade da água utilizada para consumo humano e produção de alimentos, pois Galletti et al. (2010) e Brasil (2019) afirmaram que aproximadamente mais de 200 doenças podem ser causadas pela ingestão de alimentos e água contaminados por patógenos e seus agentes químicos ou decorrente de substâncias tóxicas. A maioria das doenças possui veiculação hídrica em países em desenvolvimento, assim a qualidade da água se torna uma questão de saúde pública (ROEWER et al., 2016).

Sousa (2006) salienta que o principal veículo de patógenos capazes de causar infecções gastrointestinais graves ao indivíduo é a água de consumo humano. Do mesmo modo, a ingestão de alimentos contaminados com microorganismos provenientes da água utilizada no preparo destes pode se tornar um problema grave para quem ingere e também para os órgãos de saúde pública devido ao elevado custo com o tratamento das DTA.

As DTA, segundo Brasil (2018) são uma “síndrome geralmente constituída de anorexia, náuseas, vômitos e/ou diarreia, acompanhada ou não de febre, relacionada à ingestão de alimentos ou água contaminados”. Além destes sintomas digestivos, podem ocorrer infecções extra intestinais em diferentes órgãos, como rins, fígado e sistema nervoso central. Os casos de DTA estão relacionados às condições impróprias de saneamento e qualidade da água para consumo humano, práticas inadequadas de higiene pessoal e consumo de alimentos contaminados.

A OMS considera as DTA como um problema de saúde pública global, estimando que estas cheguem a acometer 1 a cada 10 pessoas por ano. Segundo dados da Vigilância Epidemiológica das Doenças Transmitidas por Alimentos (VE-DTA), por meio do Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN), de 2009 a 2018 ocorreram 6.809 surtos, com 634.568 indivíduos expostos, 120.584

doentes e destes apenas 16.632 foram hospitalizados. Dentre os principais locais de incidência das DTA, têm-se as residências com 37,2%, seguidos dos restaurantes/padarias com 16,0% e outras instituições (alojamentos e trabalho) com 11,8%. Quanto aos principais micro-organismos envolvidos nos casos de DTA notificados, 23,4% são *Escherichia coli* e seus patótipos, 11,3% são *Salmonella* spp., 9,4% são *Staphylococcus aureus* e os 6,5% são coliformes (BRASIL, 2019).

1.3 PARÂMETROS DE QUALIDADE DA ÁGUA

1.3.1 Fontes de contaminação

Prospecções de Andrade e Macedo (2008) afirmaram que os contaminantes da água podem ser divididos em cinco grupos: a) os que alteram as características sensoriais, como cor, sabor, odor e turbidez da água; b) os que oferecem riscos à saúde humana, como metais tóxicos, pesticidas, solventes orgânicos e micro-organismos patogênicos; c) os indicadores de depósitos, incrustações e corrosão; d) os indicadores de poluição, como amônia, nitrato e nitrito; e) indicadores de contaminação microbiológica, como mesófilos, coliformes totais e termotolerantes, sendo que este tem *Escherichia coli* como principal representante.

Para Mees et al. (2009) as maiores fontes de contaminação são as agroindústrias, devido às descargas de enormes quantidades de componentes ricos em matéria orgânica, nutrientes, como fósforo e nitrogênio, graxa e óleos provenientes de todas as atividades desenvolvidas nestes locais, além de outros contaminantes como as próprias substâncias utilizadas no tratamento da água que podem formar produtos secundários, o uso de fertilizantes pela agricultura, uso de pesticidas (BRASIL, 2014) e os esgotos, que, para Silva et al. (2014) contém diferentes micro-organismos, como bactérias, vírus e parasitos.

Prospecções de Leite et al. (2018) apontaram que, no que diz respeito à água de consumo humano, a análise mais importante é a microbiológica, uma vez que possibilitam a identificação de micro-organismos entéricos, que sugerem contaminação fecal oriunda do lançamento de excretas lançadas em esgoto sem tratamento.

Os esgotos domésticos e/ou industriais, denominados efluentes, termo utilizado para as águas que perderam suas características naturais, causam

contaminação de águas superficiais, tendo como exemplos, as águas domésticas, excretas dos seres humanos e água dos comércios e indústrias (PEREIRA et al., 2015).

De acordo com o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) em 2013, 63,3% dos domicílios brasileiros eram atendidos por rede coletora, atendimento direto pela rede ou por fossa ligada à rede (IBGE, 2015). Nos municípios localizados nas áreas rurais somente 8% destes eram conectados à rede geral de coleta de esgoto, outros 13% não recebiam nenhum tipo de tratamento e aqueles que faziam uso de fossas sépticas, rudimentares ou outros sistemas eram os 79% restantes, logo este fato favorece o surgimento de sérios problemas de saúde para a população (IBGE, 2014).

Segundo Brasil (2014), diferente dos contaminantes biológicos e físicos, os contaminantes químicos, como os compostos orgânicos, os agrotóxicos e os produtos utilizados na desinfecção das águas, causam problemas à saúde de forma mais lenta, pois há necessidade de um maior tempo de exposição aos contaminantes, com exceção dos metais tóxicos e agentes cancerígenos, que por possuírem efeito cumulativo no organismo, que varia em relação à concentração presente na água, o tempo de exposição e a suscetibilidade de cada indivíduo, podem acometer a saúde dos sujeitos de maneira mais rápida.

1.3.2 PARÂMETROS MICROBIOLÓGICOS

1.3.2.1 Contagem de bactérias heterotróficas

A contagem de bactérias heterotróficas tem por finalidade estimar o número de bactérias totais de uma determinada amostra (LEITE et al., 2003) que podem ou não ser nocivas ao homem e são amplamente utilizadas como indicadores auxiliares de possíveis falhas durante as etapas de tratamento da água, por exemplo, nos processos de desinfecção, filtração, adição de substâncias que auxiliam no tratamento, que em excesso podem ser tóxicos ao consumo e/ou danificar a tubulação, e ainda estes micro-organismos podem causar a formação de biofilmes no sistema de distribuição (FREIRE; LIMA, 2012). Logo, a contagem dessas bactérias fornece informações sobre as condições sanitárias dos sistemas de abastecimento público de água.

Brasil (2005) cita que as bactérias heterotróficas são micro-organismos que necessitam de carbono orgânico como fonte de nutrientes e sua estimativa fornece informações sobre a qualidade microbiológica da água de maneira ampla. Assim, a Portaria de Consolidação (PRC) nº. 5/2017 do Ministério da Saúde, preconiza que as concentrações desta bactéria não ultrapassem 500UFC/mL (2,7 log.UFC/mL) (BRASIL, 2017).

Em estudos realizados por Oliveira et al., (2020), em águas destinadas ao consumo humano de uma Comunidade do Município de Santana do Riacho – MG, 75% das amostras analisadas tiveram resultados superiores ao preconizado na PRC (2017) para as bactérias heterotróficas, sendo estas amostras correspondentes a casas, reservatórios e cachoeira. Em Vitória – ES, ao analisarem as águas utilizadas em quiosques de praias, Norete et al. (2018) observaram que 50% das amostras possuíam contagem superior aos padrões estabelecidos pela PRC (2017), entretanto, por não ser considerado parâmetro de potabilidade, estas águas não foram consideradas impróprias para o consumo humano.

Devido a relevância das bactérias heterotróficas no controle de qualidade da água, a análise destes micro-organismos é necessária, bem como traz um alerta para uma avaliação da PRC vigente, uma vez que apesar da maioria destas bactérias não serem consideradas patogênicas, algumas podem ser patógenos oportunistas (QUEIROZ, 2007), e em elevadas concentrações, representam risco à saúde.

1.3.2.2 Coliformes totais e termotolerantes

Há uma parcela expressiva de micro-organismos que são veiculados pela água e são de origem entérica, podem ser patogênicos e são representados pelo grupo dos coliformes (AMARAL, 2007), são um subgrupo da família Enterobacteriaceae e se dividem em coliformes totais (Ct) e coliformes termotolerantes (CT) (Gurgel et al., 2020).

Os Ct são bactérias gram negativas, não esporuladas, aeróbias ou anaeróbias facultativas, que fermentam lactose e produzem gás a uma temperatura de 35°C em 24 a 48 horas (APHA, 1999). Em um estudo que avaliou o perfil das

águas subterrâneas no sul do Rio Grande do Sul, 100% das amostras apresentaram contagens elevadas de Ct. Seguindo o padrão estabelecido pela PRC do MS, nos sistemas de distribuição é considerada a ausência deste micro-organismo em 100mL de amostra de água (BRASIL, 2017), estes dados evidenciam a contaminação das águas dos poços, e para os autores são influenciados pela ausência de manutenção adequada e periódica dos reservatórios, pela localização inadequada dos poços (próximo à fossas rudimentares) e pela falta de higiene e cuidado com a água antes do consumo (COLVARA et al., 2009).

Os CT, anteriormente denominados de coliformes fecais, limitam-se àquelas bactérias capazes de fermentar a lactose e produzir gás em 24 horas a uma temperatura média entre 44,5 – 45,5°C. Ressalta-se que este grupo recebeu uma nova denominação, pois várias bactérias deste grupo podem não ter origem fecal, como por exemplo, a *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae* e *Citrobacter freundii*, e por isso não podem ser apontados fidedignamente como indicadores de contaminação das águas por fezes. É importante frisar que a *Escherichia coli* é considerada uma das principais bactérias do grupo uma vez que indica contaminação recente de origem fecal (SILVA et al., 2017).

A contaminação de águas, principalmente as destinadas ao consumo humano, por CT tem sido relatada por outros autores no Brasil, tendo como exemplo, o estudo de Nunes et al. (2020) que ao analisarem amostras de água de consumo humano em reservatórios da cidade de Tumiritinga-MG encontraram contagens acima de 1,2 Log. NMP.100mL tanto para Ct quanto CT. Vale salientar que a presença de CT em amostras de água não possui padrão na PRC do MS para a potabilidade da água, mas a sua presença pode indicar provável contaminação da água por *Escherichia coli*.

1.3.2.3 ***Escherichia coli***

Escherichia coli é a principal espécie representante do grupo dos coliformes termotolerantes, tem a capacidade de desenvolver e/ou fermentar a lactose produzindo gás a 44,5 ± 0,2°C em 24 horas. Esta bactéria é considerada um bioindicador de contaminação fecal, por habitar o trato intestinal de seres humanos e animais homeotérmicos e devido ao potencial patogênico de alguns de seus

patotipos (BARBOSA et al., 2009; XAVIER et al., 2014). Apesar de viverem inofensivamente no colón e raramente causarem doenças em indivíduos saudáveis, algumas cepas podem causar doenças intestinais e extraintestinais em indivíduos saudáveis e imunocomprometidos, incluindo infecções do trato urinário (ITU), pneumonia e meningite (ALVES, 2012; GOMES et al., 2016).

Em avaliação realizada em poços rasos de Colinas (RS), 100% das amostras apresentaram Ct e *E. coli*, não atendendo aos padrões de qualidade exigidos pela legislação, que preconiza a ausência de *Escherichia coli* em 100mL de água e os resultados indicam má conservação dos poços (SALING et al., 2017).

Salienta-se que *E. coli* está entre os patógenos mais comuns veiculados pela água. Segundo Sidhu e Toze (2009) seus patotipos são considerados um problema de saúde única em todo o mundo. Segundo Clements (2012) e Gomes et al. (2016) os patotipos de *E. coli* diarreio gênica (DEC) se diferem por mecanismos de patogenicidade (toxinas, adesinas, invasibilidade), pelos mecanismos de virulência e pelos sintomas clínicos e suas consequências. Estes patotipos são classificados como: a) *E. coli* enteropatogênica (EPEC); b) *E. coli* enterohemorrágica (produtora de toxina Shiga) (EHEC/STEC); c) *E. coli* enteroagregativa (EAEC); d) *E. coli* enterotoxigênica (ETEC); e) *E. coli* enteroinvasora (EIEC); f) *E. coli* enteropatogênica atípica (A-EPEC); g) *E. coli* de adesão difusa (DAEC).

E. coli enteropatogênica (EPEC) são cepas com a capacidade de causar diarreia principalmente em crianças. Atuam causando uma alteração no epitélio do intestino conhecida como lesão de fixação e apagamento (AE), onde as microvilosidades do tecido são destruídas, facilitando a aderência da bactéria. As EPEC são incapazes de produzir Shiga e outras toxinas e enterotoxinas termolábeis (LT) ou termoestáveis (ST) (CAMPOS; TRABULSI et al., 2002; BERCHIERI JUNIOR et al., 2009). Outra categoria de EPEC é a *E. coli* enteropatogênica atípica, (A-EPEC) de importância clínica associada à diarreia persistente em crianças (NGUYEN et al., 2006), estas cepas segundo Tennant et al., (2009) e Ingle et al. (2016) possuem diversidade genética e parecem variar em virulência.

O patotipo ETEC é caracterizado pela capacidade de produzir uma ou mais enterotoxinas (termoestáveis (ST), termolábeis (LT)), ou ambas, e os seus subtipos

ST (STa ou STI e Stb ou STII), sendo a STa é o subtipo de importância para humanos (QADRI et al., 2005; TAXT et al., 2010). Esse patótipo de *E. coli* causa frequentemente diarreia em crianças de países em desenvolvimento, assim como em viajantes que passam por essas regiões (QADRI et al. 2005; LANATA et al., 2013). Estas cepas ainda são caracterizadas pela produção de fatores de colonização específicos (CF) que facilitam a ligação destas às células epiteliais (QADRI et al., 2005; MADHAVAN; SALKELLARIS, 2015).

Cepas de *E. coli* enterohemorrágicas (EHEC) estão diretamente relacionadas às DTA, especialmente pelo consumo de carne moída e leite cru. A característica principal destas cepas é a produção de toxinas do tipo *Shiga* codificadas por fagos e demais variantes (MELTON-CELSA et al., 2012). Relaciona-se com episódios de diarreia com complicações como a colite hemorrágica, a diarreia com sangue e a síndrome urêmica hemolítica (SHU), por possuir o sorotipo O157:H7 (MENARD et al., 2004; WALKER et al., 2012).

A EAEC é associada à diarreia em crianças e em adultos viajantes nos países em desenvolvimento (OKEKE; NATARO, 2001; HARRINGTON et al., 2006). O padrão de adesão agregativa (AA) da EAEC foi definido por Nataro et al. (1987), em células epiteliais (HEp-2) em cultura. O autor ainda distinguiu a “adesão difusa”, antes descrita como a adesão verdadeiramente difusa (DA) do padrão de AA. Neste padrão as bactérias são aderentes em um arranjo de tijolos empilhados. Atualmente poucos estudos utilizam o padrão AA para identificar a EAEC, sendo utilizados os genes *pAA*, *aatA* e *aggR* ou o gene *aaiC* (PANCHALINGAM et al., 2012). Assim como a EPEC atípica, as EAEC possuem uma variedade genética diversa, podendo alguns tipos serem mais virulentos que outros e, por isso, a sua virulência não é completamente conhecida (HARRINGTON et al., 2006; BOISEN, et al., 2012; CROXEN et al., 2013; ZHANG et al., 2016). A diarreia causada por EAEC é aquosa, com a presença de muco, com ou sem sangue e dor abdominal, vômitos e febre baixa.

E. coli enteroinvasiva (EIEC) é bioquimicamente, patogenicamente e geneticamente similar a *Shigella* spp, pois ambas causam disenteria bacilar e possuem um plasmídeo determinante para a virulência destes, o *pINV*, que permite

que *Shigella* e EIEC penetrem na célula e atuem em seu interior (MARTEYN et al., 2012).

DAEC causa síndrome de diarreia aquosa em adultos e crianças e é definida por seu padrão de adesão difuso em ensaios com células HEP-2 (NATARO et al., 1998).

Levine et al. (1983) e Sjöling et al. (2015) reforçam a importância da subdivisão da DEC em patótipos, a fim de compreender como essas bactérias atuam no organismo dos indivíduos e causam doenças. Do ponto de vista clínico, o conhecimento destes patótipos orienta os profissionais quanto ao melhor prognóstico e manejo clínico, além de contribuir para a detecção de surtos e controle dessas doenças por parte dos serviços de saúde pública. Sabe-se que estas bactérias adquiriram seus genes de virulência através de transmissão horizontal de outras bactérias e, assim, toda cepa de *E. coli* é composta por um conjunto de genes centrais e acessórios que são transmitidos entre as cepas, o que favorece o surgimento de novos patótipos de DEC (LEIMBACH et al., 2013).

Além dos patótipos de DEC mencionados, comumente estudados devido a sua relevância em relação às doenças que causam no trato gastrointestinal, existem *E. coli* que também se multiplicam em outros órgãos e tecidos e provocam doenças, denominadas *E. coli* patogênicas extraintestinais (ExPEC). Pertencem a este grupo os subtipos conhecidos como *E. coli* uropatogênica (UPEC), *E. coli* associada à meningite neonatal (NMEC) e *E. coli* associada à sepse (SEPEC), que como os próprios subtipos já apontam, são associadas à infecção de feridas, infecção do trato urinário, peritonite, pneumonia, meningite e sepse (PITOUT, 2012 ; LEIMBACH et al., 2013).

1.4 REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE (PCR)

A técnica de PCR foi inventada por Kary Mullis em 1985, invenção que lhe deu o prêmio Nobel em Química do Rei Carl XVI Gustaf da Suécia. Mullis definiu a PCR como sendo um conceito na biologia molecular. A PCR é uma técnica extremamente sensível que permite a amplificação de pequenos fragmentos de DNA e que só foi possível através da descoberta da Taq polimerase obtida de *Thermus aquaticus*, pois estas são resistentes a altas temperaturas, necessárias durante a

amplificação. A técnica é realizada em ciclos que deve ser adequada para cada modelo e combinação de um par de *primer* (fitas de DNA geralmente com 18-22 nucleotídeos). Para a realização da técnica e amplificação bem-sucedida são necessários alguns componentes: o molde de DNA; a DNA polimerase (Taq polimerase); os primers; e os Nucleotídeos (dNTPs ou trifosfatos de desoxinucleotídeo). Embora as técnicas laboratoriais convencionais ainda sejam muito utilizadas no diagnóstico de doenças, a PCR tem sido considerada padrão ouro em diagnóstico molecular para detectar ácidos nucleicos de várias origens, bem como auxiliar no diagnóstico de doenças que estão em estágio inicial, facilitando o correto manejo clínico e tratamento (DEBNATH et al., 2010).

Atualmente, graças a esta técnica, foi possível diagnosticar com precisão a SARS-CoV-2. A técnica empregada considerada padrão-ouro para a identificação do vírus nos pacientes sintomáticos durante a fase aguda da doença, consiste em detectar o ácido nucleico viral, por meio da técnica reverse-transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR) onde é realizada a amplificação de ácidos nucleicos, extraídos de amostras colhidas por meio de suabe nasal e orofaríngeos, por meio de escarro, secreção traqueal e lavagem broncoalveolar em pacientes em estado crítico (WHO, 2019; SBPC, 2020).

1.5 PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS

A avaliação dos parâmetros físico-químicos da água objetiva quantificar e identificar elementos iônicos presentes na água e associar os efeitos de suas propriedades às questões ambientais e, a partir desse conhecimento, torna-se possível responder às questões sanitárias, bem como escolher o melhor procedimento a ser adotado para o tratamento da água (PARRON, 2011).

1.5.1 Potencial hidrogeniônico (pH)

A maioria das reações químicas ocorridas no alimento, desde o processamento até a estocagem, está intimamente relacionada com variações da concentração hidrogeniônica do meio. Assim, a faixa adequada do pH é fator importante durante todas as etapas do processamento do alimento, incluindo a

água. Desta forma, a PRC do MS aponta que seja mantida a faixa de 6,0 a 9,5 nos sistemas de distribuição de água (BRASIL, 2017).

O pH é um indicador de acidez, alcalinidade ou neutralidade da água, sendo decorrente de fatores naturais e antrópicos. É importante ressaltar que essas alterações podem ter origem natural (via dissolução de rochas ou por meio de fotossíntese) ou ainda ter causa antropogênica, por meio da descarga de dejetos domésticos e industriais. A variação do pH aquático se relaciona com a dissolução de rochas, absorção de gases da atmosfera, oxidação da matéria orgânica e fotossíntese. Por exemplo, um meio aquático ácido, ou seja, pH baixo, é causado por fatores, como a presença de CO₂, ácidos minerais e sais hidrolisados, no qual o ácido reage com a água, libera o íon hidrogênio e o meio se torna acidificado (SPERLING, 2014).

1.5.2 Oxigênio dissolvido (OD)

A mensuração do OD é um indicador da concentração de oxigênio molecular dissolvido na água, onde o oxigênio é um gás pouco solúvel em água e sua concentração nesta depende da pressão atmosférica, da temperatura, da salinidade, das atividades biológicas e, de maneira indireta, de interferências antrópicas (por exemplo, lançamento de efluentes nos cursos d'água) (ARAÚJO et al., 2007; BRASIL, 2014).

A avaliação deste parâmetro é mais significativa no que diz respeito a qualidade de um ambiente aquático, tendo como padrão teores mínimos de 2 mg/L a 5 mg/L nestes locais, variando conforme o grau de exigência de cada organismo (BRASIL, 2006). Apesar de indiretamente identificar possível contaminação nas águas, a PRC do MS não determina limite para OD, logo não há padrão para o mesmo na legislação vigente.

1.5.3 Temperatura

A mensuração da temperatura da água é fundamental, pois alterações muito bruscas podem indicar qualidade sanitária ineficiente. Essas alterações podem ser

causadas por fontes naturais (energia solar) e/ou antropogênicas diretamente relacionadas, por exemplo, com a poluição por descargas de despejos industriais, águas de resfriamento de máquinas e lixiviação. A temperatura influencia na velocidade das reações químicas, nas atividades metabólicas dos organismos e na solubilidade de substâncias. De maneira geral, os ambientes aquáticos possuem temperaturas na faixa de 20°C a 30°C no Brasil, enquanto que nas regiões mais frias no inverno baixam para 5°C e 15°C, chegando até o congelamento em alguns casos (BRASIL, 2014). A PRC do MS não determina faixas mínimas e máximas para este parâmetro.

1.5.4 Turbidez

A turbidez também se associa a qualidade da água, pois altos níveis de turbidez estão intensamente relacionadas à existência de matérias orgânicas suspensas na água, que quando agregadas interferem na penetração da luz (APHA, 1995; FERREIRA et al., 2015). Segundo estudos de Brasil (2004) aspectos como o tamanho e a forma das partículas, presença de algas, minerais (zinco, ferro, manganês) e a própria areia podem interferir na coloração e dissipação da luz na água.

A PRC do MS considera o padrão máximo de 5,0 uT para turbidez quando avaliados os sistemas de distribuição de água, não sendo estabelecido padrão para a água de consumo humano (BRASIL, 2017).

1.5.5 Condutividade

A condutividade elétrica da água é a capacidade de transmitir a corrente elétrica em função da presença de substâncias dissolvidas, que se dissociam em ânions e cátions. Quanto maior for a concentração iônica da solução, maior será a ação eletrolítica, logo maior a capacidade em conduzir a corrente elétrica. O parâmetro condutividade elétrica não possui padrão na PRC do MS para água de consumo humano, por outro lado, há uma faixa do teor de condutividade para águas

naturais de 10 a 100 $\mu\text{S}/\text{cm}$ e em ambientes poluídos por esgotos domésticos ou industriais, essa faixa pode chegar a 1.000 $\mu\text{S}/\text{cm}$, segundo Brasil (2006).

2. **LEGISLAÇÃO SANITÁRIA**

É inegável a importância da potabilidade da água, porém é necessário considerar alguns fatores de cada país, como aspectos ambientais, qualidade da água captada, aspectos sociais, culturais, econômicos e tecnológicos para, posteriormente, elaborar e monitorar as normas e padrões de cada local (PINTO, 2006), ou seja, cada país precisa respeitar as suas particularidades, avaliando principalmente o seu perfil epidemiológico e os testes laboratoriais para monitoramento da qualidade da água.

No “Guidelines for Drinking Water Quality” podem ser encontrados os padrões da OMS para elaboração das normas de potabilidade no Brasil. É possível elaborar uma linha do tempo com as séries de Decretos e Portarias, desde o Decreto Federal n.º 79.367, de 09 de março de 1977 até os dias atuais, com a PRC n.º 5 de 28 de setembro de 2017 (BRASIL, 2017), onde é possível observar a evolução das normas e padrões de potabilidade da água destinada ao consumo humano ao longo dos anos.

No Decreto Federal nº 79.367, de 09 de março de 1977, foi atribuído ao MS à competência para a elaboração de normas e padrões de potabilidade da água para consumo humano, e assim instituiu-se a primeira Portaria do MS n.º 56, que determinava os limites máximos para as características físicas, químicas e biológicas referentes a água para consumo, sendo estas norteadas pelas recomendações do Serviço Norte Americano de Saúde Pública (United States Public Health Service), e diretrizes da OMS (BRASIL, 1977; BRASIL, 1990; BRASIL, 2005; FREITAS et al., 2005; LIBÂNIO, 2010).

Em 1986 foi criado o VIGIAGUA, a fim de incentivar as secretarias estaduais a fiscalizar as ações descritas na Portaria recém instituída (BRASIL, 2005).

Em janeiro de 1990, com um número maior de parâmetros e restringindo ainda mais alguns limites, foi publicada pelo MS a Portaria n.º 36, que teve a sua implementação postergada para 1992 devido a uma solicitação dos entes públicos presentes na administração dos sistemas de abastecimento de água, alegando as

restrições sugeridas (LIBÂNIO, 2010; BRASIL, 1990). Os padrões de potabilidade foram divididos em três, sendo um referente às características físicas, organolépticas e químicas; um às características bacteriológicas e o último às características radioativas (BRASIL, 2006). A presente Portaria, segundo Oliveira et al. (2019) abriu caminhos para a criação da primeira versão do Sistema de Informação de Vigilância da Qualidade para Consumo Humano (Sisagua), que só foi disponibilizado em 2000.

Extrapolando o prazo estipulado para revisão das normas da Portaria nº. 36/1990 foi publicada a Portaria nº. 1.469 em janeiro de 2003. Ainda em 2003, a Secretaria de Vigilância em Saúde (SVS) foi criada, assumindo as atribuições da Fundação Nacional de Saúde (Funasa), o que levou a revogação da mesma pela Portaria de nº. 518, de março de 2004 (BRASIL, 2003; BRASIL, 2004; LIBÂNIO, 2010; FERNANDES, 2010).

Com a implementação da Portaria nº. 518/2004, os parâmetros microbiológicos foram categorizados quanto à fase de tratamento, além de incluir os padrões para: a) turbidez da água pós-filtração e pré-desinfecção; b) padrão para substâncias químicas que representam risco à saúde; c) padrão de radioatividade; e d) padrão de aceitação para consumo humano. Ainda, as substâncias químicas nocivas à saúde foram categorizadas em orgânicas, inorgânicas, agrotóxicos, desinfetantes e produtos secundários a desinfecção (BRASIL, 2006).

Anos depois foi estabelecida uma nova Portaria a de nº. 2.914/2011, a quinta desde 1977. Em termos de participação durante as revisões, a presente Portaria contou com o envolvimento de diversos participantes do controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano (RIBEIRO, 2012). De acordo com esta Portaria, a água própria para consumo precisava obrigatoriamente ser potável, ou seja, aquela cujo os parâmetros microbiológicos, físico-químicos e parasitológicos (vírus e protozoários) estejam em conformidade com os padrões de potabilidade descritos nesta e, conseqüentemente, sem riscos à saúde (BRASIL, 2011).

Segundo a Portaria nº. 2.914/2011, é necessário que os órgãos responsáveis pelo abastecimento de água de um determinado local realizem testes pré-estabelecidos que comprovem sua viabilidade de consumo para que a água seja adequada e liberada para o consumo (BRASIL, 2011).

Brasil (2013) cita que os testes incluídos para a garantia de potabilidade da água são os microbiológicos, que envolvem contagem de bactérias heterotróficas, coliformes totais, coliformes termotolerantes e *Escherichia coli* e outros parâmetros relacionados com os aspectos físico-químicos, em especial pH e turbidez.

Na Portaria n.º 2.914/2011 ainda foram descritas as faixas aceitáveis para os parâmetros físico-químicos: turbidez (máximo de 5,0 uT), pH (de 6,0 a 9,5) e demais fatores que possam oferecer riscos à saúde. Quanto aos parâmetros microbiológicos foram estabelecidos valores de 500 UFC/mL (2,7 log.UFC/mL) para as bactérias heterotróficas e ausência em 100mL para os coliformes totais, sendo os padrões apresentados direcionados à avaliação da integridade dos sistemas de distribuição (reservatório e rede). O padrão estabelecido pela Portaria se restringe a ausência de *Escherichia coli* em 100mL da amostra de água em se tratando da água para consumo humano (BRASIL, 2011).

Recentemente, em 28 de setembro de 2017, o MS publicou a PRC nº 5, e por meio desta e de seu art. 864, inciso CXXXIII, revogou a Portaria nº 2.914/11. Na nova Portaria os assuntos referentes ao VIGIAGUA foi integrado ao Anexo XX da referida e as normas sobre ações e todos os serviços de saúde ofertados pelo Sistema Único de Saúde (SUS) foram consolidadas nesta Portaria (BRASIL, 2017). De modo geral, a consolidação não efetuou nenhuma modificação nas normas anteriores, apenas uniu estas em um único documento.

Salienta-se que a legislação brasileira vigente não se restringe a análises laboratoriais para verificar o controle de qualidade da água, mas alerta para realização de ações articuladas com os programas de vigilância da água como, por exemplo, o VIGIAGUA. O VIGIAGUA é um programa do MS que tem por finalidade fiscalizar a qualidade da água disponibilizada para o consumo humano, garantindo que a população tenha acesso a esta em quantidade suficiente e com qualidade dentro do padrão de potabilidade exigido pela Portaria vigente, favorecendo a promoção da saúde (BRASIL, 2005).

O referido programa está alicerçado na Constituição Federal de 1988, e reforçado pela Lei n.º 8.080/1990, onde em ambas, está descrita a obrigatoriedade do poder público de fiscalizar e inspecionar a qualidade da água que é destinada ao consumo humano nas três esferas do governo e do setor da saúde (BRASIL, 1988;

BRASIL, 1990). O VIGIAGUA deve atuar no abastecimento de água das áreas urbanas e rurais, incluindo as áreas isoladas, pois as ações do programa estão relacionadas com as políticas e os programas no contexto da vigilância em saúde (atuação conjunta das vigilâncias epidemiológica, sanitária e saúde ambiental) e com as políticas e ações dos órgãos ambientais e de defesa do consumidor (BRASIL, 2005).

3. ALTERNATIVAS PARA TRATAMENTOS DA ÁGUA

O relatório conjunto da UNICEF/OMS, (2019) estima que cerca de 144 milhões de pessoas no mundo ainda consomem água sem tratamento (a partir de fontes como cisternas, lagoas, rios, nascentes), sendo a maioria localizadas nas áreas rurais. Por outro lado, quando são considerados os indivíduos que têm acesso ao serviço de água potável, mas este não é administrado de maneira segura, o número de desatendidos sobe para 2,2 bilhões de indivíduos. Ainda no mesmo relatório, as instituições citam que 2 bilhões de pessoas não têm saneamento básico, e sete em cada 10 são moradores de áreas rurais, assim a busca por alternativas viáveis para o tratamento dessas águas se faz necessário.

Entretanto, algumas formas de tratamento requerem investimentos altos, o que dificulta a implantação dos mesmos em áreas rurais, e, assim, a população do local faz consumo/uso de água diretamente da fonte, (rios, lagos, águas subterrâneas ou da chuva), sem que tenha sido submetida a qualquer tipo de tratamento, acarretando em riscos à saúde (GOMES, 2011; PETER-VARBANETSA, 2009). Em contrapartida, existem diversos métodos de tratamento da água em nível domiciliar, como a fervura e a filtração em filtro de cerâmica/barro e o uso de cloração.

O método de fervura tem relatos de 2000 a.C., quando um físico indiano constatou que a água impura era tratada. Para isso a aplicação da fervura através da exposição da água ao sol, mergulhando um metal incandescente no recipiente com esta. Atualmente a técnica da fervura consiste em elevar um determinado volume de água a uma temperatura de 100°C, durante 5 a 10 minutos favorecendo assim a redução dos micro-organismos patogênicos da água (LIMA, 2009).

Arvai e Post (2012) compararam quatro métodos de tratamento de água em duas comunidades africanas e a fervura e posterior uso de um sachê de coagulante responsável por remover a turbidez, principalmente no que diz respeito aos aspectos cor, odor e gosto, quanto a opção foi o método mais aceito, associado à facilidade no uso.

A filtração também tem seus primeiros relatos desde 2000 a.C., onde a água era submetida à filtração em areia e gravilha, e posteriormente exposta ao carvão. Nos tempos atuais, em estudos com populações rurais no Kenya, Albert et al. (2010) relataram a preferência pelo uso do filtro de cerâmica com a adição de solução de hipoclorito.

O processo de filtração com uso de filtros consiste em fazer passar, lentamente, um volume de água por uma vela de cerâmica. Os filtros possuem paredes de barro ou mesmo de cerâmica e segundo Bielefeldt et al., (2009) o uso desse tipo de filtro pode ser uma alternativa válida, economicamente viável, pois pode favorecer a remoção de micro-organismos patogênicos da água, a exemplo da bactéria *Escherichia coli*.

O uso de filtros de carvão ativado é muito utilizado e o método é semelhante ao anterior. O carvão funciona como a vela de cerâmica, ao captar e fixar substâncias existentes na água devido ao seu poder de adsorção. Em ambos os filtros há a formação de um biofilme, que faz a metabolização de compostos orgânicos e potencializa a capacidade de filtração. O uso deste tipo de filtro também se associa a retenção de compostos químicos como os herbicidas, pesticidas e os metais tóxicos (LIMA, 2009).

A radiação ultravioleta (UV) é outro método indicado para tratamento da água, entretanto devido aos altos custos, sua implementação tem sido pouco utilizada. Outra desvantagem é o consumo elevado de energia e os micro-organismos podem resistir e reativar suas atividades em caso de incidência abaixo do necessário. De modo geral, o método consiste em incidir sobre os micro-organismos patogênicos uma luz com radiação UV que forma uma reação fotoquímica que danifica o metabolismo celular, inativa e por fim destrói o micro-organismo (LIMA, 2009).

O Sistema de Desinfecção Solar (SODIS – Solar Water Disinfection) é um método simples, economicamente viável, que necessita de poucos materiais para sua implementação. A água é colocada em garrafas de plástico transparentes e são expostas à luz solar durante seis horas. Segundo Wegelin et al. (1994) esse processo de exposição ao calor e as radiações ultravioletas (radiação solar) vem sendo estudadas no Líbano desde a década de 70, e atualmente ganhou maior destaque por suas vantagens e principalmente por sua comprovada capacidade de eliminação de patógenos.

Um método muito utilizado sozinho ou em associação com outros é a cloração que segundo Libânio (2010) objetiva a desinfecção da água. Sua utilização como agente químico atua no controle do sabor e odor, previne o crescimento de algas, auxilia na remoção de ferro e manganês, remove a cor e controla o desenvolvimento de biofilmes nas tubulações. A correta cloração reduz bactérias, principalmente do grupo dos coliformes, e em níveis superiores a 0,1mg/L podem indicar ausência de *Salmonella spp.*

Em termos gerais, o acesso à água potável é um direito fundamental consolidado, devendo ser garantido tanto quantitativamente, quanto qualitativamente, logo no que diz respeito a qualidade, o tratamento da água não é a principal maneira de garantir acesso a este recurso, sendo necessárias estratégias de vigilância dos padrões normativos de potabilidade da água (FORTES et al., 2019).

REFERÊNCIAS

ABERA, S.; ZEYINUDIN, A.; KEBEDE, B.; DERIBEW, A.; ALI, S.; ZEMENE, E. Bacteriological analysis of drinking water sources. **African Journal of Microbiology Research**, Ethiopia, v. 5, n. 18, p. 2638-2641, 16 September, 2011. DOI: <https://doi.org/10.5897/AJMR11.218>.

ALBERT, J.; LOUTO, J.; LEVINE, D. End-user preferences for and performance of competing POU water treatment Technologies among the rural poor of Kenya. **Environmental Science Technology**, Easton, v. 12, n. 44, p. 4426-4432, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1021/es1000566>.

ALVES, A. R. F. **Doenças alimentares de origem bacteriana**. 2012. 87f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade Fernando Pessoa, Porto, 2012.

AMARAL, A. L. P. **Microrganismo indicadores de qualidade de água**. 2007. [Internet]. Monografia (Pós-graduação em Microbiologia) - Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2007. Disponível em: <http://docplayer.com.br/1011174-Micro-organismos-indicadores-de-qualidade-de-agua.Html>.

ANDRADE, N. J.; MACEDO, J. A. B. **Higienização na Indústria de Alimentos**. Viçosa, MG. CTP, 2008. 368p.

APHA - American Public Health Association. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 20th edition. New York, 1999.

APHA, American Public Health Association. **Standard methods for the examination of water and wastewater**., WEF. 19. ed. Washington: 1995.

ARAÚJO, G. F. R.; TONANI, K. A. A.; JULIÃO, F. C.; CARDOSO, O. O.; ALVES, R. I. S.; RAGAZZI, M. F.; SAMPAIO, C. F.; SEGURA-MUÑOZ, S. I. Qualidade físico-

química e microbiológica da água para o consumo humano e a relação com a saúde: estudo em uma comunidade rural no Estado de São Paulo. **Mundo Saúde**, São Paulo, v. 35, n. 1, p. 98-104, 2011.

ARAÚJO, V. S.; SANTOS, J. P.; ARAÚJO, A. L. C. Monitoramento das águas do Rio Mossoró/RN, no período de abril/2005 a julho/2006. **Rev Holos**. Rio Grande do Norte, v. 1, p.4-41, 2007.

ARVAI, J.; POST, K.. Risk management in a developing country contexto: improving decisions about point-of-use water treatment among the rural poor in Africa. **Risk Analysis**, New York, v. 32, n. 1, p. 67-80, 2012.

BACCI, D. C., PATACA, E.M. Educação para a água. **Estudos Avançados**. São Paulo, v. 22, n. 63, p. 211-26, 2008. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-40142008000200014>.

BAKER, T.J.; MILLER, S.N. Using the Soil and Water Assessment Tool (SWAT) to assess land use impact on water resources in an East African watershed. **Journal of Hydrology**, v. 486, p. 100-111, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jhydrol.2013.01.041>.

BARBOSA, D. B., et al. Qualidade microbiológica da água dos bebedouros de um Campus universitário de Ipatinga, Minas Gerais. NUTRIR GERAIS – **Revista Digital de Nutrição**, Ipatinga, v. 3, n. 5, p. 505-517, ago./dez. 2009.

BARBOSA, V. **A última gota**. 1. Ed. São Paulo: Planeta, 2014. 105p.

BERCHIERI JUNIOR, A.; MACARI, M. **Doenças das aves**. Campinas: FACTA, 2009. p.455-469.

BERNARDI, C.C. **Reuso de água para irrigação**. Monografia MBA (Pós-Graduação em Gestão Sustentável da Agricultura Irrigada) - SEA-FGV/ ECOBUSINESS SCHOOL. Brasília, DF, 2003. 52p.

BIELEFELDT, A. R.; KOWALSKI, K.; SUMMERS, R. S. Bacterial treatment effectiveness of point of use ceramic water filters. **Water Research**, New York, n. 43, p. 3559-3565, 2009.

BOISEN, N.; SCHEUTZ, F.; RASKO, D. A.; REDMAN, J. C.; PERSSON, S.; SIMON, J. et al. Genomic characterization of enteroaggregative *Escherichia coli* from children in Mali. **J. Infect. Dis.** Mali, 05, 431–444, 2012. DOI: <https://10.1093/infdis/jir757>.

BRASIL. Constituição (1998). **Constituição da República Federativa do Brasil**. Brasília, DF: Senado, 1988.

BRASIL. Decreto Federal nº 79.367, de 9 de março de 1977. Dispõe sobre normas e o padrão de potabilidade de água e dá outras providências. **Diário Oficial da União**. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/decreto/1970-1979/D79367.htm>. Acesso em: 10 jan. 2021.

BRASIL. Decreto nº 5.440, de 04 de maio de 2005. Estabelece definições e procedimentos sobre o controle de qualidade da água de sistemas de abastecimento e institui mecanismos e instrumentos para divulgação de informação ao consumidor sobre a qualidade da água para consumo humano. **Diário Oficial da União**. Brasília - DF, 4 de maio de 2005. Seção 2, p. 2.

BRASIL. Lei nº 8080, de 19 de setembro de 1990. Dispõe sobre as condições para a promoção, proteção e recuperação da saúde, a organização e o funcionamento dos serviços correspondentes e dá outras providências. **Diário Oficial da União**. Brasília – DF, 20 de setembro de 1990. Seção 1, p. 18055-18059.

BRASIL. **Manual de procedimentos em vigilância em saúde ambiental relacionada à qualidade da água para consumo humano.** Brasília, DF: Ministério da Saúde; 2006. 284 p.

BRASIL. **Manual prático de análise de água.** Brasília: Fundação Nacional de Saúde – FUNASA, 2006. 146 p.

BRASIL. **Manual de procedimentos para implantação de estabelecimentos industrial de pescado: produtos frescos e congelados.** Secretaria Especial de Aquicultura e Pesca. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento; Brasília: MAPA: SEAP/PR. 2007. 116 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Comentários sobre a Portaria MS n.º 518/2004: subsídios para implementação.** Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Coordenação-Geral de Vigilância em Saúde Ambiental, Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2005. 92 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Doenças Transmitidas por Alimentos, 2017.** Disponível em: <<http://portalms.saude.gov.br/saude-de-a-z/doencas-transmitidas-por-alimentos>> Acesso em: 28 dez. 2020.

BRASIL. **Manual de controle da qualidade da água para técnicos que trabalham em ETAS.** Fundação Nacional de Saúde. Ministério da Saúde, – Brasília: Funasa, 2014. 112 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Manual integrado de vigilância, prevenção e controle de doenças transmitidas por alimentos** / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. – Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2010. 158 p.

Brasil. Ministério da Saúde. **Portaria MS n.º 518/2004** / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Coordenação Geral de Vigilância em Saúde Ambiental – Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2005. 28 p.

Brasil. Ministério da Saúde. **Programa Nacional de Vigilância em Saúde Ambiental relacionada à qualidade da água para consumo humano** / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Coordenação-Geral de Vigilância em Saúde Ambiental. – Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2005. 106 p.

BRASIL. **Secretaria de Vigilância em Saúde. Coordenação-Geral de Desenvolvimento da Epidemiologia em Serviços.** Guia de Vigilância em Saúde: volume único [recurso eletrônico] / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Coordenação-Geral de Desenvolvimento da Epidemiologia em Serviços. – 3ª. ed. – Brasília : Ministério da Saúde, 2019. 740p.

BRASIL. **Manual prático de análise de água. 4ª ed.**, Ministério da Saúde: Fundação Nacional de Saúde, Funasa, 2013. 150 p.

BRASIL. Portaria de Consolidação nº 5, de 28 de setembro de 2017. Consolidação das normas sobre as ações e os serviços de Saúde do Sistema Único de Saúde. **Diário Oficial da União.** Brasília, 5 de setembro de 2017, Seção 1, 360 p.

BRASIL. Portaria n.º 2.914, de 12 de dezembro de 2011. Estabelece os procedimentos e responsabilidades relativos ao controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade, e dá outras providências. **Diário Oficial da União.** Brasília, 12 de dezembro de 2011, Seção 1, 39 p.

Brasil. **Portaria nº 1.469/2000, de 29 de dezembro de 2000:** aprova o controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. Brasília: Fundação Nacional de Saúde, 2001. 32 p.

CAMPOS, L.C.; TRABULSI, L.R. *Escherichia*. In.: TRABULSI, L.R. et al.

Microbiologia. 3 ed. São Paulo: Atheneu, 2002, p.215-228.

CLEMENTS, A.; YOUNG, J.C.; CONSTANTINOU, N.; FRANKEL, G. Infection strategies of enteric pathogenic *Escherichia coli*. **Gut Microbes**. Londres, v. 3, n. 2, p. 71-87. Mar-abril de 2012. DOI: [10.4161 / gmic.19182](https://doi.org/10.4161/gmic.19182).

COLVARA, J. G.; LIMA, A. S.; SILVA, W. P. (2009). Avaliação da contaminação de água subterrânea em poços artesianos no sul do Rio Grande do Sul. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, II SSA, p. 211-14.

CORDEIRO, W. S. Alternativas de Tratamento de Água para comunidades rurais. **Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental)** - Centro Federal de Educação Tecnológica de Campos – Universidade da Tecnologia e do Trabalho. Campos dos Goytacazes/RJ. 2008.

CROXEN, M. A.; LAW, R. J.; SCHOLZ, R.; KEENEY, K. M.; WLODARSKA, M.; FINLAY, B. B. Recent advances in understanding enteric pathogenic *Escherichia coli*. **Clin. Microbiol. Rev.** [S.l.], v. 26, n. 4, p. 822–880. Outubro de 2013. DOI: 10.1128/CMR.00022-13.

DEBNATH, M.; PRASAD, G.B.K.S.; BISEN, P.S.. **Molecular Diagnostics: Promises and Possibilities Dordrech Heidelberg London**. Springer, 2010. p 129--152. DOI: [10.1007 / 978-90-481-3261-4 9](https://doi.org/10.1007/978-90-481-3261-4_9).

FERNANDES NETO, M.L. Norma Brasileira de Potabilidade de Água: Análise dos parâmetros agrotóxicos numa abordagem de avaliação de risco [internet]. Rio de Janeiro: Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, **Fundação Oswaldo Cruz**; 2010. p. 169.

FERREIRA, A. C.; ROCHA, L. C.; FIGUEIREDO, M. do A. Análise do índice de qualidade de água na bacia do Córrego do Rio Acima, São João DelRei/MG. **Rev.**

Nacional de Gerenciamento de Cidades. São Paulo - SP. v. 03, n. 15, p. 94-105, 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.17271/231884723152015994>.

FORTES, A. C. C.; BARROCAS, P. R. G.; KLIGERMAN, D. C. A vigilância da qualidade da água e o papel da informação na garantia do acesso. **Saúde debate**, Rio de Janeiro – RJ. v. 43, no spe3. Dezembro de 2019. DOI: <https://doi.org/10.1590/0103-11042019S302>.

FREIRE, R. C.; LIMA, R. DE A. Bactérias heterotróficas na rede de distribuição de água potável no município de Olinda-PE e sua importância para a saúde pública. **JMPHC | Journal of Management & Primary Health Care | ISSN 2179-6750**, v. 3, n. 2, p. 91-95, 6 jan. 2013. DOI: <https://doi.org/10.14295/jmphc.v3i2.144>.

FREITAS, M.B.; FREITAS, C.M. A vigilância da qualidade da água para consumo humano: desafios e perspectivas para o Sistema Único de Saúde. **Ciênc. Saúde Colet.** Rio de Janeiro – RJ. v. 10, n. 4, p.993-1004. 2005. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1413-81232005000400022>.

GALLETTI, J. P.; FLORESTA, A. C. F.; SANTOS, H. D.; MINHARRO, S. Qualidade de água de abastecimento na indústria de produtos de origem animal: Revisão bibliográfica. **Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer** – Goiânia, v.6, n.10, p. 1-10, 2010.

GAVA, A. J.; SILVA, C. A. B. DA; FRIAS, J. R. G. **Tecnologia de alimentos: princípios e aplicações.** São Paulo: Nobel. 2008.

GOMES, J. M. C. Contribuição para o estudo de sistemas de tratamento de água a adoptar em zonas economicamente desfavoráveis. 2011. 105 p. **Dissertação (Mestrado em Engenharia do Ambiente)** – Universidade Nova de Lisboa, Lisboa, 2011.

GOMES, T. A. T.; ELIAS, W. P.; SCALETISKY, I. C. A. et al. *Escherichia coli* Diarreioagênica. **Braz. J. Microbiol.** São Paulo – SP. vol.47 supl.1 São Paulo dez. 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2016.10.015>.

GUARDABASSIO, E. V.; PEREIRA, R. DA S.; AMORIM, W. A. C. DE. Geração de Trabalho e Renda por Meio do Cooperativismo. **Revista de Gestão Ambiental e Sustentabilidade**, Rio de Janeiro, 2017.

GURGEL, R. S.; SILVA, L. S.; SILVA, L. A. Investigação de coliformes totais e *Escherichia coli* em água de consumo da comunidade Lago do limão, Município de Iranduba – AM. **Braz. Ap. Sci. Rev**, Curitiba, v . 4, n. 4, p. 2512-2529 jul./ago. 2020. DOI:10.34115/basrv4n4-028.

HARRINGTON, S. M.; DUDLEY, E. G.; NATARO, J. P. Pathogenesis of enteroaggregative *Escherichia coli* infection. **FEMS Microbiol. Lett.** 254, 12–18. 2006. DOI: 10.1111/j.1574-6968.2005.00005.x

HOEKSTRA, A. Y.; HUNG, P. Q. Virtual Water Trade: A quantification of virtual water flows between nations in relation to international crop trade. Value of Water Research Report Series, Netherland: **UNESCO/IHE**, n. 11, p. 25-47, Sept. 2002.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Pesquisa Nacional por amostra de domicílios 2013**. Volume 33. Rio de Janeiro: 2014. 133 p.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Pesquisa nacional por amostra de domicílios: síntese de indicadores 2013**. Coordenação de Trabalho e Rendimento. - 2. ed. - Rio de Janeiro: IBGE. 296 p. 2013.

INGLE, D. J. et al. In silico serotyping of E. Coli from short read data identifies limited novel o-loci but extensive diversity of O:H serotype combinations within and between pathogenic lineages. **Microbial Genomics**, 2016. DOI: 10.1099/mgen.0.000064.

LANATA, C. F.; FISCHER-WALKER, C. L.; OLASCOAGA, A. C.; TORRES, C. X.; ARYEE, M. J.; BLACK, R. E. Global causes of diarrheal disease mortality in children <5 years of age: a systematic review. **PLoS ONE**, [SI], v. 8, n. 9 p. 72788. 4 de setembro de 2013. DOI: 10.1371/journal.pone.0072788.

LEIMBACH, A.; HACKER, J.; DOBRINDT, U. E. coli as an all-rounder: the thin line between commensalism and pathogenicity. **Curr. Top. Microbiol. Immunol.** [SI], v. 358, p. 3–32. 2013. doi: 10.1007/978-3-662-45793-1_303.

LEITE, M.O.; ANDRADE, N.J.; SOUZA, M.R.; FONSECA, L.M.; CERQUEIRA, M.M.O.P.; PENNA, C.F.A.M. Controle de qualidade da água em indústrias de alimentos. **Revista Leite e Derivados**, n.69, março/abril, 2003.

LEITE, M.O.; ANDRADE, N.J.; SOUZA, M.R.; FONSECA, L.M.; CERQUEIRA, M.M.O.P.; PENNA, C.F.A.M. Controle de qualidade da água em indústrias de alimentos. **Revista Leites e derivados**. 2018.

LEVINE, M. M.; KAPER, J. B.; BLACK, R. E.; CLEMENTS, M. L. New knowledge on pathogenesis of bacterial enteric infections as applied to vaccine development. **Microbiol. Rev.** [SI], v. 47, p. 510–550.1983.

LIBÂNIO, M. **Fundamentos de qualidade e tratamento de água**. 3. ed. Campinas: Átomo; 2010. 496 p.

LIBÂNIO, M.; **Fundamentos de Qualidade e Tratamento de Água**. Campinas, SP: Ed. ÁTOMO, 2008.

LIMA, L. M. F. Modelação da qualidade da água numa rede de distribuição: Estudo do comportamento do cloro e da formação de trihalometanos. (2009) 172f. **Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil)**. Faculdade de Engenharia, Universidade do Porto, 2009.

VIPIN MADHAVAN, T. P.; SAKELLARIS, H. Colonization Factors of Enterotoxigenic *Escherichia coli*. **Advances in Applied Microbiology**, v. 90, p. 155–197. 2015. DOI: 10.1016/bs.aambs.2014.09.003.

MARTEYN, B.; GAZI, A.; SANSONETTI, P. (2012). Shigella: a model of virulence regulation in vivo. **Gut Microbes** 3, 104–120. doi: 10.4161/gmic.19325

MEES, J. B. R. et al. Removal of organic matter and nutrients from slaughterhouse wastewater by using *Eichhornia crassipes* and evaluation of the generated biomass composting. **Engenharia Agricola**, v. 29, n. 3, p. 466-73, jun./set. 2009.

MELTON-CELSA, A. et al. Pathogenesis of Shiga-toxin producing *Escherichia coli*. **Current Topics in Microbiology and Immunology**, v. 357, p. 67–103, 2012. Doi: 10.1007/82_2011_176.

MENARD, L. P. et al. Expression, purification, and biochemical characterization of enteroaggregative *Escherichia coli* heat-stable enterotoxin. **Protein Expression and Purification**, v. 33, p. 223-231, 2004.

NATARO, J. P.; KAPER, J. B. Diarrheagenic *Escherichia coli* [published erratum appears in Clin Microbiol Rev 1998 Apr;11(2):403]. **Clin Microbiol Rev**, v. 11, p. 142-201, 1998.

NGUYEN, R. N. et al. Atypical enteropathogenic *Escherichia coli* infection and prolonged diarrhea in children. **Emerging Infectious Diseases**, v. 12, p. 597–603. Doi: 10.3201/eid1204.051112.

NORETE, D. N.; CORREIA, Q. B.; JOSÉ, J. F. B. S. Qualidade da água utilizada em quiosques de praia. **Ambiente e Agua - An Interdisciplinary Journal of Applied Science**, vol. 13 n. 2, 2018. DOI: <http://dx.doi.org/10.4136/ambi-agua.2003>.

NUNES, L. M.; SOUSA, G. M.; CANELA, H. M. S.; PAIXÃO, M. A.; MAIA, B. G. O. et al.. Análise microbiológica de água proveniente de fontes alternativas utilizadas pela população de Tumiritinga estado de Minas Gerais após o desastre de Samarco.

Brazilian Journal of Development, vol. 6, n. 6, p. 36597-36611, 2020.

OKEKE, I. N.; NATARO, J. P. **Enteroaggregative Escherichia coli** **Lancet Infectious Diseases**, v. 1, p. 304-313, 2001. Doi: 10.1016/S1473-3099(01)00144-X].

OLIVEIRA, A.; MAGALHÃES, T.B.; MATA, R.N.; SANTOS, F. S. G.; OLIVEIRA, D. C.; CARVALHO, J. L. B.; ARAUJO, W. N.. Sistema de Informação de Vigilância da Qualidade da Água para Consumo Humano (Sisagua): características, evolução e aplicabilidade*. **Epidemiol. Serv. Saúde** [internet]. 2019 [acesso em 2019 abr 30]; 28(1):e2018117.

OLIVEIRA, R. P. B.; SIQUEIRA, A. A.; NUNES, A. L. V. F.; MONÇÃO, K. C. R.; GONÇALVES, L L.D.; CHAVES, S. R.. Análise Microbiológica da Água para Consumo Humano em uma Comunidade do Município de Santana do Riacho – MG. **Braz. J. of Develop.**, Curitiba, v. 6, n.4,p.18552-18563 apr. 2020
DOI:10.34117/bjdv6n4-140

OPAS. Organização Pan-Americana de Saúde. **Segurança dos alimentos é responsabilidade de todos**. Brasília – DF. 2019.

PANCHALINGAM, S. et al. **Diagnostic microbiologic methods in the GEMS-1 case/control study** **Clinical Infectious Diseases**, v. 55 n. 4, p. 294–S302. Doi: 10.1093/cid/cis754.

PARRON, L. M.; MUNIZ, D. H. DE F.; PEREIRA, C. M. Manual de procedimentos de amostragem e análise físico-química de água. **EMBRAPA - Documento 232**, p. 69, 2011.

PEREIRA, A. A. S.; MACEDO, L. R.; SILVA, A. M.; SANTOS, A. A. Avaliação da qualidade da água do Ribeirão São João, em Campo Belo Minas Gerais, sob interferência do efluente tratado do abate de bovinos e suínos. **Natureza on line**, Ribeirão São João, p. 101-105, nov./abr. 2015.

PETER-VARBANETS, M. et al. Decentralized systems for potable water and the potential of membrane technology. **Water Research**, v. 43, n. 2, p. 245–265, 2009.

PINTO, V. G. Análise comparativa de legislações relativas à Qualidade da água para consumo humano na América do Sul. v. 3, n. 2, p. 116–130, 2006.

PITOUT, J. D. D. Extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*: A combination of virulence with antibiotic resistance. **Frontiers in Microbiology**, v. 3, n. JAN, p. 1–15, 2012. Doi: 10.3389/fmicb.2012.00009.

QADRI, F. et al. Enterotoxigenic *Escherichia coli* in developing countries: Epidemiology, microbiology, clinical features, treatment, and prevention. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 18, n. 3, p. 465–483, 2005. Doi: 10.1128/CMR.18.3.465-483.2005.

CHAIDEZ-QUIROZ, C. Agua Embotellada y su Calidad Bacteriológica. **Agua Latinoamerica**, v. Septiembre, p. 38–39, 2002. <https://doi.org/10.1590/1981-6723.24519>.

RIBEIRO, M.C.M. Nova portaria de potabilidade de água: busca de consenso para viabilizar a melhoria da qualidade da água potável distribuída no Brasil. **Rev. DAE**. 2012; (189):1-76.

ROEWER, S. P.; NASCIMENTO, M. V. M.; MARCHI, P. G. F.; LIMA, I. E.; DUARTE, L. M. Análise de indicadores microbiológicos da água para o consumo humano no município de Barra do Garças – MT. **Interdisciplinar: Rev. Eletrônica da UNIVAR**, vol. 2, n.15, p. 6-9, 2016.

SALING, C. et al. Avaliação da qualidade da água de poços rasos no município de Colinas – RS. **Tecno-Lógica**, v. 21, n. 2, p. 59-64, 2017.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE PATOLOGIA CLÍNICA/MEDICINA LABORATORIAL. Métodos Laboratoriais para Diagnóstico da Infecção pelo SARS-CoV-2. **Sbpc**, n. 21, p. 21–23, 2020.

SIDHU, J. P. S.; TOZE, S. G. Human pathogens and their indicators in biosolids: A literature review. **Environment International**, v. 35, n. 1, p. 187–201, 2009.
<https://doi.org/10.1016/j.envint.2008.07.006>.

SILVA, C. C.; SILVA, C. C.; SILVA, E. A.; TOLEDO, L. A.; LIMA, M. A. G.; MOREIRA, R.; CÂNDIDO, M. R. et al. Análises do Perfil Bacteriológico das Águas do Ribeirão das Antas, no Município de Cambuí-MG, Como Indicador de Saúde e Impacto Ambiental. **Revista Agrogeoambiental**, 2014.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H.; GOMES, R. A. R.; OKAZAKI, M. M. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água**. 5ª Ed. São Paulo: Blucher, 2017.

SILVEIRA, J. T. et al. Avaliação de parâmetros microbiológicos de potabilidade em amostras de água provenientes de escolas públicas. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 70, n. 3, p. 362–367, 2011.

SJÖLING, Å.; VON MENTZER, A.; SVENNERHOLM, A. M. Implications of enterotoxigenic *Escherichia coli* genomics for vaccine development. **Expert Review of Vaccines**, v. 14, n. 4, p. 551–560, 2015. Doi: 10.1586/14760584.2015. 996553.

SOUSA, C.P. Segurança alimentar e doenças veiculadas por alimentos: utilização do grupo coliforme como um dos indicadores de qualidade de alimento. **Rev. Atenção Primária à Saúde** 9(1)83-8. 2006

SPERLING, M. V. **Introdução à Qualidade das águas e ao Tratamento de Esgotos**. Belo Horizonte: Ed. UFMG, 2014.

TAXT, A. et al. Heat-stable enterotoxin of enterotoxigenic *Escherichia coli* as a vaccine target. **Infection and Immunity**, v. 78, n. 5, p. 1824–1831, 2010. Doi: 10.1128/IAI.01397-09.

TENNANT, S. M. et al. Characterisation of atypical enteropathogenic *E. coli* strains of clinical origin. **BMC Microbiology**, v. 9, p. 1–11, 2009. Doi: 10.1186/1471-2180-9-117.

TUNDISI, J. G. **Água no século 21: enfrentando a escassez**. RIMA/IIE, 2003. 247p.

UNESCO. **United Nations World Water Development Report 2019: Leaving No One Behind**. France, 2019.

UNICEF; OMS. **Progress on sanitation and drinking water – 2015 update and MDG assessment**. 2015.

WALKER, C. L. P.; APPLGATE, J. A.; BLACK, R. E. Haemolytic-Uraemic Syndrome as a Sequela of Diarrhoeal Disease. **Journal of Health, Population and Nutrition**, v. 30, n. 3, p. 257–261, 2012. Doi: 10.3329/jhpn.v30i3.12288.

WEGELIN, M.; CANONICA, S.; MECHSNER, K.; FLEISHMANN, T.; PESARO, F.; METZLER, A. Solar Water Disinfection: Scope on Process and Analysis of Radiation

Experiments, **Journal of Water Supply: Research and Technology - Aqua**, v. 43, n3, p. 154 – 169, 1994.

WHO. **World Health Organization. Laboratory testing for coronavirus disease 2019 (COVID-19) in suspected human cases.** Interim guidance. Reference: WHO/COVID-19/laboratory/2020.5, 19 March 2020.

WHO/UNICEF. World Health Organization and The United Nations Children's Fund (Ed.). ***Progress on Water Drinking House, Sanitation and Higiene 2000– 2017: Foco especial nas desigualdades. Switzerland: JMP, 2000-2017.*** 140 p.

XAVIER, C. et al. Meta-analysis of the incidence of foodborne pathogens in Portuguese meats and their products. **Food Research International**, v. 55, p. 311–323, 2014. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2013.11.024>.

ZHANG, R. et al. Comparative genetic characterization of Enteroaggregative *Escherichia coli* strains recovered from clinical and non-clinical settings. **Scientific Reports**, v. 6, p. 1–16, 2016. Doi: 10.1038/srep24321.

CAPÍTULO 2

Qualidade da água utilizada na produção de alimentos em um Empreendimento Econômico Solidário

Artigo a ser submetido à revista Engenharia Sanitária e Ambiental

Qualidade da água utilizada na produção de alimentos em um Empreendimento Econômico Solidário

RESUMO

Objetivou-se verificar as condições sanitárias de abastecimento e os parâmetros microbiológicos e físico-químicos de potabilidade de água utilizada em Unidades Produtoras de Alimentos (UPA) de um Empreendimento Econômico Solidário. Trata-se de um estudo realizado de dezembro de 2018 a janeiro de 2019 em 15 UPA. Na primeira etapa do estudo foi aplicado *checklist* acerca dos indicadores de potabilidade da água. Na segunda etapa foram realizadas análises físico-químicas e microbiológicas nas 15 amostras de água das UPA. Os resultados relacionados aos *checklist* sugerem que 100% das UPA possuíam fornecimento de água e a fonte principal era cisterna (33,3%), a água utilizada na produção de alimentos era oriunda das cisternas e eram armazenadas em reservatórios por meio de gravidade (73,3%), uso inadequado de sanitizante, por diluição excessiva (40,0%), prevalência da fossa rudimentar (60%), descarte de águas servidas no ambiente (80,0%), os resíduos sólidos comuns queimados a céu aberto (86,7%) e os orgânicos usados como adubação ou jogados no quintal (53,3%), logo evidencia-se condições insatisfatórias do abastecimento da água. Nas análises microbiológicas, observou-se que 80,0% das UPA não atenderam ao padrão de potabilidade da água segundo a legislação, por apresentarem *Escherichia coli* com contagens de $<1,0$ a $>2,4$ log.NMP.100mL⁻¹. As contagens de bactérias heterotróficas variaram de $<1,0$ a $>4,5$ log.UFC.mL⁻¹ e 46,7% (n=7) das amostras apresentaram elevadas contagens desse importante indicador, que variaram de 3,0 a $>4,5$ log.UFC.mL⁻¹. Apesar da legislação não estabelecer padrões para as análises físico-químicas de amostras de água de consumo, os valores de pH, condutividade elétrica, oxigênio dissolvido e temperatura pressupõem inadequação segundo a literatura. É necessário controle da potabilidade da água pelas UPA e órgãos responsáveis, ações educativas e elaboração e implantação de políticas públicas voltadas para o saneamento rural.

Palavras-chave: potabilidade; recursos hídricos; parâmetros microbiológicos; saneamento rural.

ABSTRACT

The objective was to verify the sanitary conditions of supply and the microbiological and physical-chemical parameters of water potability used in Food Production Units (UPA) of a Solidary Economic Enterprise. This is a study carried out from December 2018 to January 2019 at 15 UPA. In the first stage of the study, a checklist was applied about the water potability indicators. In the second stage, physical-chemical and microbiological analyzes were performed on the 15 water samples of the UPA. The results related to the checklist suggest that 100% of the UPA had water supply and the main source was cistern (33.3%), the water used in food production came from the cisternas and by gravity were stored in reservoirs (73 , 3%), inadequate use of sanitizer, due to excessive dilution (40.0%), prevalence of the black-type cesspool (60%), disposal of wastewater in the environment (80.0%), the common solid waste burned at open skies (86.7%) and organics used as fertilizers or thrown in the yard (53.3%), soon there is unsatisfactory water supply conditions. In microbiological analyzes, it was observed that 80.0% of the UPA did not meet the water potability standard according to the legislation, as they had *Escherichia coli* with counts of <1.0 to > 2.4 log.NMP.100mL⁻¹. The counts of heterotrophic bacteria ranged from <1.0 to > 4.5 log.UFC.mL⁻¹ and 46.7% (n = 7) of the samples showed high counts for this important indicator, which ranged from 3.0 to > 4.5 log.UFC.mL⁻¹. Although the legislation does not establish standards for the physical-chemical analysis of drinking water samples, the values of pH, electrical conductivity, dissolved oxygen and temperature presuppose inadequacy according to the literature. It is necessary to control the potability of water by the UPA and responsible agencies, educational actions and the elaboration and implementation of public policies aimed at rural sanitation.

Keywords: potability; water resources; microbiological parameters; rural sanitation.

INTRODUÇÃO

A água possui um papel fundamental à sobrevivência terrestre e a garantia de que esta atenda aos padrões de potabilidade para o consumo humano é de grande relevância para a saúde pública, por estar envolvida em diversas atividades cotidianas, especialmente no consumo direto e na produção de alimentos, pois é direito de todo cidadão o consumo de água potável (VOLKWEIS et al., 2015).

No Brasil a Portaria n.º 2.914/2011 revisada na então Portaria de Consolidação (PRC) n.º 5/2017 do Ministério da Saúde (MS), no Anexo XX, estabelece os procedimentos de controle e vigilância da qualidade da água, bem como o padrão de potabilidade para consumo humano, e a define como água potável “aquela destinada à ingestão, preparação e produção de alimentos e à higiene pessoal, devendo atender ao padrão de potabilidade vigente e não oferecer riscos à saúde” (BRASIL, 2017). Nesta perspectiva, a água própria para consumo humano precisa atender aos parâmetros microbiológicos e físico-químicos prescritos nesta legislação, ou seja, ausente de agentes contaminantes/patogênicos e que deve auxiliar na promoção da saúde dos seres humanos.

Segundo Andrade e Macedo (2008) são várias as formas de contaminação da água, podendo ser classificadas em físicas, químicas e microbiológicas, alterando a cor, sabor, aroma ou não apresentar alteração perceptível durante o consumo. Prospecções apontam que a contaminação da água pode acontecer desde o ponto de origem (fontes), durante a sua distribuição (via tubulação) e, principalmente, nos reservatórios particulares (devido à falta e/ou incorreta higienização), sejam eles de empresas ou domiciliares (GERMANO; GERMANO, 2003). Outra fonte de contaminação comum das águas superficiais são os esgotos domésticos, conhecidos por efluentes ou águas servidas, sendo um exemplo às excretas de seres humanos e as águas provenientes da higiene pessoal (LIBÂNIO, 2016).

Nesta perspectiva há que se preocupar com a falta de serviço de saneamento básico, especialmente no que tange o meio rural, pois, além de contribuir com a contaminação das águas, a ausência de saneamento aumenta significativamente as desigualdades sociais e a pobreza nestes locais (SIMONATO et al., 2019). Segundo dados do *Relatório mundial sobre o desenvolvimento da água das Nações Unidas 2019: não deixando ninguém para trás*, a nível mundial, no ano de 2019, três entre

cada dez pessoas não têm acesso a água potável segura e seis a cada dez não têm acesso a serviços de saneamento gerenciados de forma segura (UNESCO, 2019).

De acordo com o Diagnóstico dos Serviços de Água e Esgoto do Sistema Nacional de Informação sobre Saneamento (SNIS), em 2018 apenas 53,2% dos municípios do Brasil apresentavam rede de esgoto, sendo que destes 60,9% estavam nos grandes centros urbanos, demonstrando a baixa cobertura nas zonas rurais (BRASIL, 2018). Diante desta informação, e sendo a água um dos principais veículos de patógenos, torna-se evidente a necessidade de avaliar a qualidade da água por meio da pesquisa de micro-organismos indicadores, denominados coliformes totais e os coliformes termotolerantes, e este último tem como principal representante a bactéria *Escherichia coli* (WHO, 2011).

Outra grande preocupação é em relação à qualidade da água utilizada para produção dos alimentos, que se constitui um desafio para as UPA, especialmente em Empreendimentos Econômicos Solidários (EES). Conforme Alves et al. (2016), as atividades econômicas e sociais são colocadas em prática nestes empreendimentos, por meio da formação de cooperativas e associações, e, diferente da economia capitalista, o trabalho coletivo e o compartilhamento de saberes, como “o pulo do gato” ou “o segredo de família” de determinadas preparações são sempre valorizados nestes empreendimentos. Em síntese, os EES são organizações que materializam as inúmeras formas de economia solidária, sendo atividades muito comuns a produção, distribuição e comercialização artesanal de alimentos.

Vale salientar que pouco se sabe sobre as condições de produção e armazenamento, uma vez que as UPA são as próprias cozinhas domiciliares em muitos destes empreendimentos, (WESCHENFELDER et al, 2015). Desta forma, considerando a ocorrência de vários surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos, muitos consumidores se mostram preocupados com a qualidade dos alimentos devido às estatísticas de casos de contaminação de alimentos produzidos em larga escala (CRUZ; SCHNEIDER, 2010).

Silveira et al. (2011) afirmaram que a utilização da água é necessária em inúmeras atividades durante a cadeia produtiva de uma preparação, como higienização das mãos dos manipuladores; limpeza e sanitização dos equipamentos,

utensílios e superfícies; e lavagem e sanitização dos alimentos. Logo, torna-se fundamental o uso de água potável para garantir a sanidade do produto final, bem como contribuir para o controle higiênico-sanitário das preparações elaboradas pelas UPA, e principalmente evitar o surgimento de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA).

Considerando a escassez de estudos que avaliem a qualidade da água em EES, objetivou-se verificar as condições sanitárias de abastecimento e os parâmetros microbiológicos e físico-químicos de potabilidade de água utilizadas em UPA em um EES do Baixo Sul da Bahia, Brasil.

MATERIAL E MÉTODOS

CARACTERIZAÇÃO DO ESTUDO

Trata-se de um estudo de campo exploratório, transversal, com forma de abordagem quantitativa, realizado em duas etapas no período de dezembro de 2018 a janeiro de 2019 em 15 UPA, localizadas na zona rural e que integravam um EES de um município do Baixo Sul da Bahia. As UPA eram compostas por 52 mulheres da agricultura familiar distribuídas nas 15 unidades que faziam parte de uma cooperativa vinculada à economia solidária, a partir da produção e comercialização de diversos alimentos. A produção era realizada em UPA comunitárias ou nas cozinhas domiciliares e a comercialização acontecia em uma loja comercial da cooperativa, em uma cantina solidária, na feira agroecológica e por meio de mercado institucional, via Programas de Alimentação Escolar (PNAE) e de Aquisição de Alimentos (PAA).

Na primeira etapa do estudo foi aplicada uma lista de verificação (*checklist*) (Apêndice I) acerca da potabilidade de água e fontes de contaminação, elaborada com base na Resolução nº 216/2004 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) do MS (BRASIL, 2004), em artigos que versavam sobre temas acerca da qualidade da água, água potável ou contaminação da água, manuais do MS e Meio Ambiente e por meio de observações *in loco*. O *checklist* foi composto por 27 itens que foram divididos em quatro blocos, sendo o bloco 1 relacionado com o fornecimento e origem da água (9 itens), o bloco 2 relativo a tratamento (4 itens), bloco 3 que trata de reservatório (6 itens) e o bloco 4 relacionado com o destino de

resíduos e esgotamento sanitário das UPA (8 itens). A coleta dos dados foi realizada por meio de observação direta em cada UPA por meio de um observador previamente treinado. As respostas às questões objetivas constantes no *checklist* variaram de acordo com a questão em “Sim”, “Não” e “Não se aplica”. As inspeções tinham duração média de 30 minutos a uma hora em cada UPA e, quando possível, foram realizados registros fotográficos correspondentes aos itens avaliados no *checklist*.

Na segunda etapa do estudo foram realizadas coletas de amostras de águas das UPA estudadas que foram submetidas a análises físico-químicas e microbiológicas. As análises físico-químicas foram realizadas *in loco*, utilizando o aparelho medidor multiparâmetros Water Quality Meter AK88 (Akso®) sendo medidas a temperatura, o pH, a condutividade elétrica e o oxigênio dissolvido.

COLETA E PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS

Precedendo a coleta da água, as torneiras das pias das UPA foram higienizadas com álcool 70% e abertas por aproximadamente 3 minutos, para favorecer o escoamento da água armazenada na tubulação. A água para análise foi coletada utilizando sacos de coleta contendo tiosulfato de sódio, os quais foram devidamente identificados com o código da amostra, data e hora da coleta. Coletou-se aproximadamente 100 mL de água diretamente da torneira e, em seguida, as amostras foram acondicionadas e transportadas refrigeradas em caixas isotérmicas contendo gelo reciclável para o laboratório de Microbiologia do Complexo Multidisciplinar de Estudos e Pesquisa em Saúde (COMEPS) da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, onde foram analisadas no período inferior a quatro horas após a coleta.

Para avaliar a qualidade das águas utilizadas nas UPA foi realizada a contagem de coliformes totais (Ct) e termotolerantes (CT) pela Técnica de Fermentação em Tubos Múltiplos que determina o Número Mais Provável (NMP) de bactérias do grupo dos coliformes, descrita no *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2005) e contagem total de heterotróficos utilizando o método rápido de contagem por placas Petrifilm Aqua AQHC™ (3M Company) (AOAC 2018.01).

AValiação DOS RESULTADOS OBTIDOS

A densidade de Ct e CT foi expressa em log NMP.100 mL⁻¹ e para a contagem total de heterotróficos, os resultados foram expressos em log UFC.mL⁻¹.

A análise do *checklist* foi realizada a partir dos parâmetros estabelecidos pela RDC n.º 216/2004 da ANVISA-MS (BRASIL, 2004). Os resultados microbiológicos e físico-químicos da água obtidos foram analisados conforme os padrões estabelecidos na PRC n.º 5/2017 (BRASIL, 2017).

Os resultados obtidos no *checklist* foram correlacionados com os achados microbiológicos. Os dados foram tabulados no *software Microsoft Office Excel*®, 2010, versão 14.0 (MICROSOFT, 2010). Todas as análises estatísticas foram conduzidas utilizando os *softwares* IBM SPSS Statistics 23.0 (IBM, 2014) e MedCalc versão 19.6.1 (MEDCALC, 2020). Realizou-se teste Shapiro-Wilk e a partir dos seus resultados foram realizadas as análises não-paramétricas: Teste exato de Fischer e coeficiente de correlação de postos de Spearman. O valor de p <0,05 foi considerado significativo.

ASPECTOS ÉTICOS

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFRB (CAAE 09931612.6.0000.0056), conforme determina a Resolução n.º 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde (BRASIL, 2012). Os participantes receberam explicações sobre a finalidade da pesquisa e deram anuência por meio do Termo de Consentimento Informado Livre e Esclarecido.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

DIAGNÓSTICO DAS CONDIÇÕES SANITÁRIAS DO ABASTECIMENTO DE ÁGUA DAS UPA

Os resultados da aplicação do *checklist* revelaram no bloco 1 (fornecimento e origem da água para a produção de alimentos) que 100% (n=15) das UPA possuíam fornecimento de água e 33,3% (n=5) destas tinham a cisterna como a principal fonte de abastecimento. Verificou-se também que 60,0% (n=9) utilizavam a fonte por um período maior ou igual a 10 anos.

Quando avaliadas sobre os aspectos da água da fonte, 13,3% (n=2) possuíam odor e em 6,7% (n=1) foram observadas partículas em suspensão na água. Verificou-se que o principal material de revestimento dessas fontes era do tipo alvenaria 53,3% (n=8) e rachaduras nas paredes das fontes foram relatadas em 53,3% (n=8) das UPA.

Os achados neste estudo evidenciaram o uso frequente de cisternas para abastecimento de água, principalmente por populações rurais, devido à facilidade para obtenção desta (escavação manual, com o auxílio de picareta e pá, em solo pouco consolidado, com profundidade inferior a 30 metros). Por outro lado, a baixa profundidade das cisternas associada à ausência de saneamento básico pode acarretar em contaminação das águas por diversas vias, como lençol freático, lixiviação de dejetos domésticos, ausência de vedação apropriada nas cisternas ou durante a captação da água para uso nas atividades diárias (CISAM, 2006; IRITANI e EZAKI, 2008).

O abastecimento de água, principalmente no meio rural, tem ganhado destaque mundial e o relatório “*Progresso na Casa de Água Potável, Saneamento e Higiene 2000– 2017: Foco especial nas desigualdades*” idealizado pela *Organização Mundial de Saúde (OMS) e Fundo das Nações Unidas para a Infância (UNICEF)* revelou a situação do acesso à água no mundo e relatou um aumento entre os anos de 2000 a 2017 de 61% para 71% da população que utilizou serviços de água potável gerenciados com segurança, dentre esses foi observado o crescimento da cobertura nas zonas rurais de 69% para 81%, entretanto, apesar dos avanços mencionados, o presente relatório citou que em 2017, cerca de 144 milhões de pessoas em todo mundo ainda consumiam água de fontes duvidosas e a maioria delas localizada em áreas rurais (WHO/UNICEF, 2019).

A ausência de abastecimento de água potável é precária, principalmente no que diz respeito às comunidades rurais. Segundo dados da Pesquisa Nacional por Amostra de Domicílios (PNAD) – IBGE, em 2014, apenas 33,41% dos domicílios em comunidades rurais possuíam rede de distribuição de água. Muitos domicílios utilizavam outras fontes para garantir o abastecimento de água, como poços diversos, rios e reservatórios (BRASIL, 2016).

A água utilizada para a produção dos alimentos das UPA era encanada em 73,3% (n=11) delas, ou seja, oriundas da própria fonte via reservatório e 53,3% (n=8) responderam que utilizavam substâncias sanitizantes como forma de tratamento alternativo da água, principalmente o hipoclorito de sódio (93,3%, n=14), porém apenas 6,7% (n=1) realizavam a diluição adequada. A principal inadequação observada foi a diluição excessiva (40,0%, n=6).

Prospecções realizadas por Oliveira et al. (2020) verificaram que os moradores do Assentamento Florestan Fernandes localizado entre os municípios de Guaçuí e São José do Calçado na região Sul do estado do Espírito Santo faziam uso da filtração da água consumida diariamente em 75,0% dos domicílios, em 33,3% era utilizado o hipoclorito de sódio a cada mês ou ambos os métodos simultaneamente (filtração + hipoclorito de sódio) (33,3%). É importante salientar que a PRC do MS no Art. 24 ressalta a obrigatoriedade de que “toda a água para consumo humano, fornecida coletivamente, deverá passar por processo de desinfecção ou cloração” e aquelas “provenientes de manancial superficial devem ser submetidas a processo de filtração” (BRASIL, 2017).

A RDC n.º 216/2004 da ANVISA reforça a necessidade da desinfecção da água de consumo humano e determina que os produtos saneantes utilizados para a água, alimentos, superfícies e outros, devem ser regularizados pelo MS e tanto a diluição, quanto o tempo de contato e modo de uso/aplicação destes produtos devem seguir às instruções recomendadas pelo fabricante (BRASIL, 2004). Salienta-se que a utilização da correta diluição da solução de hipoclorito de sódio é de grande importância, pois sua ingestão em altas concentrações podem ser tóxica ao ser humano, já quando utilizada em baixas concentrações não terá ação sanitizante e, conseqüentemente, não irá reduzir a população de micro-organismos patogênicos que possam estar presentes na água.

No bloco 3 referente ao reservatório e suas características, foi verificado que há a presença deste em 100% (n=15) das UPA e que 93,3% (n=14) são adequados, possuem tampa com vedação e de material de polietileno e em apenas uma unidade 6,7% (n=1) o reservatório era de fibra de vidro e apesar de possuírem tampa, o material deste dificulta a adequada higienização, podendo liberar partículas na água e/ou apresentar fissuras que podem favorecer o desenvolvimento de micro-

organismos (Figura 1A). Salienta-se que foi observado *in loco* que a água era captada por meio de gravidade utilizando tubulação do tipo PVC.

Segundo as entrevistadas, o reservatório era higienizado, no máximo, até seis meses em todas as UPA e 93,3% relataram que utilizavam o hipoclorito de sódio como sanitizante, principalmente associado a detergente (40,0%, n=9). Ressalta-se que todas as entrevistadas desconheciam a técnica correta de higienização dos reservatórios

Corroborando com os achados do presente estudo, Oliveira et al., (2020) no Assentamento Florestan Fernandes, localizado entre os municípios de Guaçuí e São José do Calçado na região Sul do estado do Espírito Santo, observaram a presença de caixa d'água como reservatórios em 100% dos assentamentos avaliados e a captação desta ocorriam via gravidade. Em relação à higienização dos reservatórios, os autores citaram que em 62,5% era realizada e aconteciam com frequência entre 30 e 180 dias, quando verificada a forma de higienização em 37,5% era utilizada água, escova e hipoclorito de sódio, já 25,0% utilizavam somente água e escova.

A água pode ser contaminada desde a sua fonte, especialmente nos reservatórios domiciliares, devido, por exemplo, à vedação inadequada das cisternas e caixas d'água e/ou inexistência ou inadequada higienização destas, que deve acontecer de maneira regular e periódica (YAMAGUCHI, 2013), obedecendo ao passo-a-passo descrito no folheto do MS, intitulado "Procedimentos para desinfecção da caixa d'água" (BRASIL, 2014) e seguindo as orientações da ANVISA (BRASIL, 2004) quanto às características físicas do reservatório (estar livre de rachaduras, vazamentos, infiltrações, descascamentos dentre outros defeitos), estar devidamente tampado e com periodicidade de higienização de no máximo seis meses, devendo estas informações estar adequadamente documentadas em formulário próprio.



Figura 1. Condições sanitárias avaliadas em Unidade Produtora de Alimentos de um Empreendimento Econômico Solidário do Baixo Sul da Bahia, Brasil 2019. **A.** Reservatório utilizado em Unidade Produtora de Alimentos; **B.** Águas servidas lançadas diretamente no quintal de uma Unidade Produtora de Alimentos.

Fonte: Acervo da autora.

Prospecções de Portugal et al. (2015) ressaltaram que o controle de qualidade da água para produção de alimentos é indispensável, pois reduz os riscos à saúde dos consumidores, sendo assim, a água utilizada deve ser potável e a adoção de medidas para manter a qualidade faz-se necessária, principalmente no que diz respeito aos reservatórios.

Observou-se no bloco 4, relacionado ao saneamento básico (resíduos sólidos e esgoto), que 100% (n=15) das UPA possuíam banheiros, sendo a distância destes para o local de produção de até 5 metros em 60,0% (n=9) das UPA. A RDC n.º 216/2004 preconiza que as instalações sanitárias das UPA não devem se comunicar diretamente com a área de preparação, armazenamento de alimentos ou refeitórios e devem estar sempre organizados e em adequado estado de conservação (BRASIL, 2004).

Diferente do presente estudo, em trabalho realizado por Oliveira, (2004) em uma Unidade de Alimentação e Nutrição (UAN) do Distrito Federal, que objetivou implementar as Boas Práticas de Fabricação (BPF) na unidade, foi verificada a presença de instalações sanitárias totalmente independentes da área de produção. Segundo o autor, a correta localização dessas instalações nas UAN garantia a higiene adequada de seus manipuladores e, conseqüentemente, evitavam o risco de contaminação direta ou indireta dos alimentos na área de produção.

Foi verificada a presença de fossa em todas as UPA, entretanto o tipo de fossa predominante foi a do tipo fossa rudimentar em 60% (n=9) das UPA. As fossas rudimentares ou rudimentares são comumente encontradas nas zonas rurais do Brasil, onde não há coleta e tratamento de esgoto, são construídas de maneira rudimentar, cavada pelos moradores nos arredores de seus domicílios, com auxílio de pá e enxadas, sem revestimentos nas paredes, o que favorece a contaminação do lençol freático, uma vez que todos os efluentes domésticos (águas servidas, dejetos humanos) que entram por ela caem diretamente no solo podendo afetar a contaminação das cisternas, pois os rios e nascentes podem atuar de maneira inversa como área de recarga das captações, assim é preciso considerar a localização da fonte de água no local mais alto em comparação ao da fossa, com uma distância entre 30 e 100m entre elas (SILVA, 2014).

Durante a aplicação do *checklist*, as responsáveis pelas UPA relataram que a distância entre a cisterna e a fossa rudimentar era maior que 20m em 40,0% (n=6), porém a figura 2 mostra distância inferior em uma das UPA avaliadas.



Figura 2. Instalações da fossa rudimentar e da cisterna em uma Unidade Produtora de Alimentos de um Empreendimento Econômico Solidário do Baixo Sul da Bahia, Brasil, 2019.

Fonte: Acervo da autora.

O destino das águas servidas também foi investigado neste estudo, observando em 80,0% (n=12) das UPA que estas águas eram lançadas diretamente no ambiente sem tratamento prévio ou eram utilizadas para irrigação das hortas das responsáveis pelas UPA (Figura 1B), 13,3% (n=2) eram ligadas a rede de esgoto e em 6,7% (n=1) eram ligadas a rede pluvial. É importante ressaltar que as águas servidas ou efluentes domésticos devem ser descartadas de maneira adequada por meio de uma rede de esgotamento sanitário, ou seja, que recebam um tratamento adequado antes de serem lançadas no ambiente, assim os achados no presente estudo mostram um aumento no risco de contaminação das águas deste local, além da maior exposição da população local a doenças infecciosas, parasitárias e arboviroses. A Secretaria Nacional de Saneamento Ambiental (SNSA) reforça que as precárias condições ou a ausência de serviços de saneamento nas zonas rurais do país acarreta em baixa qualidade de vida, saúde e bem estar dos indivíduos devido ao aumento da exposição a diversas doenças (BRASIL, 2016).

O descarte dos resíduos sólidos foi avaliado e foi relatada a separação entre os resíduos sólidos comum e orgânicos em todas as UPA, o que é satisfatório, porém 86,7% (n=13) realizavam o descarte de resíduos sólidos comum por meio da queima a céu aberto, pois foi relatada a inexistência de coleta de resíduos sólidos nessas comunidades ou nas proximidades, haja vista que apenas havia coleta pública em 6,7% (n=1) das UPA. Salienta-se que a queima de resíduos sólidos, apesar de ser uma prática comum no meio rural, além de ser considerado crime ambiental, devido a sua contribuição para o aumento do efeito estufa, gera problemas de saúde, principalmente respiratórios, fazendo-se necessário o gerenciamento adequado dos resíduos produzidos (GOUVEIA, 2012).

Segundo Pasquali (2012), a inexistência da coleta de resíduos sólidos em áreas rurais gera dentre outras consequências o descarte inadequado dos mesmos,

seja através da queima a céu aberto, seja enterrado ou lançando em terrenos abandonados. Assim a Lei Federal nº 12.305 de 2010, institui a Política Nacional de Resíduos Sólidos (PNRS) e reúne um conjunto de diretrizes e ações acerca da gestão e gerenciamento adequado dos resíduos sólidos (BRASIL, 2010).

Por outro lado, os resíduos sólidos orgânicos eram descartados no quintal ou lançados nas hortas para servir de adubação por 53,3% (n=8) das UPA, em 40,0% (n=6) era realizada a compostagem e em 6,7% (n=1) era realizada a coleta pública. Ressalta-se que estes materiais devem passar por processos de tratamento, antes de serem descartados no ambiente, pois podem contribuir diretamente para a contaminação do solo, de fontes subterrâneas de água, como cisternas, nascentes, rios, lagos e/ou até mesmo contaminar os alimentos produzidos nas lavouras (FREITAS, 2019).

Nesse contexto, Machado et al. (2016), baseado no Projeto Nacional de Saneamento Rural (PNSR), caracteriza-o quanto as medidas que objetivam, a partir da manutenção do meio ambiente, prevenir doenças, melhorar a qualidade de vida e bem-estar das populações, e no tocante ao saneamento rural, alguns fatores são urgentes, dentre eles o abastecimento de água, o destino adequado dos resíduos e esgotamento sanitário das comunidades rurais.

Comparando os resultados do *checklist* com os resultados microbiológicos, não houve diferenças nas suas distribuições ($p>0,05$), à exceção do item presença de fossa sanitária com revestimento em relação à quantificação de bactérias heterotróficas ($p=0,028$), havendo uma associação significativa entre essas variáveis. Frente à avaliação das condições sanitárias da água utilizada nas UPA, a criação e implantação de programas governamentais de educação sanitária e ambiental, associada à conscientização dos sujeitos e financiamentos para a instalação de sistemas rurais de tratamento de água e coletas de resíduos tornam-se medidas essenciais para garantir e manter a saúde da população que ainda não tem acesso à água potável.

ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

Na tabela 1 e figura 3 foram expressos os resultados físico-químicos e microbiológicos obtidos a partir da análise da água das UPA e o padrão para água

de consumo humano de cada parâmetro de acordo com a PRC n.º 5/2017 do MS (BRASIL, 2017).

A PRC do MS não estabelece padrão para Ct no que diz respeito à água para consumo humano, pois este parâmetro é avaliado na mencionada Portaria com o objetivo de indicar a integridade dos sistemas de distribuição (rede e reservatórios) e a eficiência de tratamentos, logo não se aplica ao presente estudo, entretanto a densidade de Ct foi avaliada obtendo uma variação de $<1,0$ à $>2,4$ log.NMP.100mL⁻¹, e 80,0% (n=12) das amostras de água analisadas apresentaram Ct. Estes achados corroboram com os de Silva (2019), que avaliaram a qualidade de água dos mananciais subterrâneos de abastecimento de água da zona rural de Santa Rita (PB) e identificaram a presença de Ct em 80,0% dos pontos estudados.

Apesar da PRC do MS não estabelecer parâmetros para avaliação dos Ct, prospecções realizadas por Santana et al., (2003) apontam estes como indicadores microbiológicos da qualidade da água, pois são micro-organismos que são eliminados no ambiente através de animais de sangue quente em quantidades razoáveis, que, associada aos efluentes domésticos e dejetos humanos descartados sem tratamento, elevam a sua concentração, a presença de patógenos e a ocorrência no lençol freático e conseqüentemente nas fontes de água alternativas (cisternas, nascentes, lagos, rios). Para Silva e Oliveira (2014) uma das prováveis causas de contaminação de águas subterrâneas por Ct é a proximidade dos poços em relação às fossas rudimentares, fato observado também no presente estudo.

Segundo a PRC do MS (2017), para que a água seja considerada própria para o consumo humano, no que se refere aos achados microbiológicos, a mesma deve estar ausente de *Escherichia coli* em 100mL de água. Assim, 80,0% (n=12) das UPA avaliadas não atenderam aos parâmetros de potabilidade estabelecidos pela legislação vigente, com contagens de coliformes termotolerantes (CT) de $<1,0$ a $>2,4$ log.NMP.100mL⁻¹. Corroborando com o presente estudo, Sampaio et al., (2019) observaram água fora do padrão microbiológico para CT, exigido pela legislação em 80,0% (n=32) das amostras coletadas em fontes de propriedades rurais que abasteciam domicílios e agroindústrias alimentares da região do Planalto Catarinense – Santa Catarina (SC). Considerando que estes micro-organismos não

fazem parte da microbiota da água, a sua presença nesta pode ser originada, por exemplo, pela falta de saneamento básico.

Uma alternativa para melhoria da qualidade da água para consumo humano é a desinfecção, conforme preconizada no Artigo 24 da PRC n.º 5/2017 do MS (BRASIL, 2017) e reafirmada por Sampaio (2011) no estudo realizado em uma comunidade rural de São Paulo - SP, é a cloração da água antes do consumo, que possibilita a redução da presença de Ct e CT.

Outro parâmetro importante a ser avaliado para verificar a integridade do sistema de distribuição (reservatório e rede) é a contagem de bactérias heterotróficas, possibilitando indicar, dentre outros, a presença de colonização e formação de biofilmes no sistema de distribuição, logo podem representar riscos à saúde, bem como favorecer o surgimento de odor e sabor desagradáveis (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

Apesar da contagem de bactérias heterotróficas não se constituir um parâmetro a ser utilizado em caso de água para consumo humano (BRASIL, 2017), a sua contagem serve como indicador auxiliar de qualidade da água, pois fornece informações sobre possíveis falhas na desinfecção. Desta forma, as amostras analisadas apresentaram contagens de bactérias heterotróficas que variaram de $<1,0$ a $>4,5$ log.UFC.mL⁻¹ e 46,7% (n=7) das amostras apresentaram elevadas contagens desse importante indicador, que variaram de 3,0 a $>4,5$ log.UFC.mL⁻¹ (Tabela 1).

Semelhante aos achados deste estudo, Arbos et al. (2017) encontraram contagem superior a 2,7 log.UFC.mL⁻¹ de bactérias heterotróficas em 40,0% das amostras de água coletadas em domicílios da região do Planalto da Boa Esperança, João Pessoa-PB.

Tabela 1. Resultados dos parâmetros físico-químicos e microbiológicos de amostras de água coletadas em Unidades Produtoras de Alimentos de Empreendimento Econômico Solidário do Baixo Sul da Bahia, Brasil, 2019.

Local da coleta	Parâmetros microbiológicos			Parâmetros físico-químicos			
	Ct*(log NMP.100mL ⁻¹)	CT**(log NMP. 100mL ⁻¹)	Bac. Het.*** (log UFC. 100mL ⁻¹)	CE**** (µS . cm ⁻¹)	pH	T***** (°C)	OD***** (mg . L ⁻¹)
1	<1,0	<1,0	<1,0	42,9	4,0	28,4	34,8
2	1,7	1,7	3,0	39,8	7,0	26,7	34,2
3	1,9	1,9	1,9	39,7	5,7	27,1	29,8
4	2,1	1,3	<1,0	41,4	4,1	26,7	36,3
5	>2,4	>2,4	3,2	39,9	4,2	28,2	37,3
6	<1,0	<1,0	2,6	119,2	6,9	28,6	30,6
7	>2,4	>2,4	2,6	137,1	6,4	31,0	48,9
8	>2,4	>2,4	3,7	66,5	6,9	27,2	43,8
9	2,4	2,4	2,0	38,0	6,4	32,3	40,8
10	>2,4	>2,4	1,4	98,0	7,6	24,5	30,9
11	>2,4	>2,4	>4,5	37,3	4,9	28,1	39,2
12	>2,4	>2,4	>4,5	30,0	3,6	31,3	37,9
13	2,4	2,4	>4,5	34,2	3,2	29,0	37,2
14	2,1	2,1	3,8	57,2	4,5	28,8	35,8
15	<1,0	<1,0	<1,0	46,7	4,0	28,1	34,5
Média/DP^κ	2,1 ± 0,3	2,0 ± 0,4	2,7 ± 0,8	57,9 ± 33,3	5,3 ± 1,5	28,4 ± 2,0	36,8 ± 5,1
Padrões PRC nº 5/2017	*	Ausência em 100mL	----	----	----	----	----

Fonte: Dados da pesquisa. **Ct***- coliformes totais; **CT****- coliformes termotolerantes; **Bac. Het.***** - bactérias heterotróficas; **CE****** - Condutividade elétrica; **T******* - Temperatura; **OD******* - Oxigênio Dissolvido; **DP^κ** – Desvio Padrão.

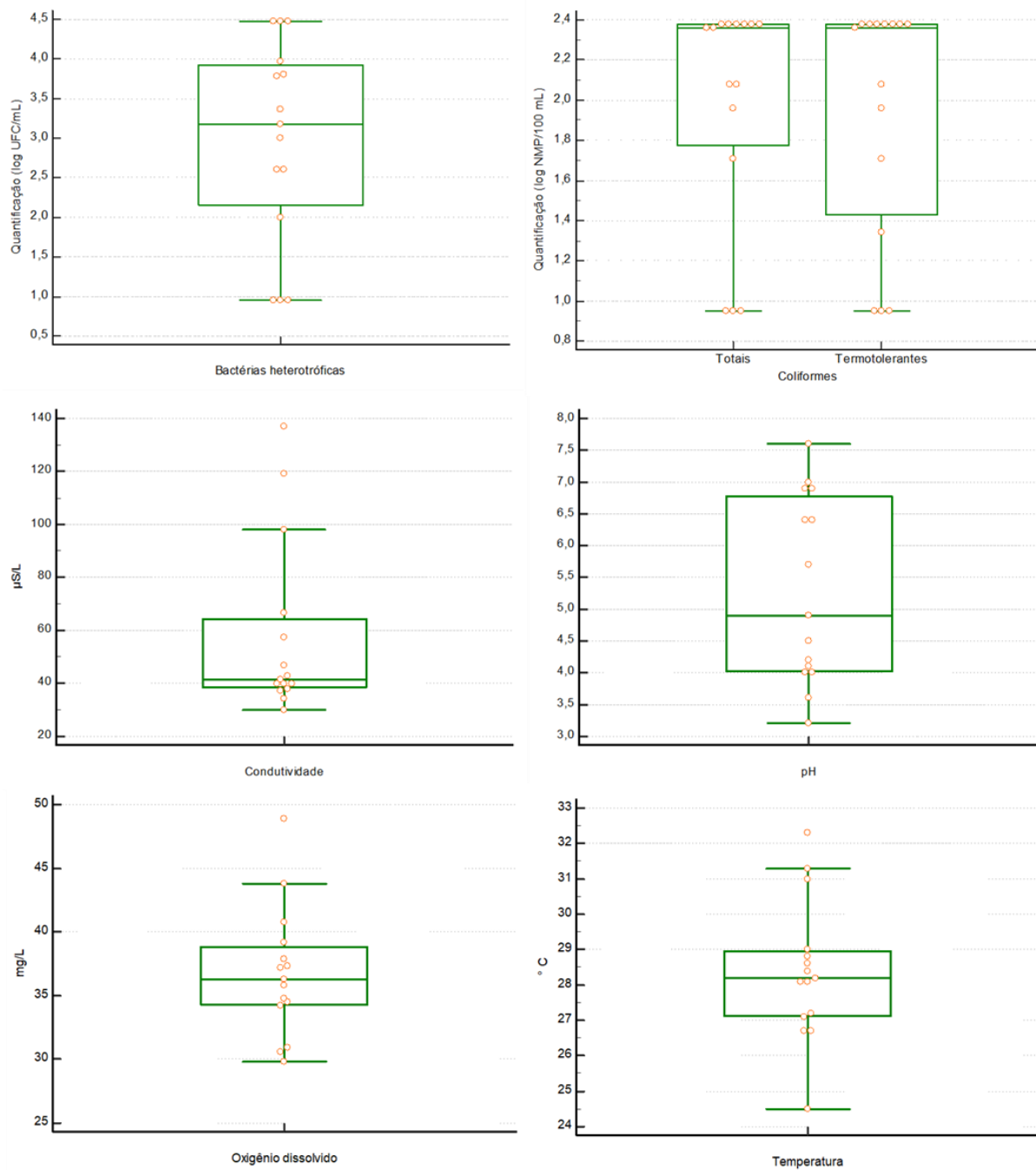


Figura 3. Resultados microbiológicos e físico-químicos de amostras de água coletadas em Unidades Produtoras de Alimentos de um Empreendimento Econômico Solidário do Baixo Sul da Bahia, Brasil, 2019.

ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICA

Em relação aos parâmetros físico-químicos da água, a PRC n.º 5/2017 do MS (BRASIL, 2017) estabelece o pH entre 6,0 a 9,5 como padrão de potabilidade no sistema de distribuição, logo este parâmetro não é aplicado ao presente estudo que

avaliou as águas destinadas ao consumo humano provenientes de fontes alternativas, ou seja, sem tratamento, todavia o pH das amostras variou de 3,2 a 7,6 e constatou-se que 60,0% (n=9) das amostras tiveram valores abaixo de seis (Tabela 1), demonstrando acidez. É possível inferir que as amostras 5, 11, 12, 13 e 14 apresentaram acidez de origem antropogênica (descarte de águas servidas sem tratamento no entorno das residências, queima de resíduos sólidos comuns a céu aberto, descarte dos resíduos sólidos orgânicos no entorno das residências etc.), por apresentarem valores de pH baixos associado a altas contagens microbiológicas.

Assis et al. (2017) e Brasil (2006) citaram que a avaliação deste parâmetro tem como objetivo reduzir problemas com incrustação e corrosão das redes de distribuição, uma vez que baixos valores de pH podem tornar a água mais corrosiva e valores elevados possibilitam o surgimento de incrustações. Apesar de não causar impactos diretos na saúde dos consumidores, um pH ácido, pode favorecer o crescimento e multiplicação de bactérias patogênicas como *Escherichia coli* e causar diversas doenças. Além disso, valores de pH dentro dos limites desejáveis (6,0 - 9,5) contribuem para maior estabilidade do cloro na água de abastecimento (BRASIL, 2006).

Apesar da legislação vigente não determinar a condutividade elétrica (CE) e o oxigênio dissolvido (OD) como padrões para a potabilidade da água, no presente estudo estes parâmetros foram avaliados, devido a sua importância para detecção de possível contaminação da água.

A CE da água é a capacidade de transmitir a corrente elétrica na presença de substâncias dissolvidas, dissociadas em ânions e cátions, ou seja, quanto maior a concentração de íons, maior a condução da corrente elétrica. Nesse sentido no presente estudo os achados variaram de 30,0 a 137,1 μ S/cm (Tabela 1), estando 13,3% (n=2) das amostras de água acima da faixa de referência do MS (10 a 100 μ S/cm), podendo indicar a contaminação dessas águas por esgotos domésticos (BRASIL, 2006).

Quanto ao OD, baixos teores ou a ausência indicam poluição da água. Desta forma, baixos teores ou inexistência de OD em águas de poços indicam provável contaminação dos lençóis freáticos por material orgânico (VEIGA, 2005). Os achados neste estudo variaram de 29,8 a 48,9mg/L (Tabela 2), sendo que o padrão

mínimo estabelecido na literatura é de 2mg/L a 5mg/L (BRASIL, 2006), assim pode-se inferir que os níveis deste parâmetro não indicaram a presença expressiva de poluentes em 100% (n=15) das amostras.

A legislação vigente não fornece faixas mínimas e máximas para a temperatura da água de consumo humano, entretanto é possível inferir que temperaturas como as encontradas no presente estudo (24,5°C e 32,3°C) favoreceram a multiplicação de bactérias do grupo coliformes, que se desenvolvem bem a temperaturas de até 37°C (SILVA et al., 2020). Além disso, a temperatura é influenciada por fatores como estação do ano, período do dia, profundidade, altitude e latitude. Assim, acredita-se que essa variação se deva ao fato de que as águas não foram coletadas no mesmo período do dia, sendo este fato observado por Assis et al. (2017), em estudo realizado com águas de domicílios e Estações de Tratamento de Água (ETA), no município de Salvaterra no Pará.

Comparando-se os parâmetros físico-químicos com os parâmetros microbiológicos foi possível identificar uma correlação positiva, muito alta e significativa entre coliformes totais com coliformes termotolerantes; e uma correlação positiva, moderada e significativa entre bactérias heterotróficas e oxigênio dissolvido com coliformes totais e termotolerantes (Tabela 2).

O conhecimento das condições microbiológicas e físico-químicas das amostras de água das UPA evidencia que a provável fonte de contaminação das águas nestes locais está diretamente relacionada às condições sanitárias a que essa população rural está submetida, ou seja, a falta de esgotamento sanitário e abastecimento de água potável favorecem, dentre outras consequências, a degradação do ecossistema e a exposição dos indivíduos a doenças, que podem ser originadas pela direta ingestão da água contaminada ou dos alimentos produzidos com ela (Figura 4).

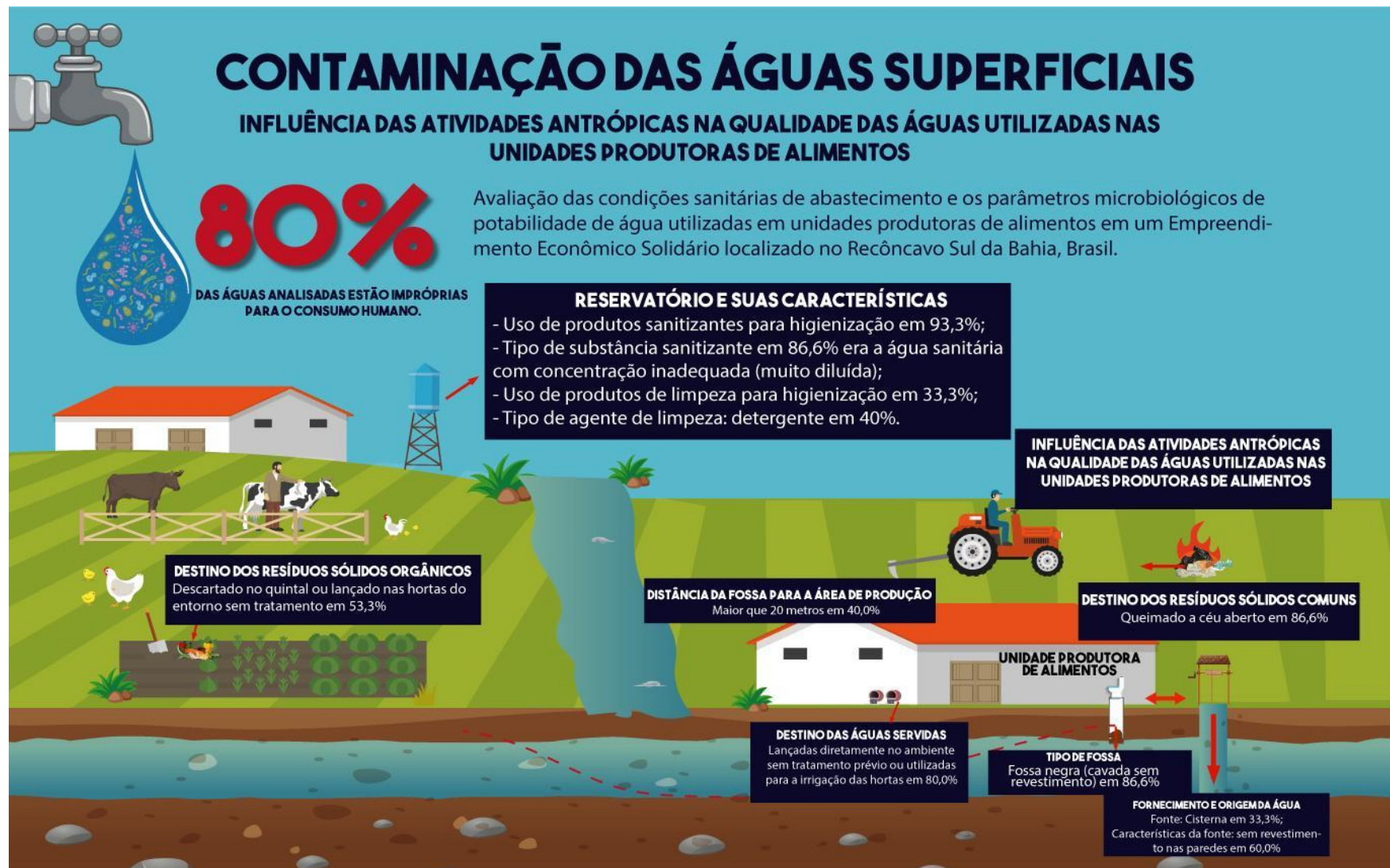


Figura 4. Influência da ação antrópica sobre a contaminação das águas superficiais utilizadas em um Empreendimento Econômico Solidário do Baixo Sul da Bahia, Brasil, 2019.

Fonte: Acervo da Autora.

Tabela 2. Correlação entre os parâmetros físico-químicos e microbiológicos de amostras de água coletadas em Unidades Produtoras de Alimentos de Empreendimento Econômico Solidário do Baixo Sul da Bahia, Brasil, 2019.

rô de Spearman	Coliformes totais	Coliformes termotolerantes	Bactérias heterotróficas	Condutividade	pH	Temperatura	Oxigênio dissolvido
Coliformes totais	1,000	0,956**	0,526*	-0,112	0,114	0,119	0,683**
Coliformes termotolerantes		1,000	0,522*	-0,185	0,205	0,229	0,684**
Bactérias heterotróficas			1,000	-0,470	-0,081	0,097	0,128
Condutividade				1,000	0,509	-0,202	-0,139
pH					1,000	-0,390	-0,149
Temperatura						1,000	0,503
Oxigênio dissolvido							1,000

** - A correlação é significativa no nível 0,01 (bilateral); * - A correlação é significativa no nível 0,05 (bilateral).

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos a partir da aplicação do *checklist* evidenciaram condições insatisfatórias do abastecimento da água influenciando diretamente em sua qualidade, o que pode ser justificado pela ausência de saneamento rural, ou seja, a água pode ser contaminada por dejetos domésticos, descarte incorreto dos resíduos sólidos, descarte sem tratamento das águas servidas, falhas ou ausência de higienização dos reservatórios.

Quanto às análises microbiológicas e físico-químicas das amostras de água, a maioria das UPA não atenderam ao padrão de potabilidade da água conforme parâmetros da legislação vigente, demonstrando a necessidade de acompanhamento periódico pelos órgãos competentes. Os resultados das análises microbiológicas demonstraram condições insatisfatórias de qualidade para algumas amostras, havendo a necessidade de ações corretivas, como a implantação de boas práticas nas UPA e higienização periódica dos reservatórios de água destas.

Assim, tendo em vista os resultados insatisfatórios e conhecendo a realidade da comunidade estudada, sugere-se a atuação efetiva do poder público nas três esferas de maneira a proporcionar a população local, qualidade de vida, desenvolvimento social e econômico, investindo em ações de educação sanitária via elaboração de material educativo como folders, cartazes e ações conjuntas com os municípios, além da elaboração e implantação de políticas públicas que contribuam para a diminuição das desigualdades sociais, ampliação do acesso ao saneamento rural associada a estruturação dos serviços de saúde voltadas para o saneamento rural, contribuindo assim para a prevenção de inúmeras DTA.

REFERÊNCIAS

ALVES, J.; N.; FLAVIANO, V.; KLEIN, L.; L.; LÖBLER, M.; L.; PEREIRA, B.; A.; D. A Economia Solidária no Centro das Discussões: um trabalho bibliométrico de estudos brasileiros. *Cadernos EBAPE.BR*, v. 14, n. 2, p. 244 – 257, 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/1679-395120257>.

ANDRADE, N.J.; MACEDO, J.A.B. *Higienização na Indústria de Alimentos*. São Paulo: Varela, 2008.

APHA. AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION; AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION – AWWA; WATER ENVIRONMENT ASSOCIATION-WEF. *Standard methods for the examination of water & wastewater*. 21st edition. Washington, 2005, p. 1496.

ARBOS, K. A.; ARAÚJO, I. M.; BORBA, L. O. F.; MELO, L. G. F. O.; SOARES, M. F. S. Qualidade microbiológica da água para consumo humano no loteamento Nova Esperança: Litoral Sul da Paraíba e sua importância para a saúde pública. *Rev. de Ciências da Saúde Nova Esperança*. v. 15, n. 2, p. 50-56, 2017. Disponível em: < <http://www.facene.com.br/wp-content/uploads/2010/11/7-QUALIDADE-MICROBIOL%C3%93GICA-DA-%C3%81GUA-PARA-CONSUMO-HUMANO.pdf>>. Acesso em: 26 Mai. 2020.

ASSIS, D. M. S.; LIMA, A. B.; SILVA, E. R. M.; SILVA, A. S.; BARBOSA, I. C. C. Avaliação dos Parâmetros Físico-Químicos da Água de Abastecimento em Diferentes Bairros do Município de Salvaterra (Arquipélago do Marajó, PA). *Revista Virtual de Química*, v. 9, n. 4, no prelo, 2017. Disponível: <<http://rvq-sub.sbq.org.br/index.php/rvq/article/view/2140>>. Acesso em: 05 Abr. 2020.

BRASIL. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA – ANVISA. Resolução - RDC nº 216 de 15 de setembro de 2004. Dispõe sobre o Regulamento Técnico de Boas Práticas para Serviços de Alimentação. *Diário*

Oficial [da] União, Brasília, 16 set. 2004. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/documents/33916/388704/RESOLU%25C3%2587%25C3%2583O-RDC%2BN%2B216%2BDE%2B15%2BDE%2BSETEMBRO%2BDE%2B2004.pdf/23701496-925d-4d4d-99aa-9d479b316c4b>>. Acesso em: 30 Abr. 2019.

BRASIL. Conselho Nacional de Saúde. Resolução nº 466, de 12 de dezembro de 2012. Aprova normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos. Brasília: *Diário Oficial da União*; 2013. Disponível em: <<https://conselho.saude.gov.br/resolucoes/2012/Reso466.pdf>>. Acesso em: 30 Abr. 2019.

BRASIL. Lei n.12.305 de 02 de agosto de 2010. Política Nacional de Resíduos Sólidos. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF. 2010. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2007-2010/2010/lei/l12305.htm>. Acesso em: 09 jun. 2020.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria de Consolidação nº. 5, de 28 de setembro de 2017. Dispõe sobre a Consolidação das normas sobre as ações e os serviços de saúde do Sistema Único de Saúde. *Diário Oficial da União*, Brasília, 28 de setembro de 2017. Disponível em: <https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2017/prc0005_03_10_2017.html>. Acesso em 30 Abr. 2020.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Vigilância e controle da qualidade da água para consumo humano/ Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. – Brasília: *Ministério da Saúde*, 2006. 212 p. Disponível em: <https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/vigilancia_controle_qualidade_agua.pdf>. Acesso em: 30 Abr. 2019.

BRASIL. Ministério das Cidades. *Gasto Público em Saneamento Básico – 2014*. Brasília, Secretaria Nacional de Saneamento Ambiental – SNSA. MINISTÉRIO DAS CIDADES, 2016. Disponível em: <https://www.mdr.gov.br/images/stories/ArquivosSNSA/Arquivos_PDF/gasto_publico_2014.pdf>. Acesso em: 30 Abr. 2019.

BRASIL. *Procedimentos para desinfecção da caixa d'água*. Ministério da Saúde, 2014. Disponível em: <http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/folder/procedimentos_desinfeccao_caixa_dagua_2014.pdf>. Acesso em: 04 dez. 2019.

BRASIL. Secretaria Nacional de Saneamento Ambiental. *Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento: diagnóstico dos serviços de água e esgotos – 2018*. Brasília, DF: Ministério das Cidades, 2019. Disponível em: <<http://www.snis.gov.br/downloads/diagnosticos/ae/2018/Diagnostico-SNIS-AE-2018-Capitulo-06.pdf>>. Acesso em: 30 abr. 2020.

CISAM/AMVAP – Conselho Intermunicipal de Saneamento Ambiental. *Manual de Saneamento Ambiental*. Uberlândia/MG, CISAM, 2006. Disponível em: <<https://www.passeidireto.com/arquivo/41561034/06-higiene-e-saneamento-rural>>. Acesso em: 04 dez. 2019.

CRUZ, F. T.; SCHNEIDER, S. Qualidade dos alimentos, escalas de produção e valorização de produtos tradicionais. *Revista Brasileira de Agroecologia*, v. 5, n. 2, p. 22-38, 2010. Disponível em: <https://orgprints.org/24508/1/Cruz_Qualidade.pdf>. Acesso em: 09 abr. 2020.

FRANCO, B.D.G.; LANDGRAF, M.. *Microbiologia dos alimentos*. 2.ed., Ed.: Atheneu(ed.), São Paulo; 2008, 184p.

FREITAS, L. C. P. F.; SANTOS, L. D. R.; ROSA, S. S. M.; FREITAS, B. E. P.; TIAGO, J. P. F.. Educação ambiental aplicada aos resíduos sólidos em uma

comunidade rural no estado de Minas Gerais, Brasil. *Nature and Conservation*, v.12, n.2, p.88-95, 2019. DOI: <http://doi.org/10.6008/CBPC2318-2881.2019.002.0009>.

GERMANO, P.M.L.; GERMANO, M.I.S. *Higiene e vigilância sanitária de alimentos*. São Paulo: Varela; 2003.

IRITANI, M. A. e EZAKI, S. *As Águas Subterrâneas do Estado de São Paulo*. São Paulo 2008.

LIBÂNEO, M. *Fundamentos de qualidade e tratamento de água*. 4. ed. Campinas: Átomo, 2016.

MACHADO, A. V. M.; SANTOS, J. A. N.; NOGUEIRA, L. T.; NOGUEIRA, M. T.; OLIVEIRA, P. A. D. Acesso ao abastecimento de água em comunidades rurais: o desafio de garantir os direitos humanos à água. XII Congresso Nacional de Excelência em Gestão. Rio de Janeiro, RJ, 2016. Disponível em: <http://www.inovarse.org/sites/default/files/T16_203.pdf>. Acesso em: 22 abr. 2020.

MICROSOFT. *Office Excel*. (Version 14.0) [Programa de computador]. 1 CD-ROM. 2010.

OLIVEIRA, A. M. Boas Práticas de Fabricação em uma Unidade de Alimentação do Distrito Federal. 2004. *Monografia (Especialização)* – Universidade de Brasília, Centro de Excelência em Turismo, Distrito Federal, 2004. Disponível em: <https://bdm.unb.br/bitstream/10483/487/1/2004_AndreaMoyaOliveira.pdf>. Acesso em: 25 mai. 2020.

OLIVEIRA, F. R.; CECÍLIO, R. A.; ZANETTI, S. S.; FERRAZ, F. T.. Qualidade de água e diagnóstico socioambiental das famílias do Assentamento Florestan

Fernandes. *Revista Caminhos de Geografia*, Uberlândia-MG, 2020. v. 21, n. 74, p. 226–240. DOI: <http://doi.org/10.14393/RCG217450284>.

PASQUALI, L.. Composição gravimétrica de resíduos sólidos recicláveis domiciliares no meio rural de Chopinzinho/PR. *Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento Regional)* - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, 2012. Disponível em: <https://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/bitstream/1/415/1/PB_PPGDR_M_Pasquali%20Luiz_2012.pdf>. Acesso em: 06 mar. 2020.

PORTUGAL, A. S. B.; IULIANELLO, J. M.; GOLTARA, M. C. A.; MEDEIROS, L. S.; SILVA, E. M. M; SÃO JOSÉ, J. F. B. Condições Higiênicossanitárias em Quiosques de Praia em Vila Velha-ES. *DEMETRA: Alimentação, Nutrição & Saúde*, v. 10, p. 845-856, 2015. DOI: <https://doi.org/10.12957/demetra.2015.16723>.

SAMPAIO, C. F.; ARAUJO, G. F. R.; ALVES, R. I. S.; TONANI, K. A. A.; RAGAZZI, M. F.; JULIÃO, F. C.; CARDOSO, O. O.; MUÑOZ, S. I. S.. Qualidade físico-química e microbiológica da água para o consumo humano e a relação com a saúde: estudo em uma comunidade rural no estado de São Paulo. *O Mundo da Saúde*, São Paulo, 2011. v 35, n.1, p. 98-104. DOI: <http://doi.org/10.15343/0104-7809.201135198104>.

SAMPAIO, C. A. de P., IDE, G. M., BATALHA, C. P., PEREIRA, L. C., BUENO, L. F. Análise técnica de água de fontes rurais. *Engenharia Sanitária e Ambiental*, v. 24, n. 2, p. 213– 217, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1590/s1413-41522019116954>.

SANTANA, A. S.; SILVA, S. C. F. L.; FARANI, I. O. JR.; Amaral, C. H. R.; Macedo, V. F. Qualidade microbiológica de águas minerais. *Ciência e Tecnologia Alimentos*, v. 23, p. 190-194, 2003. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0101-20612003000400035>.

SILVA, J. J. B.; MIRANDA, F. S.; ALMEIDA, J. S.; AMOR, A. L. M.; SILVA, I. M. M.. Contaminação microbiológica e parasitológica de vegetais, água e solo em comunidades rurais. *Afr. J. Microbiol. Res.* Vol.14 (1), pp. 8-15, janeiro 2020. DOI: <https://doi.org/10.5897/AJMR2019.9138>.

SILVA, A. S.. Qualidade de água de abastecimento na zona rural de Santa Rita - PB e propostas de melhoria. *Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento e Meio Ambiente)* - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2019. Disponível em: <https://repositorio.ufpb.br/jspui/bitstream/123456789/16882/1/Arquivototal.pdf>. Acesso em: 20 de ago. 2020.

SILVA, R. A.; OLIVEIRA, V. d. P. S. de. Mapeamento da qualidade de água subterrânea em São Francisco de Itabapoana – RJ. In: *CONGRESSO BRASILEIRO DE ÁGUAS SUBTERRÂNEAS*. Belo Horizonte: ABAS, 2014. v. 18, n. 1, p. 20. Disponível em: <https://aguassubterraneas.abas.org/asubterraneas/article/view/28300>. Acesso em: 05 de abr. 2020.

SILVA, W. T. L. DA. *Saneamento básico rural*. 1a ed. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica Coordenação, 2014. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/128259/1/ABC-Saneamento-basico-rural-ed01-2014.pdf>. Acesso em: 11 mai. 2020.

SILVEIRA, J. T.; CAPALONGA, R.; OLIVEIRA, A. B. A.; CARDOSO, M. R. I. Avaliação de parâmetros microbiológicos de potabilidade em amostras de água provenientes de escolas públicas. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, v. 70, n. 3, p. 362 -367, 2011. Disponível em: <https://pdfs.semanticscholar.org/bd9a/c2b19388997be4db79a49af75bdeb6edbea8.pdf>. Acesso em: 11 de mai. de 2020.

SIMONATO, D. C., FIGUEIREDO, R. A., DORNFELD, C. B., ESQUERDO, V. F.S., BERGAMASCO, S. M. P. P.. Saneamento rural e percepção ambiental em um assentamento rural - São Paulo – Brasil. *Revista Retratos de Assentamentos*, v. 22, n. 2, p.268 -280, 2019. DOI: 10.25059/2527-2594/retratosdeassentamentos/2019.v22i2.336.

UNESCO. *United Nations World Water Development Report 2019: Leaving No One Behind*. France, 2019. Disponível em: <https://unesdoc.unesco.org/ark:/48223/pf0000367306>. Acesso em: 11 mai. 2020.

VEIGA, G.. Análises físico-químicas e microbiológicas de água de poços de diferentes cidades da região Sul de Santa Catarina e efluentes líquidos industriais de algumas empresas da grande Florianópolis. *Trabalho de Conclusão de Curso*, Universidade Federal de Santa Catarina, 2005. Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/bitstream/handle/123456789/105056/Graziella_da_Veiga.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em 22 abr. 2020.

VOLKWEIS, D. S. H.; LAZZARETTI, J.; BOITA, E. R. F.; BENETTI, F. Qualidade microbiológica da água utilizada na produção de alimentos por agroindústrias familiares do município de Constantina/RS. *Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental*, v. 19, n. 1, p. 18–26, 2015. DOI: <http://dx.doi.org/105902/22361170> 19182.

WESCHENFELDER, S.; OLIVEIRA, B.; BAGATINI, L. B.; SAUERESSIG, M.; WILHELM, C. C.; VIANA, A. L. A produção de alimentos na economia solidária: uma questão que vai além da legislação. *5º Simpósio de Segurança Alimentar Alimentação e Saúde*. Bento Gonçalves, RS, 2015. Disponível em: <<http://www.ufrgs.br/sbctars-eventos/gerenciador/painel/trabalhosversaofinal/SSO133.pdf>>. Acesso em: 10 jun. 2019.

WHO/UNICEF. World Health Organization and The United Nations Children's Fund (Ed.). *Progress on Water Drinking House, Sanitation and Higiene 2000–2017: Foco especial nas desigualdades*. Switzerland: JMP, 2000-2017. 140 p. Disponível em: <<https://www.unicef.org/media/55276/file/Progress%20on%20drinking%20water,%20sanitation%20and%20hygiene%202019%20.pdf>>. Acesso em: 29 abr. 2020.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. *Guidelines for Drinking Water Quality*. 4th Ed. Geneva, 2011. Disponível em: <<https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/254637/9789241549950-eng.pdf;jsessionid=32455C5FF4CEE06C77A46F1331EB0FFA?sequence=1>>. Acesso em: 25 mai. 2020.

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*, São Paulo 2013;37(3):312-320. DOI: <https://doi.org/10.15343/0104-7809.2013373312320>.

CAPÍTULO 3

Qualidade microbiológica e caracterização genotípica de cepas de *Escherichia coli* isoladas de águas para a produção de alimentos em um Empreendimento Econômico Solidário

Qualidade microbiológica e caracterização genotípica de cepas de *Escherichia coli* isoladas de águas para a produção de alimentos em um Empreendimento Econômico Solidário

RESUMO

Objetivou-se avaliar a qualidade microbiológica e caracterizar genotipicamente as cepas de *Escherichia coli* isoladas de amostras de água utilizadas para a produção de alimentos em um EES do Baixo Sul da Bahia, Brasil. O estudo foi delineado da seguinte forma: Pré-intervenção (entre os meses de dezembro de 2018 a janeiro de 2019) e avaliação da intervenção (entre os meses de junho a setembro de 2019), com a realização de coleta, análise microbiológica e isolamento de cepas das amostras de água, entre estas foi realizada uma ação formativa com as agricultoras familiares (mês de abril de 2019) e por fim foi realizada a tentativa de caracterização genotípica das cepas de *Escherichia coli* isoladas na pré-intervenção e na avaliação desta. 15 amostras de água foram coletadas em cada etapa, totalizando 30 amostras, que em seguida foram realizadas a pesquisa detecção de *E. coli*, por meio da Técnica de Fermentação em Tubos Múltiplos que determina o Número Mais Provável (NMP) de bactérias do grupo dos coliformes, identificação, através de estriamento em placas de Petri com meio específico para *E. coli* e isolamento de cepas características de *Escherichia coli* para posterior extração do DNA e caracterização genotípicas das cepas. Os genes pesquisados foram a EHEC (*stx*) e EPEC (*bfpA*). Para a intervenção, foi elaborada uma apresentação expositiva bastante dinâmica, abordando temas como higienização de caixas d'água e uso de métodos alternativos para o tratamento da água. As contagens de Ct e CT na pré-intervenção, variaram de $<1,0$ à $>2,4$ log.NMP.100mL⁻¹, enquanto que na avaliação da intervenção, para os Ct a variação foi de $<1,0$ à $1,7$ log.NMP.100mL⁻¹ e para os CT foi de $<1,0$ à $>1,4$ log.NMP.100mL⁻¹, em percentuais, enquanto na pré-intervenção 80% das águas estavam contaminadas por Ct e CT, na avaliação da intervenção esse percentual foi reduzido para 33,3%. Não houve amplificação dos genes EHEC e EPEC pesquisados neste estudo. Devido à importância das *E. coli* para a saúde

publica, e sendo a água um potencial transmissor dessas bactérias, cabe ao poder público adotar medidas para o controle de potabilidade da água, bem como a vigilância rigorosa dos padrões que tornam a água potável são imprescindíveis para melhorar a qualidade deste recurso que é indispensável a vida.

Palavras-chave: gastroenterites, patótipos, ação educativa, isolamento de cepas.

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the microbiological quality and to characterize genotypically the strains of *Escherichia coli* isolated from water samples used for food production in an EES in the Lower South of Bahia, Brazil. The study was designed as follows: Pre-intervention (from December 2018 to January 2019) and intervention evaluation (from June to September 2019), with collection, microbiological analysis and isolation of strains of water samples, among them a training action was carried out with family farmers (April 2019) and finally, an attempt was made to genotype the strains of *Escherichia coli* isolated in the pre-intervention and in its evaluation. 15 water samples were collected at each stage, totaling 30 samples, which were then carried out to detect *E. coli* by means of the Multiple Tube Fermentation Technique that determines the Most Likely Number (NMP) of bacteria from the group of coliforms, identification, through streaking in Petri dishes with specific medium for *E. coli* and isolation of strains characteristic of *Escherichia coli* for later DNA extraction and genotypic characterization of the strains. The researched genes were EHEC (stx) and EPEC (bfpA). For the intervention, a very dynamic expository presentation was elaborated, addressing topics such as the cleaning of water tanks and the use of alternative methods for the treatment of water. The Ct and CT counts in the pre-intervention ranged from <1.0 to> 2.4 log.NMP.100mL⁻¹, whereas in the assessment of the intervention, for the Ct the variation was <1.0 to 1, 7 log.NMP.100mL⁻¹ and for CT it was <1.0 to> 1.4 log.NMP.100mL⁻¹, in percentages, while in the pre-intervention 80% of the waters were contaminated by Ct and CT, in the evaluation of the intervention, this percentage was reduced to 33.3%. There was no amplification of the EHEC and EPEC genes researched in this study. Due to the importance of *E. coli* for public health, and since water is a potential transmitter of these bacteria, it is up to the public authorities to adopt measures to control the potability of water, as well as strict monitoring of the standards that make drinking water essential. to improve the quality of this resource that life is indispensable.

KEY-WORDS: gastroenteritis, pathotypes, educational action, isolation of strains.

INTRODUÇÃO

As doenças de veiculação hídrica estão inseridas entre as Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA), pois tem sua origem na ingestão de água e alimentos contaminados com patógenos entéricos, e por serem uma das principais causas de doenças diarreicas nos países em desenvolvimento tanto em adultos como em crianças, são consideradas um importante problema de saúde pública (GRUBE et al., 2014; ALVES et al., 2018).

Segundo Silva et al., (2017) e Alves et al., (2018), a OMS estima que 88% das doenças diarreicas estão diretamente relacionadas com fatores ambientais, como pobreza, desnutrição, ingestão de alimentos com má qualidade, a ausência ou inadequado saneamento, a falta de higiene e principalmente a falta de acesso a água potável. Ainda de acordo com o relatório “*Progresso na Casa de Água Potável, Saneamento e Higiene 2000–2017: Foco especial nas desigualdades*” do UNICEF e da OMS, todos os anos, morrem por diarreia associada à água, saneamento básico e higiene inadequadas, 297 mil crianças menores de cinco anos (WHO/UNICEF, 2019).

Em áreas rurais, onde é comum a ausência de saneamento básico e de acesso à água potável, frequentemente são utilizadas fontes alternativas, como poços cavados manualmente, que não recebem nenhum tipo de tratamento eficaz e logo submetem a população local às DTA, principalmente a diarreia (FERREIRA et al., 2016; OLIVEIRA et al., 2018).

A *Escherichia coli* é um dos principais patógenos relacionados com a causa da diarreia, sendo a *E. coli* diarreiogênica (DEC) associada a gastroenterite. A DEC possui ainda patotipos que se diferem por mecanismos de patogenicidade e virulência e pelos sinais e sintomas clínicos observados nos infectados (HEBBELSTRUP JENSEN et al., 2014; FLECKENSTEIN et al., 2016).

A *E. coli* enteropatogênica (EPEC) pode ser dividida em típica e atípica. A EPEC típica (tEPEC) possui um fator de aderência, o plasmídeo *eaf*, codificador do pilus tipo IV (formador de feixe - *bfp*) e alguns tipos possuem o gene cromossômico *eae*, que codifica a proteína da membrana externa intimina, induzindo lesões de fixação e apagamento na mucosa intestinal, já a

EPEC atípica (aEPEC), não possui este plasmídeo (KAPER et al., 2004; ALIKHANI, et al., 2013).

A *E. coli* enterohemorrágica (produtora de toxina Shiga) (EHEC/STEC) tem como principal fator de virulência as toxinas Shiga (genes *stx*), também conhecidas como Verotoxina (*Vtx*), com seus dois subgrupos *stx*₁ e *stx*₂ (LUZADER et al., 2016), enquanto a EPEC afeta o intestino delgado, a EHEC afeta o cólon (HEBBELSTRUP JENSEN et al., 2014).

Devido a sua importância para a saúde pública e a sua recorrência em doenças entéricas, especialmente as associadas ao consumo de águas e alimentos contaminados, o presente estudo objetivou avaliar a qualidade microbiológica e caracterizar genotipicamente as cepas de *Escherichia coli* isoladas de amostras de água utilizadas para a produção de alimentos em um EES do Baixo Sul da Bahia, Brasil.

MATERIAL E MÉTODOS

Desenho do estudo

O presente estudo foi realizado em um Empreendimento Econômico Solidário (EES), localizado na zona rural de um município do Baixo Sul da Bahia, Brasil. O empreendimento é formado por 52 mulheres da Agricultura Familiar (AF), que estão distribuídas em 15 Unidades Produtoras de Alimentos (UPA) onde são produzidas e comercializadas uma grande variedade de preparações. Para a realização do presente estudo foram coletadas amostras de água utilizadas na produção de alimentos. O estudo foi delineado da seguinte forma: Pré-intervenção e avaliação da intervenção, com a realização de coleta, análise microbiológica e isolamento de cepas das amostras de água, entre estas foi realizada uma ação formativa com as agricultoras familiares e por fim foi realizada a caracterização genotípica das cepas de *Escherichia coli* isoladas na pré-intervenção e na avaliação desta.

COLETA, ANÁLISE MICROBIOLÓGICA E ISOLAMENTO DE CEPAS DAS AMOSTRAS DE ÁGUA

Amostragem e coleta

Foram coletadas 30 amostras de água para produção de alimentos, sendo 15 amostras durante a pré-intervenção e 15 amostras na avaliação da intervenção. As atividades da pré-intervenção foram realizadas entre dezembro de 2018 a janeiro de 2019 e a avaliação da intervenção ocorreu entre os meses de junho a setembro de 2019. As amostras de água (100mL de cada unidade) foram coletadas diretamente das torneiras das UPA, utilizando sacos estéreis e, em seguida, foram transportadas em caixas isotérmicas para o laboratório de Microbiologia do Complexo Multidisciplinar de Estudos e Pesquisa em Saúde (COMEPS) da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, onde foram analisadas.

Pesquisa, isolamento e identificação de *E. coli*

A técnica utilizada para detecção de *E. coli* foi a Técnica de Fermentação em Tubos Múltiplos que determina o Número Mais Provável (NMP) de bactérias do grupo dos coliformes, descrita no *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2005).

Para a identificação de colônias típicas de *Escherichia coli*, alíquotas foram retiradas das amostras de água positivas para coliformes termotolerantes e semeadas em placa de Petri contendo ágar Eosin Methylene Blue (EMB) (Kasvi) e incubadas a $37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ por $24-48\text{h} \pm 2\text{h}$. O isolamento das cepas foi realizado por meio da seleção de colônias com características de *E. coli* (reflexo verde metálico) e infundidas em caldo Brain Heart Infusion (BHI) (Himedia), incubadas a $37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ por $24-48\text{h} \pm 2\text{h}$ e posteriormente foram adicionadas 200 μL de glicerol a 15% e estocadas a -20°C para posterior extração do DNA seguindo metodologia descrita por Silva et al. (2011).

INTERVENÇÃO

A intervenção foi realizada no mês de abril de 2019, sendo elaborada com base em observações, diálogos com as agricultoras familiares e análises microbiológicas das águas coletadas no primeiro momento deste estudo. A ação contou com a participação de 24 mulheres, responsáveis pelas UPA.

Durante a intervenção intitulada “Qualidade da água para consumo”, laudos e um relatório técnico com os resultados obtidos foram apresentados e entregues às responsáveis por cada UPA, também foi elaborado um folder informativo (Apêndice II) que detalhava a correta lavagem e higienização dos reservatórios, bem como métodos alternativos de tratamento da água e uso de hipoclorito de sódio. Foram confeccionadas e apresentadas sugestões de planilhas de controle, com o objetivo de auxiliar no controle de prazos em relação a lavagem e higienização dos reservatórios e as trocas dos filtros.

Uma exposição dialogada foi realizada com o objetivo de esclarecer alguns questionamentos e dialogar com as cooperadas sobre a qualidade da água. Para facilitar a dinâmica durante a apresentação e favorecer a compreensão das mulheres no processo ensino-aprendizagem, os assuntos foram divididos em dois blocos.

No primeiro bloco foram explicados como realizar a interpretação dos resultados listados nos laudos e como preencher adequadamente as planilhas de controle que receberam. No bloco dois foi ensinada a adequada lavagem e higienização de caixas d’água, reservatórios alternativos (filtros, tambores, potes etc.), métodos alternativos para tratamento da água e sugestão de filtros que poderiam ser utilizados para melhorar a qualidade da água. Ressalta-se a contribuição significativa das mulheres durante a exposição, propiciando a troca de saberes entre as responsáveis pelas UPA e a equipe envolvida na ação educativa.

CARACTERIZAÇÃO GENOTÍPICA DAS CEPAS DE ESCHERICHIA COLI ISOLADAS NA PRÉ E PÓS-INTERVENÇÃO

Extração de DNA

Para extração do DNA foi empregada a técnica de Silva et al. (2011), na qual foi centrifugada a 13.200rpm por gravidade por 5min, 1mL da suspensão bacteriana cultivada em caldo BHI por 24h a 37°C. O sobrenadante foi descartado, e adicionou-se 800µL de água miliQ, em seguida as amostras foram homogeneizadas e centrifugadas nas condições citadas anteriormente.

Foi realizado o descarte do sobrenadante e adicionou 200µL de água miliQ, posteriormente as amostras foram submetidas a uma temperatura de 96°C por 10 minutos e o sobrenadante foi extraído e congelado até o uso no ensaio da Polimerase Chain Reaction (PCR).

Ensaio de PCR

Os genes de virulência de *E. coli* pesquisados no presente estudo foram os seguintes: stx, típico de *E. coli* enterohemorrágica (EHEC) e o gene bfpA, típico de *E. coli* enteropatogênica (EPEC). Para realização dos ensaios da PCR, foram utilizados os seguintes componentes: 10X PCR buffer; 10mM dNTP mix; Taq DNA polimerase (5U/µL); Água Mili-Q estéril; Iniciadores(10µL) (dois primers de cada gene) e DNA-molde (SILVA et al., 2011).

Na Tabela 1 estão descritas as condições da PCR (sequência dos primers e o tamanho do fragmento esperado na amplificação de cada gene em estudo), o termociclador utilizado nas reações de amplificação foi do tipo Mastercycler (Eppendorf®). Em câmara asséptica foram misturados os componentes da reação e distribuídos 19µL em tubos de polipropileno de 0,2mL. Em seguida, 1µL do lisado de cada amostra foi adicionado. A separação dos produtos de amplificação ocorreu mediante eletroforese em gel de agarose 2% utilizando equipamento Eletroforesis power supply EV 243™-Consort. Os produtos da PCR foram visualizados utilizando o corante para DNA Sybr Green. O tempo de corrida foi de aproximadamente 1 hora e 30 minutos, a 60 Volts e 250mA, com o auxílio de um transluminador ultravioleta (BDH®) os produtos amplificados foram observados. O controle negativo de ambos os genes pesquisados foi realizado com a adição de água nos tubos para PCR ao invés da adição do DNA molde, e o padrão de peso molecular foi o de 100pb, utilizado para aferir o tamanho do produto de DNA amplificado.

Tabela 1. Sequência dos primers, tamanho dos fragmentos amplificados e condições usadas na PCR.

Gene/ sorotipo	Sequência do primer 5'-3'	Tamanho do fragmento(pb)	Condições da PCR
stx / EHEC	TTT ACG ATA GAC TTC TCG AC CAC ATA TAA ATT ATT TCG CTC	227	5 min 94°C/35 ciclos de 1 min 94°C, 3 min 48°C e 4 min 72°C/10 min 72°C
bfpA / EPEC	AAT GGT GCT TGC GCT TGC TGC GCC GCT TTA TCC AAC CTG GTA	330	5 min 94°C/29 ciclos de 30 seg 94°C, 1 min 56°C e 2 min 72°C/10 min 72°C

Fonte: Adaptado de Silva et al. (2011).

TABULAÇÃO DE DADOS

A contagem de Ct e CT foi expressa em log NMP.100 mL⁻¹ e os dados encontrados no presente foram tabulados no software Microsoft Office Excel®, 2010, versão 14.0 (MICROSOFT, 2010).

ASPECTOS ÉTICOS

O estudo foi apreciado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFRB (CAAE 09931612.6.0000.0056), conforme determina a Resolução n.º 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde (BRASIL, 2012). Os participantes foram informados sobre a finalidade da pesquisa e deram anuência por meio do Termo de Consentimento Informado Livre e Esclarecido.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No presente estudo foram analisadas 30 amostras de água para consumo humano, as contagens de Ct e CT na pré-intervenção, variaram de

<1,0 a >2,4 log.NMP.100mL⁻¹, enquanto que na avaliação da intervenção, para os Ct a variação foi de <1,0 a 1,7 log.NMP.100mL⁻¹ e para os CT foi de <1,0 a >1,4 log.NMP.100mL⁻¹ como descrito na Tabela 2.

Em estudos realizados em um assentamento rural por Macedo et al. (2020) com águas destinadas para o consumo humano coletadas de fontes subterrâneas, 100% (n=58) das amostras apresentaram contaminação por coliformes totais e 62,1% (n=36) por *E. coli*. Segundo Grube et al. (2014) as bactérias do grupo coliformes, especialmente a *E. coli*, são comumente utilizadas como parâmetro de avaliação da qualidade da água devido a sua importância clínica e por isso devem ser incluídas na rotina de análises laboratoriais para o controle de qualidade da água de consumo humano.

Os resultados obtidos demonstraram ainda que após a adoção das medidas sugeridas durante a intervenção, a contagem de Ct e CT diminuiu de 80,0% (n=12) na pré-intervenção para 33,3% (n=5) na avaliação da intervenção. Estes achados sugerem que a adoção de medidas simples, como a lavagem e higienização periódica dos reservatórios e o uso de filtros são alternativas eficazes na redução da contaminação de águas por Ct e CT.

Nascimento et al. (2016) afirmam que a adoção de tratamentos alternativos para reduzir a população de micro-organismos na água de consumo podem minimizar riscos à saúde humana, desde que o mesmo seja executado de maneira correta, visando a obtenção de resultados satisfatórios na eliminação de patógenos.

Tabela 2. Densidade de coliformes totais e termotolerantes na pré-intervenção e na avaliação da intervenção de amostras de água destinadas à produção de alimentos em um Empreendimento Econômico Solidário do Baixo Sul da Bahia, Brasil, 2019.

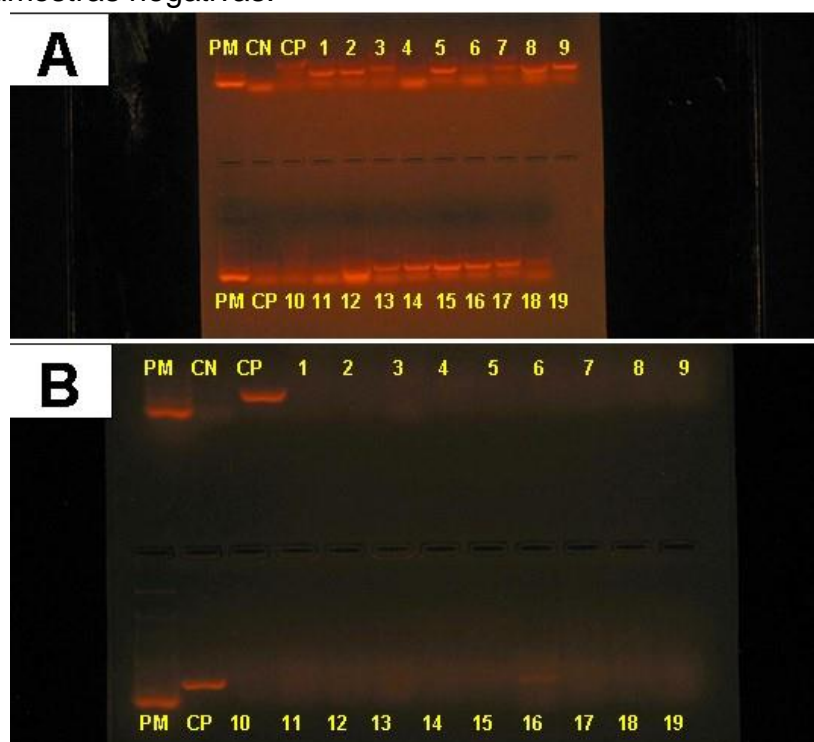
Local de coleta	PRÉ-INTERVENÇÃO		AVALIAÇÃO DA INTERVENÇÃO	
	Ct* (Log NMP.100mL ⁻¹)	CT** (Log NMP.100mL ⁻¹)	Ct* (Log NMP.100mL ⁻¹)	CT** (Log NMP.100mL ⁻¹)
1	<1,0	<1,0	-	-
2	1,7	1,7	1,0	1
3	1,9	1,9	1,0	1
4	2,1	1,3	1,0	1
5	>2,4	>2,4	>1,4	>1,4
6	<1,0	<1,0	-	-
7	>2,4	>2,4	>1,4	2
8	>2,4	>2,4	1,7	1
9	2,4	2,4	1,2	1
10	>2,4	>2,4	1,4	1
11	>2,4	>2,4	>1,4	1
12	>2,4	>2,4	>1,4	>1,4
13	2,4	2,4	>1,4	1,1
14	2,1	2,1	>1,4	1,1
15	<1,0	<1,0	-	-

Fonte: Dados da pesquisa. Ct* - Coliformes totais; CT** - Coliformes termotolerantes.

Das amostras que apresentaram turvação do caldo EC e formação de gás no tubo de Durhan, foram isoladas 19 cepas de *E. coli*, todas foram testadas para os genes *stx* e *bfpA* os quais são característicos dos patótipos EHEC e EPEC, respectivamente e em 100% (n=19) das cepas, não houve amplificação dos mesmos (Figura 1). Sugere-se que as cepas isoladas sejam de *E. coli* com genes de virulência diferentes dos analisados, ou que sejam de outros patótipos de *E. coli* ou ainda serem outras espécies que integram o grupo dos coliformes termotolerantes.

Corroborando com os achados deste estudo, Macedo et al. (2020) ao analisarem as cepas de *E. coli* isoladas de água de consumo em um assentamento rural, não observou amplificação para nenhum gene de EHEC. Já para a ETEC, duas amostras (8,33%) apresentaram o gene *St-Ib* e uma os genes *Lt* e *St-Ia*, entretanto não foi identificada amplificação do gene *bfpA* pesquisado neste estudo.

Figura 1. Fotografia do gel agarose a 2% da PCR para os genes *bfpA* (A) e *stx* (B) das cepas de *Escherichia coli* isoladas de água para consumo humano. **(A)** Tamanho do fragmento 330pb, PM - Peso Molecular 100pb, todas as amostras negativas; **(B)** Tamanho do fragmento 227pb, PM - Peso Molecular 100pb, todas as amostras negativas.



Fonte: Dados da pesquisa.

CONCLUSÃO

As medidas corretivas, como a higienização de reservatórios, a instalação de filtros e a formação dos manipuladores e responsáveis pela UPA, as quais foram adotadas para melhoria da potabilidade das águas destinadas à produção de alimentos artesanais, demonstraram ser uma estratégia eficaz e de baixo custo.

Apesar dos genes de virulência característicos de EPEC e EHEC não terem sido identificados nos isolados de *E. coli*, cepas patogênicas de *E. coli* presentes na água podem colocar em risco à saúde do consumidor, pois a presença de coliformes termotolerantes nas amostras de água confere o não atendimento ao padrão de potabilidade conforme a legislação sanitária vigente, necessitando assim de monitoramento da qualidade da água por parte das UPA e maior controle dos órgãos responsáveis.

REFERÊNCIAS

ALIKHANI, M.Y.; HASHEMI, S.H.; ASLANI, M.M.; FARAJNIA, S. Prevalence and antibiotic resistance patterns of diarrheagenic *E. coli* isolated from adolescents and adults in Hamedan, Western Iran. **Iran J Microbiol.** v.1 n. 5, p. 42-47. 2013.

ALVES, S. G. S.; ATAIDE, C. D. G.; SILVA, J. X. S.. Microbiológica de coliformes totais e termotolerantes em água de bebedouros de um parque público de Brasília, Distrito Federal. **Rev. Cient. Sena Aires**, v.1, n. 7, 2018.

APHA. AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION; AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION – AWWA; WATER ENVIRONMENT ASSOCIATION-WEF. **Standard methods for the examination of water & wastewater.** 21st edition. Washington, 2005, p. 1496.

BRASIL. Conselho Nacional de Saúde. Resolução nº 466, de 12 de dezembro de 2012. Aprova normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos. Brasília: **Diário Oficial da União**; 2013.

FERREIRA, D.C.; LUZ, S.L.B.; BUSS, D.F.. Evaluation of simple diffusion chlorinators for decontamination of wells in a rural settlement in Amazonia, Brazil. **Cien Saude Colet.** v.3, n. 21, p.767-76. 2016.

FLECKENSTEIN, J.M.; RASKO, D.A.. Overcoming enterotoxigenic *E. coli* pathogen diversity: Translational molecular approaches to inform vaccine design. **Methods Mol Biol.** n. 1403, p. 363-383. 2016.

GRUBE, J.S.; ERCUMEN, A.; COLFORD, J.M. Jr. Coliform bacteria as indicators of diarrheal risk in household drinking water: systematic review and meta-analysis. **PLoS One.** n. 9, p.107-429. 2014.

HEBBELSTRUP JENSEN, B.; OLSEN, K.E.P.; STRUVE, C.; KROGFELT, K.A.; PETERSEN, A.M.. Epidemiology and clinical manifestations of enteroaggregative *E. coli*. **Clin Microbiol Rev.** n. 27, p.614-630. 2014.

KAPER, J.B.; NATARO, J.P.; MOBLEY, H.L.T. Pathogenic *E. coli*. **Nat Rev Microbiol.** n. 2, p.123-140. 2004.

LUZADER, D.H.; WILLSEY, G.G.; WARGO, M.J.; KENDALL, M.M.. The type three secretion system 2-encoded regulator EtrB modulates enterohemorrhagic *E. coli* virulence gene expression. **Infect Immun.** v.19, n. 84, p. 2555-2565. 2016.

MACEDO, K. H.; SILVA, C. R.; DAMBROZIO, A. M. L.; KLEIN, A. L.; OLIVEIRA, W. D.; SANCHES, M. S. et al. Caracterização de *Escherichia coli* diarréiogênica isolada de água subterrânea para consumo humano em um assentamento rural. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, Londrina, v. 41, n. 2, p. 263-272, jul./dez. 2020. DOI: 10.5433/1679-0367.2020v41n2p263.

MICROSOFT. *Office Excel*. (Version 14.0) [Programa de computador]. 1 CD-ROM. 2010.

NASCIMENTO, K.,A.; FERREIRA, M. R.A.; BORGES, G. A.; MOREIRA, C. N. **Análise e orientações sobre a qualidade microbiológica da água não tratada utilizada para consumo humano em propriedades da zona rural e periurbana e em escolas rurais Jatai e entorno.** 2016. Disponível em: <https://files.cercomp.ufg.br/weby/up/399/o/KARLA_ALVARENGA_NASCIMENTO.pdf>. Acesso em: 12 jan. 2021.

OLIVEIRA, M. M.; LIMA, A. S.; MOUCHREK, A. N.; MARQUES, P. R. B. O.; MARQUES, C. V. V. C. O. Análise físico-química e microbiológica de águas de poços artesianos de uso independente. **Rev. Gestão e Sustentabilidade Ambiental.** v. 7, n. 3, p.624-639, jul/set. 2018.

SILVA, A.C.; YAMANAKA, E. H. U.; MONTEIRO, C. S. Monitoramento microbiológico da água de bicas em parques públicos de Curitiba (PR). **Rev. Engenharia Sanitária Ambiental**. v. 22, n.2, mar./abr. p: 271-275, 2017.

SILVA, I.M.M. et al . Caracterização genotípica dos isolados de *Escherichia coli* provenientes de frangos de corte. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, Belo Horizonte, v. 63, n. 2, p. 333-339, Apr. 2011.

WHO/UNICEF. World Health Organization and The United Nations Children's Fund (Ed.). **Progress on Water Drinking House, Sanitation and Higiene 2000– 2017: Foco especial nas desigualdades. Switzerland: JMP, 2000-2017.** 140 p. Disponível em: <
[https://www.unicef.org/media/55276/file/Progress%20on%20drinking%20water,
%20sanitation%20and%20hygiene%202019%20.pdf](https://www.unicef.org/media/55276/file/Progress%20on%20drinking%20water,%20sanitation%20and%20hygiene%202019%20.pdf)>. Acesso em: 10 jan. 2020.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Tendo em vista que o presente estudo avaliou as condições da água utilizada para a produção de alimentos em um EES e que as UPA estão localizadas em uma área rural, os levantamentos deste estudo apontaram para a realidade enfrentada pelas inúmeras populações que vivem nessas áreas, especialmente no que se refere a qualidade da água de consumo humano, que quando associada a ausência de saneamento básico e condições mínimas para a adequada higiene pessoal observadas nestes locais, gera preocupação.

Considerando o direito humano a água potável e ao saneamento, explícitos na Constituição Federal, pode-se inferir que o investimento em programas de vigilância da qualidade da água voltados para a informação e mobilização social se constituem em alternativas viáveis, especialmente nas áreas rurais.

A implementação de ações conjuntas (sociedade e poder público) voltadas para o controle da potabilidade da água, como a adoção de métodos alternativos de tratamento da água, capacitações em cooperativas que atuam na produção artesanal de alimentos e utilizam água de origem duvidosa, são exemplos de ferramentas a serem avaliadas.

A ausência de água potável e saneamento podem colocar as pessoas em risco de exclusão social, impedindo o desenvolvimento de estados, municípios e até do País. Desta forma, é necessária a participação ativa e efetiva dos governantes nas três esferas do governo, atuando de forma a criar e implementar políticas públicas de gestão integrada, voltadas para o abastecimento de água potável e saneamento rural, associadas a ações formativas na área de educação sanitária, visando a promoção da saúde dessas populações.

APÊNDICE

Apêndice I. Lista de verificação (*checklist*) elaborada para aplicação nas UPA localizadas no Baixo Sul da Bahia, Brasil, 2019.

CHECKLIST DA ÁGUA DE PRODUÇÃO

Nome do grupo: _____

Produto(s) produzido(s): _____

Responsável: _____ Data: ____/____/____

QUESTÕES	ALTERNATIVAS	OBSERVAÇÕES
BLOCO 1: FORNECIMENTO E ORIGEM DA ÁGUA PARA A PRODUÇÃO DE ALIMENTOS		
1-> Possui fornecimento de água no local?	() Sim () Não	
2-> Qual a origem da água utilizada na produção dos produtos?	() Cisterna () Cisterna de água da chuva () Poço artesiano () Água potável (EMBASA) () Nascente () Rio/lago/riacho () Outras: _____	
3-> Há quanto tempo utiliza esta água para a produção de alimentos?	() Até 4 anos () De 5 anos até 9 anos () ≥ a 10 anos	*Em caso de mais de uma opção na questão acima, especificar o tempo de cada uma no espaço destinado a observações.

4-> Qual o aspecto (cor) dessa água?	<input type="checkbox"/> Transparente <input type="checkbox"/> Turva <input type="checkbox"/> Possui partículas <input type="checkbox"/> Possui cor. Qual? _____ <input type="checkbox"/> Possui odor	
5-> Sobre o local de origem da água possui parede ou revestimento? Qual o material?	<input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não	*Em caso da resposta ser Cisterna, Cisterna de água da chuva ou Poço artesiano.
	Material:	
	<input type="checkbox"/> Alvenaria <input type="checkbox"/> Concreto <input type="checkbox"/> Ferro + cimento <input type="checkbox"/> Placas de cimento <input type="checkbox"/> Tela <input type="checkbox"/> Não sabe	
6-> A parede ou revestimento do local de origem da água possui rachaduras ou infiltrações?	<input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Não se aplica	*Em caso da resposta ser Cisterna, Cisterna de água da chuva ou Poço artesiano.
7-> A abertura do local de origem da água possui proteção contra animais?	<input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não	*Em caso da resposta ser Cisterna, Cisterna de água da chuva ou Poço artesiano.
8-> Há tampa nesta abertura?	<input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não	
9-> A tampa da abertura veda?	<input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não	

BLOCO 2: TRATAMENTO DA ÁGUA PARA A PRODUÇÃO DE ALIMENTOS

10-> A água utilizada na produção de alimentos é:

- Filtrada (Filtro de barro com vela)
- Filtrada (Tecido)
- Filtrada (Purificador de água)
- Fervida
- Direto da torneira
- Direto da fonte
- Água mineral

11-> Faz uso de alguma substância química na água para produção de alimentos? Se sim, qual ou quais?

Sim Não

Se sim, explicar qual a quantidade utilizada por litro de água.

Produtos: Não se Aplica

- Hipoclorito de sódio/água sanitária
- Bicarbonato de sódio
- Vinagre
- Outro: _____

12 --> Usa a substância corretamente?

Sim Não

Não se Aplica

13 --> Usa a substância incorretamente?

Sim Não

Não se Aplica

BLOCO 3: RESERVATÓRIO E SUAS CARACTERÍSTICAS

14-> Possui reservatório para armazenamento da água? Se sim, de que material é o reservatório? () Sim () Não

Material:

- () Poliéster
- () Fibra de vidro
- () Concreto
- () Aço carbono
- () Outro:

15-> O reservatório é higienizado? Se sim, qual a periodicidade? () Sim () Não

Periodicidade:

- () 1 x por mês
- () 2 x por mês
- () A cada 3 meses
- () 1 x por ano
- () 2 x por ano
- () A cada 2 meses
- () Nunca fez
- () Não sabe/não lembra

*Se sim, explicar como é feita a higienização.

16-> Faz uso de substância sanitizante? Qual (is)? () Sim () Não

Substância/Produto:

- () Hipoclorito de sódio
- () Não usa nada

*Se sim, explicar qual a quantidade utilizada por litro de água.

17 -> Faz uso de agente de limpeza? Qual (is)? Sim Não

Substância/Produto:

- Sabão em pó
- Detergente
- Não usa nada

18-> O reservatório possui tampa? Sim Não

*Se possível solicitar visualização do reservatório para verificar as condições do mesmo.

19-> A tampa do reservatório veda? Sim Não

BLOCO 4: SANEAMENTO BÁSICO (LIXO E ESGOTO)

20-> Há banheiro na área de produção de alimentos? Sim Não

Se SIM, continuar a sequência de perguntas.
Se NÃO, pular para a questão 20.

21-> Qual a distância desse banheiro da área de produção de alimentos?


- Até 5 metros
- De 6 metros até 9 metros
- ≥ a 10 metros
- Não sabe

22-> O banheiro é ligado a uma rede de esgoto com fossa sanitária? Sim Não

- 23-> De que material é a fossa?**
- Alvenaria
 - Tambor de plástico
 - Séptica (com revestimento e paredes)
 - Não sabe
- 24-> Qual a distância da fossa do local de produção de alimentos?**
- 10 metros
 - > 10 metros
 - 5 metros
 - < 5 metros
 - Não sabe
- 25-> Qual o destino das águas servidas (das pias, torneiras, chuveiro, vaso sanitário, tanques etc...)?**
- Ligada a rede de esgoto
 - Ligada a rede pluvial
 - Lançada diretamente no ambiente
- 26-> Sobre o destino do lixo comum, qual a forma de descarte deste?**
- Queimado
 - Enterrado
 - Carro de coleta do órgão público
 - Descarte no quintal
 - Outro. Especificar: _____
- 27-> Sobre o destino do lixo orgânico, qual a forma de descarte deste?**
- Carro de coleta do órgão público
 - Descarte no quintal
 - Compostagem
 - Outro. Especificar: _____

APÊNDICE II

Apêndice II. Folder informativo Qualidade da água para consumo.




Como tratar a água para consumo?

- ✓ Filtração com filtros de vela;
- ✓ Filtração com coador de pano + fervura;
- ✓ Uso de filtro com carvão ativado;
- ✓ Coador de pano + hipoclorito de sódio (2,5%).

Água	Hipoclorito de sódio (2,5%)
1 litro	2 gotas
20 litros	1 colher das de chá
200 litros	1 colher das de sopa
1.000 litros	2 copinhos de café (descartável)

Modo de higienização

- Para cada litro de água para consumo humano, adicionar duas gotas de hipoclorito de sódio (2,5%);
- Deixar repousar por 30 minutos.



- #### Equipe
- ✓ Ana Gabriela Freitas
 - ✓ Camila ~~Tanan~~
 - ✓ Edileide Santana
 - ✓ Fernanda Freitas
 - ✓ Fabiana Souza
 - ✓ Isabella Matos
 - ✓ ~~Jaijala~~ Nascimento
 - ✓ Jamile Góes
 - ✓ Valéria Camilo

Apoio



UF B
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia

Incuba
CENTRO DE INOVAÇÃO E GESTÃO DE NEGÓCIOS

Qualidade da Água para consumo



LAVAGEM E HIGIENIZAÇÃO DA CAIXA D'ÁGUA

- 1** Usar bota e luvas. Feche o registro de entrada da água.



- 2** Esvazie a caixa d'água, armazenando a água em recipientes para uso posterior, ou ao usar o banheiro através de descargas.



- 3** Quando a caixa estiver quase vazia, feche a saída e utilize a água que restou para a limpeza da caixa. Esfregue as paredes e o fundo da caixa utilizando panos e escova macia ou esponja. Nunca use sabão, detergente ou outros produtos.



- 4** Retire a água suja que restou da limpeza, usando balde e panos, deixando a caixa totalmente limpa.



- 5** Deixe entrar água na caixa até encher e acrescente **1 litro de água sanitária (2,5%) para cada 1.000 litros de água**. Aguarde por duas horas (2 horas) para desinfecção do reservatório.



- 6** Esvazie a caixa. Esta água servirá para limpeza e desinfecção das canalizações e do domicílio.



- 7** Tampe bem a caixa d'água para que não entrem sujidades, pequenos animais ou insetos.



- 8** Anote a data da limpeza do lado de fora da caixa e abra a entrada de água.

