



## OCORRÊNCIA DE FUNGOS EM ÁGUA PARA CONSUMO HUMANO

---

Lilian Cristina Camargo Ottoni<sup>1</sup>, Natália Ueda Yamaguchi<sup>2</sup>, Jully Oyama<sup>1</sup>,  
Mirian Ueda Yamaguchi<sup>3</sup>

1 Biomédica. Centro Universitário Cesumar – UniCesumar – Maringá – PR – Brasil

2 Mestre em Engenharia Química. Docente do Departamento de Engenharia do Centro Universitário Cesumar – UniCesumar – Maringá – PR - Brasil

3 Docente do Programa de Pós-Graduação em Promoção da Saúde – Mestrado – Centro Universitário Cesumar – UniCesumar – Maringá – PR – Brasil (e-mail: mirianueda@gmail.com)

---

Recebido em: 12/04/2014 – Aprovado em: 27/05/2014 – Publicado em: 01/07/2014

---

### RESUMO

Os fungos passaram a receber maior atenção como contaminantes de água nos últimos anos. Vários estudos têm demonstrado a ocorrência de fungos filamentosos e leveduras em água potável e as infecções fúngicas tem se tornado cada vez mais comum. Neste trabalho objetivou-se avaliar a presença de fungos filamentosos e leveduras em água destinada ao consumo humano em instituição de ensino na cidade de Maringá – PR. Os fungos contaminantes das amostras de água foram isolados por meio da técnica da membrana filtrante. Foram analisadas 50 amostras de água, sendo 13 de água mineral natural engarrafada e 37 de água tratada obtida em bebedouros de pressão. Houve maior positividade de fungos filamentosos e leveduras nas amostras de água mineral engarrafada, onde 92,3% das amostras foram positivas, enquanto somente 21,6% das amostras de água tratada de bebedouros foi positiva. Os resultados indicaram alta positividade de fungos nas amostras de água destinadas ao consumo humano. Assim, alerta-se para a necessidade de novos estudos, na tentativa de investigar se as espécies de fungos filamentosos e leveduras que contaminam essas águas são potencialmente patogênicas à população hídica e principalmente aos indivíduos imunocomprometidos.

**PALAVRAS-CHAVE:** água potável, fungos filamentosos, leveduras, qualidade da água

### RESEARCH FOR FUNGI IN DRINKING WATER

#### ABSTRACT

Fungi have received increased attention as contaminants of water in recent decades, because studies have shown the occurrence of yeasts and molds in drinking water, and diseases caused by fungal infections have become increasingly common. This work aimed to evaluate the presence of filamentous fungi and yeast in water intended for human consumption in a school in the city of Maringá - PR . The fungal contaminants of the water samples were isolated using the membrane filter technique. 50 water samples were analyzed, 13 of bottled natural mineral water and 37 treated water obtained in

pressure troughs . There was a higher positivity of yeasts and molds in samples of bottled mineral water, where 92.3% of samples were positive, while 21.6% of treated water samples of drinkers showed positive results. The research showed high positivity of fungi in samples of drinking water. Thus, it alerts to the necessity for further studies in an attempt to investigate whether the species of filamentous fungi and yeasts that contaminate these waters are potentially pathogenic to healthy and especially the immunocompromised population.

**KEYWORDS:** Water quality, filamentous fungi, yeasts, drinking water.

## INTRODUÇÃO

A água constitui o recurso natural mais importante por ser fundamental na manutenção da vida, saúde e bem-estar do homem. Porém, quando contaminada, a água pode atuar como veículo de transmissão de patógenos, entre eles, bactérias, fungos, protozoários e vírus (CETESB, 1997; SIQUEIRA, 2010).

Fungos e leveduras, presentes no meio ambiente ou integrantes da microbiota humana normal, podem em determinadas situações passar de sapróbios à patogênicos, podendo ocasionar, diferentes formas de doenças. Estas doenças são frequentemente associadas à baixa imunidade do hospedeiro como resultado de infecções virais, principalmente da imunodeficiência humana, doenças hematológicas, distúrbios hormonais, transplantes de órgãos, uso de antibióticos e terapias intensivas e agressivas (HUFFNAGLE & NOVERR, 2013).

Os fungos passaram a receber maior atenção como contaminantes de água potável nas últimas décadas, pois infecções fúngicas têm se tornado cada vez mais comum. Espécies potencialmente patogênicas, alergênicas e toxigênicas são isoladas de água, às vezes em altas concentrações (YAMAGUCHI et al, 2007; HAGESKAL, 2009; NUNZIO & YAMAGUCHI, 2010).

Atualmente, podemos evidenciar uma mudança marcante no perfil epidemiológico de fungos e leveduras ao serem relatados casos de infecções por espécies emergentes (MACÊDO et al, 2009). Estas espécies muitas vezes tornam se resistentes a drogas antifúngicas utilizadas no tratamento de rotina, representando assim, grandes desafios na prevenção e tratamento das doenças fúngicas (YAMAGUCHI et al., 2007).

O controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano é restrito às análises microbiológicas, por meio de pesquisa das bactérias do gênero Coliforme, como indicadores de padrão de potabilidade, enquanto estudos demonstram também a presença de fungos em amostras de água potável (KANZLER et al., 2007; BRASIL, 2011).

Neste contexto o objetivo deste estudo foi verificar a presença de fungos filamentosos e leveduras em amostras de água, consideradas potáveis pelos padrões de potabilidade da legislação sanitária em vigor, numa instituição de ensino superior.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram coletadas 50 amostras de água em uma instituição de ensino superior na cidade de Maringá – PR. Destas, 13 amostras foram provenientes de bebedouros abastecidos por galões de 20 litros, fornecidos por companhia de água mineral

engarrafada, e 39 amostras de água tratada foram obtidas de bebedouros de pressão, instaladas nos corredores da instituição de ensino. Para a coleta das amostras foram utilizados frascos plásticos estéreis com capacidade de 200 mL, contendo 150µL de solução de tiosulfato de sódio 10%.

Antes da coleta das amostras, deixou-se a água fluindo por dois a três minutos, para eliminação de toda a coluna de líquido da canalização. Em cada ponto coletou-se 150 mL de água, quantidade esta, suficiente para a avaliação dos parâmetros pretendidos. Nos dias de coleta a temperatura ambiente foi aferida, utilizando-se um termômetro comum para temperatura ambiente. Outros parâmetros verificados no ato da coleta foram o cloro livre e o pH por meio de Kit (SODRAMAR®). Após a coleta, a amostra foi homogeneizada, de modo que o tiosulfato de sódio entrasse em contato com toda a água contida no frasco e permitisse a neutralização de compostos halogenados (cloro).

Após a coleta os frascos foram transportados em caixa de isopor, com gelo, até o local de realização das análises. Antes das análises as amostras foram estocadas por um período máximo de 24 hs em um refrigerador com temperatura inferior a 10°C.

Para as análises foi empregada a técnica da membrana filtrante, seguida de plaqueamento, visando o método de quantificação e obtenção de resultado em UFC/mL. Foram utilizadas membranas filtrantes com diâmetro de 47 mm, com poros de 0,45 µm (MILLIPORE®). Um volume de 100 mL de amostra foi filtrada através da membrana. Após a filtração a membrana foi transferida para uma placa de Petri contendo ágar Saboraud dextrose (Difco®) suplementado com Cloranfenicol, numa concentração de 30 mg/100 mL. As placas contendo as membranas foram incubadas de forma não invertida para favorecer o crescimento de fungos em estufa bacteriológica a 25 ±1°C. As placas foram examinadas a partir do terceiro dia e o número de unidades formadoras de colônias (UFC) por 100 mL de amostra foram avaliadas até o décimo dia após a incubação. As placas que apresentaram crescimento foram submetidas à contagem de colônias, baseando-se no aspecto morfológico das mesmas e posteriormente realizou-se uma bacterioscopia pela coloração de Gram para confirmar microscopicamente as colônias de leveduras.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Verificou-se que dentre as 50 amostras de água analisadas, houve presença de fungos filamentosos e leveduras em 20 (40%) amostras: quatro amostras foram positivas para fungos filamentosos, nove para leveduras, e sete amostras apresentaram crescimento de ambos, fungos filamentosos e leveduras.

Na Tabela 1 pode-se observar que houve maior positividade nas amostras de água mineral engarrafada, das quais 13 (92,3%) apresentaram ocorrência de fungos. Foram isolados fungos filamentosos em três amostras (23,1%), leveduras em quatro (30,8%) e, fungos filamentosos e leveduras em cinco amostras (38,5%). Enquanto para as amostras de água tratada obtidas nos bebedouros de pressão, em oito (21,6%) das amostras houve ocorrência de fungos. Destas, uma ( 2,7%) amostra apresentou apenas fungo filamentoso, cinco (13,5%) foram positivas para leveduras, e duas amostras (5,4%) positivas para fungos filamentosos e leveduras.

**TABELA 1.** Resultado da pesquisa de fungos filamentosos e leveduras em água mineral natural engarrafada e água tratada, pela técnica de membrana filtrante

Microorganismos	Número de amostras positivas n (%)		
	Água mineral engarrafada <sup>a</sup>	Água tratada <sup>b</sup>	Total
Fungos filamentosos	3 (23,1)	1 (2,7)	4 (8,0)
Leveduras	4 (30,8)	5 (13,5)	9 (18,0)
Fungos filamentosos e leveduras	5 (38,5)	2 (5,4)	7 (14,0)
Sem crescimento	1 (7,6)	29 (68,4)	30 (60,0)
Total	13(100,0)	37(100,0)	50(100,0)

<sup>a</sup>Galão de 20 litros; <sup>b</sup> bebedouro de pressão

A contagem de fungos filamentosos nas amostras analisadas variou de 01 a  $\geq$  100 UFC/100 mL de água com predomínio de dois tipos morfológicos de colônias por placa, já a contagem de leveduras variou de 01 a 93 UFC/100mL de água com predomínio de um tipo de colônia por placa, conforme Tabela 2.

**TABELA 2.** Caracterização de amostras de água para consumo humano com resultado positivo para pesquisa de fungos filamentosos e leveduras.

Amostra/ Tipo de água	Cloro (ppm)	pH	T.A	Contagem de fungos filamentosos (UFC/100mL)	Tipos de colônias de fungos filamentosos	Contagem de colônias de leveduras (UFC/100mL)	Tipos de colônias de leveduras
A1/M	0	6,8	27°C	8	3	9	4
A2/M	0	7,4	27°C	> 100	2	-	-
A4/M	0	6,8	27°C	> 100	2	-	-
A5/M	0	7,8	27°C	7	2	36	1
A6/M	0	6,8	27°C	-	-	93	3
A7/M	0	7,6	27°C	-	-	10	3
A8/M	0	7,8	27°C	16	2	45	3
A9/M	0	7,8	27°C	-	-	4	1
A10/M	0	7,6	27°C	2	1	5	2
A11/M	0	7,4	27°C	6	2	2	1
A21/T	< 1	6,8	27°C	-	-	1	1
A22/T	< 1	6,8	27°C	-	-	1	1
A25/T	< 1	6,8	27°C	2	1	-	-
A30/T	< 1	6,8	30°C	-	-	1	1
A36/T	< 1	6,8	30°C	1	1	31	2
A37/T	< 1	6,8	30°C	1	1	28	1
A38/T	< 1	6,8	30°C	-	-	8	3
A45/T	< 1	6,8	30°C	-	-	5	1
A49/M	< 1	6,8	27°C	-	-	6	1
A50/M	< 1	6,8	27°C	> 100	3	-	-

M=água mineral engarrafada; T=água tratada; T.A.=temperatura ambiente; (-) sem crescimento; UFC=unidade formadora de colônia; ppm=partes por milhão.

A Portaria nº 2.914, de 12 de dezembro de 2011, restringe as análises microbiológicas da água para consumo humano à pesquisa das bactérias do gênero Coliforme, como indicadores de padrão de potabilidade. Assim, uma amostra de água tratada ou mineral (não tratada) é classificada como potável, sempre que a análise microbiológica indicar ausência de coliformes totais e termotolerantes (BRASIL, 2004; ANVISA, 2004; BRASIL, 2011).

Por outro lado, há pouco mais de uma década, as pesquisas científicas passaram a considerar os fungos filamentosos e as leveduras como microrganismos potencialmente patogênicos da água (YAMAGUCHI et al, 2007; KANZLER et al, 2007; HAGESKAL et al., 2009).

Um estudo realizado por ARVANITIDOU et al., (1999) em amostras de água de um hospital relatou a presença de fungos filamentosos em 82,5% das, de leveduras em 11,1% e de ambos em 11,1% das amostras de água. Foi isolado um total de 27 gêneros de fungos filamentosos e três de leveduras, sendo os gêneros predominantes o *Penicillium sp.*, *Aspergillus sp.* e *Candida sp.*

Em 2007 numa pesquisa anterior realizada por YAMAGUCHI e colaboradores, a positividade de leveduras foi de 36,6% e 11,6%, respectivamente, em amostras de água mineral de bebedouros e amostras de água de torneiras de clínicas médicas e odontológicas. Em relação aos fungos filamentosos 35% da água mineral engarrafada e 3,3% da água de torneira apresentaram positividade. Outro estudo, mais recente desenvolvido por NUZIO & YAMAGUCHI (2010), no qual analisaram água para consumo humano em creches, verificaram a presença de fungos filamentosos em 30,0% das amostras de água, de leveduras em 42,5% e de ambos em 27,5% das amostras. Na identificação dos gêneros dos fungos prevaleceu o gênero *Rhodotorula sp* (67,8%), seguido de *Cryptococcus sp* (42,8%), *Candida sp* (39,3%) e *Geotrichum sp* (3,6%).

A frequência de processos infecciosos por espécies oportunistas de fungos têm aumentado significativamente durante as últimas duas décadas. Este aumento está associado diretamente ao número crescente de pacientes imunocomprometidos, incluindo pacientes submetidos a transplantes, portadores de AIDS, doenças neoplásicas, terapias imunossupressoras, pacientes com idade avançada e crianças prematuras (YAPAR, 2014).

Numerosos estudos têm identificado outros fatores de risco comuns entre os pacientes que desenvolveram infecções fúngicas. A maioria desses fatores são comuns entre os pacientes internados ou não, e é difícil determinar quais pacientes estão em maior risco de desenvolverem infecções fúngicas e a origem da infecção (LANTERNIER et al., 2013).

Alguns fungos têm a capacidade de crescerem ligados a um substrato, formando biofilme nas superfícies de tubos, detritos ou sedimentos. Vários estudos detectaram a formação de biofilme em superfícies de tubos de água. A presença de biofilmes em sistemas de água pode tornar o fungo mais protegido e resistente ao tratamento da água (HENDRIKX et al., 2002). Além disso, pesquisas alertam que fungos podem sobreviver ao tratamento de desinfecção, e que a maioria dos métodos atuais de tratamento da água não são eficientes contra os fungos. As estratégias de

controle e eficiência de tratamento de água contra fungos têm sido estudadas apenas em pequeno grau, e os resultados não são consistentes (HAGESKAL et al., 2009).

No presente estudo a água mineral engarrafada apresentou-se mais contaminada do que a água tratada dos bebedouros de pressão. Vale destacar que o mercado mundial de água envasada vem apresentando constante expansão, verificando-se, nos últimos anos, um crescimento da ordem de 20% ao ano. O aumento no consumo de água mineral no Brasil tem ocorrido em função de uma possível desconfiança da qualidade microbiologia da água ofertada pelos sistemas municipais de distribuição de água (RESENDE, 2008).

O resultado desta pesquisa, com 92,4% de positividade na pesquisa de fungos nas amostras de água mineral engarrafada é provavelmente decorrente da má higienização dos bebedouros, uma vez que, a única amostra de água mineral que apresentou-se negativa, tanto para fungos filamentosos quanto para leveduras, foi a amostra coletada diretamente do galão de 20 litros. Além disso, os funcionários da instituição pesquisada relataram que a limpeza é realizada com pano seco embebido com álcool etílico, apenas no bocal dos galões no momento da troca. Método este considerado insuficiente, pois aconselha-se também a limpeza periódica do sistema interno dos bebedouros, incluindo as torneiras e conectores, com uma solução de água e hipoclorito de sódio, pois diferentemente da água tratada, a água mineral engarrafada não apresenta cloro em sua composição.

A água tratada dos bebedouros de pressão da instituição avaliada nesta pesquisa, é proveniente de poço semi-artesiano, esta água sofre adição de cloro, por meio de uma bomba que libera concentrações adequadas de cloro diariamente na água, e após este tratamento a água é mantida em caixas d'água até o momento de seu uso. Segundo BIASOLI (2000) o cloro sofre uma perda ao longo do caminho das tubulações até o local em que a água será consumida, pois para cada microorganismo eliminado, um pouco de cloro é consumido. Todas as amostras analisadas neste estudo apresentaram teor de cloro inferior a 1,0 mg/L, estando assim, dentro dos limites preconizados, pois de acordo com a Portaria nº 518 do Ministério da Saúde, a taxa de cloro residual livre deve ser de, no máximo, 2,0 mg/L (BRASIL, 2004).

A partir dos resultados obtidos neste estudo, verificou-se que apenas a cloração da água tratada não foi suficiente para eliminar os fungos filamentosos e leveduras das amostras de água analisadas, visto que 21,6% do total das amostras apresentaram pesquisa positiva para fungos.

A Portaria nº 518 do Ministério da Saúde, recomenda que o pH da água para consumo humano esteja entre 6,0 a 9,5. O pH das amostras analisadas variou de 6,8 a 7,8, apresentando-se, assim, dentro dos limites estabelecidos. É importante determinar o pH, pois águas mais alcalinas requerem um maior tempo de contato para uma adequada desinfecção (BRASIL, 2004). A temperatura também é uma característica importante, pois sua elevação favorece o crescimento de microorganismos (MACÊDO, 2000).

O presente estudo demonstrou que a água mineral engarrafada e a água tratada de bebedouros de pressão da instituição de ensino em questão, podem ser consideradas uma possível via de transmissão de fungos filamentosos e leveduras.

Considerando os resultados de diversas pesquisas que revelam: (i) a ocorrência de fungos em água destinada ao consumo humano (YAMAGUCHI et al., 2007;

HAGESKAL, 2009; NUNZIO & YAMAGUCHI, 2010); (ii) infecções fúngicas cada vez mais prevalentes e (iii) a estimativa de aumento do número de indivíduos imunocomprometidos (HUFFNAGLE & NOVERR, 2013); faz-se necessário considerar, no futuro próximo, o monitoramento rotineiro dos sistemas de água para presença de fungos e o desenvolvimento de novas metodologias de desinfecção seguramente eficientes contra os fungos filamentosos e leveduras.

### CONCLUSÃO

A presente pesquisa revelou a ocorrência de fungos filamentosos e leveduras nas amostras de água destinadas para o consumo humano na instituição de ensino pesquisada. Assim, torna-se necessária a realização de novos estudos, na tentativa de elucidar se as espécies de fungos filamentosos e leveduras que contaminam essas águas são potencialmente patogênicas à população hígida e principalmente aos indivíduos imunocomprometidos.

### AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Benício Alves de Abreu Filho pela colaboração na realização da técnica de membrana filtrante, realizada no Laboratório de Análise de Água da Universidade Estadual de Maringá. As técnicas de laboratório Márcia Regiane Pedra e Nágila Feitosa Gonçalves pelo auxílio nos procedimentos realizados no Laboratório de Microbiologia do Centro Universitário Cesumar – UniCesumar.

### REFERÊNCIAS

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Deteção e identificação dos fungos de importância médica - Módulo VII**, 2004. Disponível em: <[http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/microbiologia/mod\\_7\\_2004.pdf](http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/microbiologia/mod_7_2004.pdf)> Acesso em: 19 mar. 2010.

ARVANITIDOU, M.; KANELLOU, K.; CONSTANTINIDES, T. C.; KATSOUYANNOPOULOS, V. The occurrence of fungi in hospital and community potable waters. **Letters in Applied Microbiology**, v.29, n.2, p.81–84,1999.

BIASOLI, W. M. **Água e Saúde**. Fortaleza, CE: Wander Mendes Biasoli, 2000.

BRASIL. Portaria nº 518, de 25 de março de 2004. 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] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 25 mar. 2004. Disponível em: <[http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/portaria\\_518\\_2004.pdf](http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/portaria_518_2004.pdf)>. Acesso em: 13 mai. 2010.

BRASIL. Portaria nº 2.914, de 12 de dezembro de 2011. Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, **ENCICLOPÉDIA BIOSFERA**, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.10, n.18; p. 3432 2014

Brasília, DF, 12 dez. 2011. Disponível em: [http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2011/prt2914\\_12\\_12\\_2011.html](http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2011/prt2914_12_12_2011.html). Acesso em 08 abr 2014.

CETESB - Companhia Estadual de Tecnologia e Saneamento Ambiental. **Controle da qualidade da água para consumo humano: bases conceituais e operacionais**. São Paulo; 1997.

HAGESKAL, G.; LIMA, N.; SKAAR, J. The study of fungi in drinking water. **Mycological Research**, v.113, n.2, p.165-172, 2009.

HENDRIKX, T.L.G.; MESKUS, E.; KEISKI, R.L. Influence of the nutrient balance on biofilm composition in a fixed film process. **Water Science and Technology**, v.46, n.4-5, p. 7-12. 2002

HUFFNAGLE, G.B.; NOVERR, M.C. The emerging world of the fungal microbiome. **Trends in Microbiology**, v.21, n.7, p.334-341, 2013.

KANZLER, D., BUZINA, A., PAULITSCH, D., HAAS, D., PLATZER, S., MARTH, E., MASCHER, F. Occurrence and hygienic relevance of fungi in drinking water. **Mycoses**, v.51, p. 165-169, 2007.

LANTERNIER, F., CYPOWYJ, S., PICARD, C., BUSTAMANTE, J., CASANOVA, J.L., PUEL, A. Primary immunodeficiencies underlying fungal infections. **Curr. Opin. Pediatr.** v.25, n.6, p.736-747, 2013.

MACÊDO, J. A. B. **Águas & Águas**. Juiz de Fora, MG: Ortofarma, 2000.

NUZIO, B.; YAMAGUCHI, M.U. Prevalência de fungos em água para consumo humano de asilos e creches em Maringá-PR. **Revista em Agronegócios e Meio Ambiente**, v3, n.2, p. 113-134, 2010.

RESENDE, A. Perfil microbiológico da água mineral comercializada no Distrito Federal. **Revista Saúde e Biologia**, v.3, n.2, p.16-22,2008.

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

YAMAGUCHI, M.U., RAMPAZZO, R.C.P., YAMAGA-OGATTA, S.F., NAKAMURA, C.V., UEDA-NAKAMURA, T., DIAS FILHO, B.P. Yeasts and filamentous fungi in bottled mineral water and tap water from municipal supplies. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 50, n.1, 2007.

YAPAR, N. Epidemiology and risk factors for invasive candidiasis. **The Clin Risk Manag.**, v.13, n.10, p. 95-105, 2014.