

PARAMETRO: Coliformes Totais e Fecais

MÉTODO: Membrana filtrante em meio cromogênico

BIBLIOGRAFIA: APHA. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. Washington: American Public Health Association, ed. 20, 1998.

1. INTRODUÇÃO

Desde o início da bacteriologia sanitária, marcada pela observação de Escherich em 1885, de que o *Bacillus coli* (*Escherichia coli*) poderia ser usado como indicador de na avaliação da contaminação fecal da água – as bactérias do grupo coliforme tem sido extensivamente utilizadas na avaliação da qualidade das águas, sendo até hoje o parâmetro microbiológico básico incluído nas legislações relativas a águas para consumo humano.

Para a avaliação das condições sanitárias de uma água, utilizam-se bactérias do grupo coliforme, que atuam como indicadores de poluição fecal, pois estão sempre presentes no trato intestinal humano de outros animais homeotermos, sendo eliminadas em grandes números pelas fezes. A presença de coliformes na água indica poluição, com o risco potencial da presença de organismos patogênicos, e uma vez que são mais resistentes na água do que as bactérias patogênicas de origem intestinal.

COLIFORMES TOTAIS: grupo de bactérias constituído por bacilos gram-negativos, aeróbios ou anaeróbios facultativos, não formadores de esporos, oxidase-negativos, capazes de crescer na presença de sais biliares ou outros compostos ativos de superfície (surfactantes), com propriedades similares de inibição de crescimento, e que fermentam a lactose com produção de aldeído, ácido e gás a 35°C em 24 horas. O grupo inclui os seguintes gêneros: *Escherichia*, *Citrobacter*, *Enterobacter* e *Klebsiella*.

COLIFORMES FECAIS OU COLIFORMES TERMOTOLERANTES: são coliformes capazes de se desenvolver e fermentar a lactose com produção de ácido e gás à temperatura de $44,5 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$ em 24 horas. O principal componente deste grupo é *Escherichia coli*, sendo que alguns coliformes do gênero *Klebsiella* também apresentam essa capacidade.

2. OBJETIVO

Este método tem como objetivo a detecção de coliformes (totais e fecais) em amostras de água, através do teste de Unidade Formadora Colônia, com aplicação na avaliação da qualidade bacteriológica de águas destinadas a consumo humano.

3. APARELHAGEM

3.1. Equipamentos, vidrarias, outros.

Destilador de água, equipamentos para esterilização (autoclave, estufa de esterilização), incubadora bacteriológica, provetas de 100ml, frasco para coleta da amostra âmbar, pinça, sistema de filtração (copo 250ml, base, kytassato, garra), membrana de acetato de celulose quadriculada, bico de Bunsen, pipetas, fluxo laminar.



<http://www.pro-analise.com.br/downloads/Merck%20Chromocult%20coliform.pdf>

3.2. Meio de cultura

Chromocult Coliform Agar.....	2,65 g
Água destilada (esterilizada).....	100mL

Dentro de uma garrafa com tampa homoegeinizar bastante;

Levar ao microondas por 2 minutos quebrado, com a tampa entre aberta;

Levar para o fluxo laminar e espalhar nas placas ainda quente (Figura 1 e 2).

Esperas esfriar e armazená-los na na geladeira.



Figura 1: Placas de petri e meio de cultura; **Figura 2:** Meio de cultura em placas de petri

4. PROCEDIMENTO

- a) Antes de iniciar a análise, desinfetar a bancada de trabalho, usando desinfetante.
- b) Dispor sobre a bancada de trabalho o material necessário para a execução do exame.
- c) Identificar os frascos com o número da amostra.
- d) Acender o Bico de Bunsen, para manter o ambiente asséptico.
- e) Homogeneizar a amostra suavemente.
- f) Dosar 1 mL da amostra em proveta estéril e proceder à inoculação.
- g) Colocar 99mL de água previamente esterilizada.
- h) Após a inoculação das amostras, efetuar a incubação a 35 a 38 °C, durante 24 h.
- i) Após esse período de incubação, efetuar a leitura, considerando como resultado positivo à acidificação do meio (evidenciado pela mudança de sua coloração de preto e azul denominadas de coliformes fecais; lilás, vermelha, azul e pretas denominadas de coliformes totais), com ou sem produção de gás.



Sistema de filtragem



Dosagem amostra com pipeta



Inoculação amostra na proveta



Inserindo água esterilizada na proveta



Filtragem da amostra



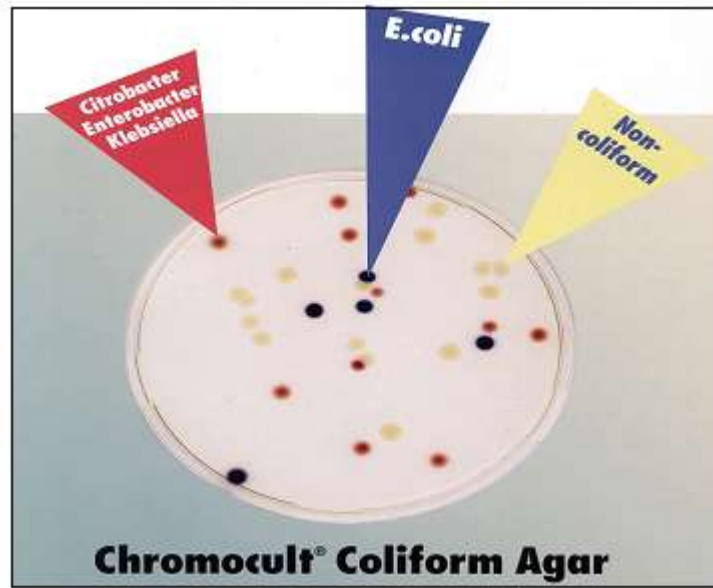
Retirada da membrana quadriculada



Membrana sob o meio de cultura



Placa após 24hs.



<http://www.pro-analise.com.br/downloads/Merck%20Chromocult%20coliform.pdf>