

## CONDIÇÕES SANITÁRIAS DAS ÁGUAS DE IRRIGAÇÃO DE HORTAS DO MUNICÍPIO DE SÃO PAULO <sup>(1)</sup>

### I. Determinação da intensidade de poluição fecal através NMP de coliformes e de *E. coli*

Dacio de Almeida CHRISTOVÃO  
Sebastião Timo IARIA  
José Alberto N. CANDEIAS

---

Águas de irrigação de onze hortas do município de São Paulo foram examinadas bacteriológicamente. Em cada horta foram colhidas cinco amostras em pontos diferentes; para cada uma delas fizeram-se duas determinações do NMP/100 ml tanto para bactérias coliformes como para *Escherichia coli*. Todas as amostras revelaram poluição fecal em intensidade considerável, mostrando o estado sanitário inteiramente insatisfatório dessas águas e a necessidade de se estabelecerem medidas mais rigorosas para o seu controle.

---

#### INTRODUÇÃO

O controle sanitário das águas utilizadas na irrigação de hortaliças consumidas pela população, principalmente no que se refere àquelas ingeridas cruas, é de grande importância em Saúde Pública uma vez que podem servir de veículo de contaminação desses alimentos.

Entre nós, CHRISTOVÃO <sup>4</sup> (1958) demonstrou, através de exames bacteriológicos, a constante poluição fecal das alfaces, vendidas nas feiras livres do município de São Paulo. Esta poluição poderia estar relacionada com a má qualidade das águas usadas na irrigação.

A simples inspeção das hortas, como se faz entre nós, permite às vezes verificar-se que o estado sanitário das suas águas é inaceitável. Mais freqüentemente, no entanto, somente o exame bacteriológico destas águas permitirá a avaliação real das suas condições. Não se dispendo de dados bacteriológicos relativos à po-

lução das águas de irrigação de hortas em nosso meio, realizou-se o presente estudo com o fim de julgar-se da possível existência de situação capaz de acarretar riscos indiretos à saúde pública.

#### MATERIAL E MÉTODOS

##### *Coleta e transporte das amostras*

A seleção das hortas, cujas águas foram examinadas, foi realizada com a colaboração de dois fiscais sanitários da Seção de Epidemiologia e Profilaxias Gerais do Departamento de Saúde da Secretaria da Saúde e da Assistência Social do Estado de São Paulo, os quais se fizeram presentes em todas as ocasiões de coleta das amostras. Por indicação dos fiscais, foram selecionadas onze hortas representativas daquelas em pior situação sanitária. Sete hortas eram de produção

---

Recebido para publicação em 8-6-1967.

(1) Da Cadeira de Microbiologia e Imunologia Aplicadas da Faculdade de Higiene e Saúde Pública da USP.

mista (A, B, C, D, E, F e G) e quatro dedicadas ao cultivo exclusivo de alface (H, I, J, e K). De cada uma colheram-se, em cinco locais diferentes, amostras da água usada na irrigação.

A água em tôdas as hortas era obtida de um ou mais córregos e o sistema de irrigação utilizado era sempre o de aspersão.

Nos meses de outubro de 1960 e 1961, colheram-se 55 amostras de água de onze hortas, utilizando-se para tal frascos estéreis de 250 ml, com tampa esmerilhada. O seu transporte foi sempre feito em caixa apropriada, contendo gelo. O tempo decorrido entre a coleta das amostras e o início do exame foi em média aproximadamente de duas horas e meia.

#### *Exame bacteriológico*

De cada amostra foram preparadas duas séries de diluições decimais até  $10^{-4}$ , usando-se como diluente água fosfatada estéril, para as determinações em duplicata dos NMP, quer de bactérias coliformes, quer de *E. coli*.

De cada série inocularam-se três tubos de caldo lactosado, sem tubo de Durham, com 1 ml de cada uma das suas diluições, tendo sido inoculados também, ainda em duplicata, três tubos do mesmo meio com 1 ml da água não diluída. A incubação das culturas foi feita a  $35^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$  por 24 horas.

#### *Pesquisas de coliformes*

Após a incubação, de todos os tubos com turvação procedeu-se à passagem em placas de agar eosina azul de metileno de Levine (Difco) e estas foram incubadas a  $35^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$  por 24 horas.

De cada placa escolheram-se duas colônias de bactérias fermentadoras da lactose e cada uma delas foi semeada em tubo de caldo lactosado com tubo de Durham e em tubo de agar simples inclinado, os quais foram incubados a  $35^{\circ}\text{C}$ .

Consideravam-se as provas completas positivas para coliformes, quando os tubos de caldo lactosado, após 24-48 horas, revelavam a presença de gás e os esfregaços feitos a partir da cultura de 24 horas em agar inclinado mostravam somente bacilos gram-negativos não esporulados.

#### *Pesquisa de Escherichia coli*

De cada um dos tubos de caldo lactosado que mostrava qualquer turvação, foi feito repique para tubos de caldo lactose-ácido bórico e estes foram incubados em estufa a  $43^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$  por 24 horas.

Em seguida, de cada tubo que revelava presença de gás, procedeu-se à passagem em placas de agar eosina azul de metileno de Levine (Difco), incubando-as posteriormente a  $35^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$  por 24 horas. Findo este período, de cada placa selecionaram-se duas colônias de bactérias fermentadoras de lactose (de preferência típica de *E. coli*) e cada uma foi inoculada em tubo de caldo lactosado com tubo de Durham e em tubo de agar simples inclinado, os quais foram incubados a  $35^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ .

Havendo produção de gás no caldo lactosado após 24-48 horas e revelando-se somente bacilos gram-negativos no esfregaço feito a partir das culturas de 24 horas em agar simples inclinado, semeava-se cada cepa isolada nos meios para as provas de Voges Proskauer e do aproveitamento do citrato (ViC). Quando ambas as provas eram negativas, considerava-se a bactéria inoculada como sendo *Escherichia coli*.

Na determinação do número de coliformes e de *E. coli* a semeadura inicial das amostras de água e das suas diluições foi feita em caldo lactosado sem tubo de Durham, uma vez que este caldo era usado apenas como meio de enriquecimento (CHRISTOVÃO <sup>4</sup>, 1958) das bactérias pesquisadas e não como indicador presuntivo da presença de coliformes.

Nas demais provas, seguiram-se técnicas padrões para o exame de água (APHA<sup>1</sup> 1955).

As determinações dos NMP para coliformes e *E. coli* foram feitas após as realizações das provas finais, ou sejam, respectivamente, a completa e as do ViC.

RESULTADOS

Na Tabela I estão relacionados os NMP, por 100 ml, de bactérias coliformes e de *E. coli* obtidos, em duplicata, a partir de cada uma das cinco amostras de água de cada horta.

TABELA I

NMP, por 100 ml, de coliformes e *E. coli* nas águas de irrigação de hortas que abastecem o município de São Paulo, examinadas em 1960 e 1961

Hortas	Amostras	Sub-Amostras	NMP/100 ml	
			Coliformes	<i>E. coli</i>
A	1	a	93.000	2.300
		b	93.000	15.000
	2	a	150.000	9.300
		b	93.000	1.500
	3	a	9.300	930
		b	7.500	2.300
	4	a	15.000	430
		b	1.500	930
	5	a	> 1.100.000	> 1.100.000
		b	> 1.100.000	> 1.100.000
B	1	a	460.000	93.000
		b	1.100.000	1.100.000
	2	a	210.000	1.500
		b	29.000	4.300
	3	a	43.000	43.000
		b	21.000	15.000
	4	a	4.300	430
		b	930	430
	5	a	> 1.100.000	210.000
		b	> 1.100.000	> 1.100.000
C	1	a	1.100.000	1.100.000
		b	> 1.100.000	460.000
	2	a	4.300	2.300
		b	21.000	4.300
	3	a	930	36
		b	4.300	91
	4	a	9.300	30
		b	3.600	30
	5	a	93.000	43.000
		b	240.000	23.000

CHRISTOVAO, D. de A.; IARIA, S. T.; CANDEIAS, J. A. N. — Condições sanitárias das águas de irrigação de hortas. I. *Rev. Saúde públ.*, S. Paulo, 1(1):3-11, jun. 1967.

Hortas	Amostras	Sub-Amostras	NMP/100 ml	
			Coliformes	<i>E. coli</i>
D	1	a	3.500	2.100
		b	460.000	93.000
	2	a	23.000	930
		b	9.300	1.500
	3	a	4.400	230
		b	9.300	930
	4	a	15.000	9.300
		b	9.300	2.300
	5	a	200	91
		b	260	36
E	1	a	> 1.100.000	290.000
		b	1.100.000	210.000
	2	a	9.300	150
		b	15.000	430
	3	a	23.000	110
		b	15.000	230
	4	a	2.100	2.300
		b	360	210
	5	a	16.000	12.000
		b	23.000	
F	1	a	43.000	43.000
		b	43.000	43.000
	2	a	150.000	21.000
		b	460.000	15.000
	3	a	39.000	2.900
		b	9.300	430
	4	a	> 1.100.000	> 1.100.000
		b	> 1.100.000	> 1.100.000
	5	a	> 1.100.000	> 1.100.000
		b	> 1.100.000	> 1.100.000
G	1	a	93.000	93.000
		b	23.000	23.000
	2	a	4.300	91
		b	4.300	210
	3	a	4.300	430
		b	4.300	930
	4	a	23.000	9.300
		b	43.000	43.000
	5	a	150.000	15.000
		b	23.000	23.000

CHRISTOVÃO, D. de A.; IARIA, S. T.; CANDEIAS, J. A. N. — Condições sanitárias das águas de irrigação de hortas.. I. *Rev. Saúde públ.*, S. Paulo, 1(1):3-11, jun. 1967.

Hortas	Amostras	Sub-Amostras	NMP/100 ml		
			Coliformes	<i>E. coli</i>	
H	1	a	43.000	9.300	
		b	240.000	2.300	
	2	a	93.000	93.000	
		b	43.000	2.100	
	3	a	240.000	9.000	
		b	93.000	440	
	4	a	93.000	9.300	
		b	93.000	230	
	5	a	43.000	140	
		b	23.000	4.300	
	I	1	a	23.000	9.300
			b	9.300	4.300
		2	a	240.000	93.000
			b	1.100.000	150.000
		3	a	15.000	4.300
b			4.300	4.300	
4		a	29.000	9.300	
		b	93.000	4.300	
5		b	9.300	2.300	
		a	15.000	4.300	
J		1	a	2.800	2.000
			b	9.300	4.300
		2	a	9.300	2.300
			b	4.300	4.300
		3	a	9.300	9.300
	b		15.000	9.300	
	4	a	23.000	9.300	
		b	43.000	15.000	
	5	a	43.000	43.000	
		b	43.000	43.000	
	K	1	a	43.000	43.000
			b	43.000	2.900
		2	a	1.500	750
			b	21.000	2.100
		3	a	6.400	230
b			360	150	
4		a	9.300	9.300	
		b	23.000	43.000	
5		a	240.000	29.000	
		b	93.000	43.000	

Nesta tabela pode-se verificar que nas águas das hortas mistas (A a G) os NMP, por 100 ml, de coliformes variaram entre 200 e > 1.100.000 e de *E. coli*, entre 30 e > 1.100.000; por outro lado, nas águas das quatro hortas de alface (H e K), estes valores estiveram compreendidos entre 360 e 1.100.000 para coliformes e entre 140 e 150.000 para *E. coli*.

Na Tabela 2 encontram-se as médias aritmética e geométrica nos NMP, por 100 ml, de coliformes e de *E. coli* das águas de cada horta, calculadas a partir dos resultados obtidos nos exames em duplicata das cinco amostras respectivas.

médias estiveram compreendidas, respectivamente, entre 13.011 e 28.540 e entre 2.709 e 9.142.

#### DISCUSSÃO

Os resultados obtidos neste estudo evidenciaram um alto grau de poluição de origem fecal em tôdas as amostras de águas de irrigação das hortas examinadas. As amostras obtidas nas hortas de produção mista parecem ter revelado poluição mais intensa do que a encontrada entre aquelas colhidas nas hortas de alface. É de notar, no entanto, a grande

TABELA II

Médias aritmética e geométrica dos NMP, por 100 ml, de coliformes e *E. coli* nas águas de irrigação de cada uma das hortas examinadas no Município de São Paulo, em 1960 e 1961

Hortas	Coliformes		<i>E. coli</i>	
	NMP/100 ml		NMP/100 ml	
	m. aritmética	m. geométrica	m. aritmética	m. geométrica
A	> 266.272	> 54.451	> 233.269	> 7.408
B	> 406.823	> 81.831	> 148.860	> 14.257
C	> 257.343	28.274	163.279	2.609
D	53.426	6.323	11.042	1.151
E	> 230.376	20.987	52.473	2.359
F	> 514.430	> 167.721	> 452.533	> 63.484
G	37.220	17.010	20.796	4.318
H	100.400	77.561	13.011	2.709
I	157.790	32.914	28.540	9.142
J	20.200	13.977	16.610	8.469
K	48.056	19.083	17.343	4.497

A análise desta tabela revela que nas águas de hortas mistas as médias aritmética e geométrica dos NMP de bactérias coliformes variaram entre 37.220 e > 514.430 e entre 6.323 e > 167.721, respectivamente. Com relação à *E. coli*, aquelas médias variaram respectivamente entre 11.042 e > 452.533 e entre 1.151 e > 63.484.

Para as hortas de alface, a média aritmética dos NMP, por 100 ml, de bactérias coliformes em suas águas variou entre 20.200 e 157.790 e a geométrica entre 13.977 e 77.561; para a *E. coli* aquelas

variação dos resultados referentes aos diferentes locais de coleta de água de cada horta. O menor grau de poluição observado nas águas de hortas de alface, se verdadeiro, poderia estar relacionado ao fato do cultivo desta hortaliça requerer maiores cuidados e, em consequência, ser em geral realizado sob orientação mais adequada.

É óbvio que águas poluídas usadas na irrigação constituirão uma das fontes de poluição e contaminação não só do solo como também dos próprios vegetais, sendo de longa data conhecida a capacidade de

sobrevivência de microrganismos intestinais, comensais ou patogênicos, nos esgotos e nas águas, sobejamente demonstrada por inúmeras investigações realizadas a respeito. Dada a comprovada capacidade de sobrevivência dos microrganismos patogênicos intestinais em hortaliças, estas, uma vez contaminadas, poderão facilmente servir de veículo de infecção aos seus manipuladores — nas operações de colheita, transporte ou venda — e, de maneira mais direta, aos consumidores. Revisão de parte da vasta literatura a respeito da sobrevivência de organismos patogênicos intestinais em esgotos, águas e vegetais, já foi publicada entre nós (CHRISTOVÃO <sup>4</sup>, 1958).

Dentre os vegetais consumidos crus encontram-se veículos de infecção menos eficientes, como todos aqueles que, apresentando superfície lisa e pequena em relação à sua massa, possuem capacidade reduzida de retenção de microrganismos. As hortaliças cujas folhas constituem a parte comestível e principalmente aquelas que apresentam numerosas folhas imbricadas e de superfície irregular, oferecem condições para retenção e sobrevivência muito maiores dos microrganismos nelas depositados através da água de irrigação. Algumas, como é o caso da alface, podem mesmo, através de secreções de suas folhas, facilitar a retenção e a sobrevivência dos germes pela formação de camadas isolantes protetoras.

CALDAS <sup>2</sup> (1947), publicou os resultados do estudo epidemiológico de uma epidemia de febre tifóide ocorrida em Recife em 1944, na qual se diagnosticaram 171 casos, com 23 óbitos. No referido estudo o autor concluiu que a disseminação deveu-se ao consumo de hortaliças irrigadas e lavadas com água intensamente contaminadas.

Entre nós, CHRISTOVÃO <sup>4</sup> (1958), estudando o grau de contaminação, por microrganismos de origem fecal, de alface distribuída na cidade de São Paulo, verificou — após estabelecer métodos eficientes para o seu exame — a ocorrência de densidades médias de coliformes, *E. coli*

e enterococos muito elevadas nos vários lotes examinados. De alguns lotes chegou mesmo a isolar bactérias dos gêneros *Salmonella* e *Shigella*. Estudou também, este autor, o poder desinfetante de alguns agentes químicos, após tempo de contato de até duas horas, sobre os microrganismos fecais existentes, em condições naturais, em alfaces previamente lavadas pelo processo doméstico usual, não demonstrando ação satisfatória no que diz respeito à sua aplicabilidade. Deixou claro, deste modo, que a correção do problema sanitário evidenciado dependeria exclusivamente do controle das condições de cultivo das hortaliças.

Resultados como os obtidos no presente estudo justificariam, por si sós, os altos níveis de bactérias intestinais encontradas em alface pelo referido autor, caso as águas de irrigação da maioria das hortas produtoras desta hortaliça, na ocasião em que foi realizada a investigação, apresentassem graus de poluição semelhantes aos por nós ora evidenciados, os quais, de tão altos, quase permitiriam se considerar as águas utilizadas como esgotos a céu aberto.

A classificação das águas segundo o seu grau de poluição e as possibilidades de utilização das águas de cada classe são reguladas no Estado de São Paulo <sup>6</sup> pelo Decreto n.º 24.806, de 25 de julho de 1955. De acordo com o artigo 1.º deste decreto, das seis classes estabelecidas, somente as águas das classes I, II e III podem ser utilizadas na rega de qualquer tipo de hortaliças, enquanto o emprego de águas da classe IV em irrigação é permitido unicamente no caso de vegetais que não venham a ser ingeridos crus. O uso de água das classes V e VI é vedado para quaisquer fins agrícolas.

As águas da classe III, as mais poluídas cuja utilização na rega de vegetais que se comem crus ainda é tolerada, deverão, do ponto de vista bacteriológico, apresentar média dos NMP de coliformes inferior a 5.000 por 100 ml. Nas águas da classe IV, que ainda podem ser empre-

gadas na irrigação dos vegetais que não venham a ser ingeridos crus, a média referida deverá ser menor do que 20.000 por 100 ml.

Tôdas as amostras de águas estudadas na presente investigação mostraram-se totalmente inadequadas ao uso que delas se fazia, pois em tôdas elas os NMP de bactérias coliformes por 100 ml, considerando-se as médias dos resultados das cinco amostras respectivas — observadas na Tabela II — foram de tal ordem que ultrapassaram sempre os limites máximos permitidos, até mesmo os da categoria IV. É de notar também que em quase tôdas as amostras examinadas os NMP, por 100 ml, de *E. coli* foram tão elevados que em muitos casos se mostraram até mesmo muito superiores aos níveis de coliformes exigidos para que as águas se classificassem na classe IV.

Êstes fatos evidenciam a precariedade das condições de higiene das hortas examinadas e demonstram a necessidade de se estabelecer amplo serviço de exames bacteriológicos das águas de irrigação e de se adotarem medidas mais rigorosas de controle da situação sanitária das hortas.

Na realidade, as águas examinadas, revelando níveis tão elevados de *E. coli* e evidenciando dêste modo grau de poluição fecal tão intenso — não havendo nada, pelo menos na maioria dos casos, que pudesse sugerir origem predominantemente animal das bactérias fecais encontradas — talvez devessem mesmo ser consideradas como esgotos domiciliares e ser julgadas frente aos padrões que regulam o emprêgo dêstes esgotos em irrigação de hortaliças.

A êste respeito variam as opiniões sobre o grau de purificação que se deveria exigir para os esgotos destinados ao aproveitamento na rega de vegetais consumidos crus.

O Departamento de Saúde da Califórnia (SHUVAL<sup>7</sup>, 1966), por exemplo, exige que o efluente de esgotos usado neste tipo de irrigação deva ser completamente tratado e suficientemente desinfetado de modo a se obter redução do seu teor de bactérias

indicadoras de poluição fecal a nível aproximadamente igual ao das águas potáveis.

McKEE<sup>5</sup> (1966) estudou êste problema e concluiu que níveis de bactérias coliformes 10 a 100 vêzes maiores que os permitidos para as águas potáveis deveriam ser aceitáveis para a irrigação de quaisquer hortaliças por efluentes de esgotos.

Em Israel (SHUVAL<sup>7</sup>, 1966), onde é premente o problema da falta d'água, tem-se estudado intensamente a possibilidade do aproveitamento de esgotos na irrigação de vegetais. Embora não se tenha ainda estabelecido padrão bacteriológico definitivo, é admitido que 100 ou menos coliformes por 100 ml de esgoto tratado, em 80% ou mais das amostras examinadas, seria um padrão razoável para êste tipo de irrigação.

É óbvio que ao se estudar o estabelecimento de padrões bacteriológicos para êste tipo de irrigação deverão ser levados em conta não só os recursos hídricos e tecnológicos disponíveis, mas também a endemicidade das doenças intestinais transmissíveis (CHRISTOVÃO<sup>3</sup>, 1957), o que poderá tornar obrigatória a adoção de limites médios de poluição tolerável inferiores aos acima preconizados.

A comparação dos valôres encontrados nas amostras de águas examinadas, com os limites estabelecidos pelos padrões acima referidos, recomendados para a utilização de efluentes de esgotos em irrigação, torna ainda mais evidente a precariedade das condições sanitárias das hortas investigadas.

#### CONCLUSÕES

1. As 55 amostras das águas de irrigação das hortas examinadas revelaram, através do exame bacteriológico, alto grau de poluição fecal.

2. As médias aritmética e geométrica dos valôres dos NMP/100 ml, obtidos nas águas das 11 hortas investigadas, variaram, respectivamente, de 20.200 a > 514.430 e de 6.323 a > 167.721 para as bactérias coliformes e de 11.042 a

> 452.533 e de 1.151 a > 63.484 para *Escherichia coli*.

3. As densidades médias de coliformes encontradas, comparadas aos padrões bacteriológicos do Estado de São Paulo para águas de irrigação, mostram que tôdas ultrapassaram de muito os limites máximos tolerados para a irrigação de vegetais consumidos crus.

4. Estes resultados demonstram a indispensabilidade de se estabelecer amplo serviço de rotina de exames bacteriológicos das águas de irrigação e a necessidade de se adotarem medidas mais rigorosas de controle das condições sanitárias das hortas.

#### SUMMARY

Samples of irrigation water taken from eleven vegetable gardens of the city of São Paulo were submitted to bacteriological examination. Five samples were taken from five different points in each case; MPN per 100 ml were determined both for coliforms and *Escherichia coli*. All samples revealed heavy fecal pollution, showing completely unsatisfactory sanitary conditions of the irrigation water and the need severe control measures of water for irrigation.

#### RECONHECIMENTO

Ao Dr. Herros Cappelo — Diretor da Secção de Epidemiologia e Profilaxia Gerais do Departamento de Saúde (Secretaria da Saúde Pública e da Assistência Social) do Estado de São Paulo e ao Dr.

Ismael P. da Silva, da Sub-seccção de Fiscalização, o nosso agradecimento pela colaboração dada ao presente estudo.

Prestaram auxílio técnico na execução deste trabalho os técnicos Maria Augusta dos Santos, Rosa Frederico de Carvalho e José Moraes de Godoy, do Departamento de Microbiologia e Imunologia Aplicadas.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION — Standard methods for the examination of water and wastewater. 11th ed. New York, 1960.
2. CALDAS, C. — Epidemia de febre tifóide, no Recife, originada pela ingestão de hortaliças cruas, contaminadas. *Arq. Hig.*, Rio de Janeiro, 17(1):7-31, mar. 1947.
3. CHRISTOVAO, D. de A. — Relatividade do significado do índice coliforme e proposição de índice corrigido. *Arq. Fac. Hig. S. Paulo*, 11(1):89-96, jun. 1957.
4. ————— Contaminação de alface (*Lactuca saliva*) por microrganismos de origem fecal: estudo de métodos bacteriológicos para sua determinação, medida de sua intensidade na cidade de São Paulo e eficiência de alguns tratamentos na sua redução. São Paulo, 1958. (Tese para Cátedra — Fac. Hig. Saúde Públ. USP).
5. McKEE, J. E. *apud* SHUVAL, H. I. <sup>7</sup>, p. 5.
6. SÃO PAULO (estado). — Leis e decretos, etc. Decreto n.º 24.806, de 25 de julho de 1965. *Revista DAE*, 16(26):95-100, set. 1955.
7. SHUVAL, H. I. — Water pollution control in semi-arid and arid zones. Geneva, 1966. (WHO / *Env. San.* / 143). Mimeografado.)

(continua)