INSTITUTO DE HYGIENE DE SÃO PAULOS

Caixa Postal, 1985 — São Paulo — Brasil BOLETIM N.º 46

DIRECTOR: Dr. G. H. DE PAULA SOUZA

Exame Bacteriologico das Aguas de Abastecimento de Curityba

PELO

Dr. Lucas de Assumpção
Assistente do "Instituto de Hygiene de São Paulo"



1980
Escolas Profissionaes do Lyceu Coração de Jesus
- São Paulo --

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO Departamento de Cultura e Ação Social Biblioteca. Central

EXAME BACTERIOLOGICO DAS AGUAS DE ABAS-TECIMENTO DE CURITYBA.

pelo

DR. LUCAS DE ASSUMPÇÃO

Assistente do Instituto de Hygiene de S. Paulo

Em commissão do Governo do Estado de São Paulo junto ao Governo do Estado do Paraná, fomos incumbidos por este Governo de fazer o exame bacteriologico das aguas de abastecimento de Curityba.

Damos a seguir, as partes (algumas resumidas) de maior interesse do relatorio por nós apresentado ao Exmo. Snr. Dr. Affonso de Camargo, D.D. Presidente do Estado do Paraná.

I

A febre typhoide em Carityba

Quando em 1917 a cidade de Curityba foi assolada pelo irrompimento brusco de uma epidemia de febre typhoide, acceitou o Governo do Paraná o auxilio do Governo do Estado de São Paulo que lhe enviou uma commissão medica chefiada pelo saudoso dr. Theodoro Bayma, então director do Instituto Bacteriologico, e mais do dr. Cincinato Pamponet, do Desinfectorio Central, Sr. Bruno Rangel Pestana, assistente do Instituto Bacteriologico e dr. Sebastião Calazans, naquelle tempo interno do Hospital de Isolamento e actualmente Assistente do Instituto de Butantan, em commissão dirigindo o Instituto de Hygiene de Pelotas.

Essa missão ao chegar a Capital Paranaense confirmou o que vinha affirmando a illustre classe medica dessa cidade — de que se tratava de uma epidemia de febre typhoide de origem hydrica.

Nos debates havidos na Sociedade de Medicina dessa cidade, naquella epocha, isso ficou fóra de duvida, como tambem fôra apontado o serviço de exgottos como mal construido e apresentando defeitos capazes de fazerem periclitar a saúde publica de um momento para outro.

São do Dr. Reynaldo Machado as seguintes palavras. então pronunciadas: «Nunca tivemos typho em Curityba, pelo

menos durante o tempo que aqui residi.

Casos isolados appareciam aqui e ali e algumas vezes esses casos apresentavam-se em maior numero, mas sempre cantonados a certos pontos da cidade ou de seus arrabaldes, principalmente nestes.

Todos os clinicos sabem que os casos de febre typhoide eram mais communs fóra da cidade, na Agua Verde,

Ahú, Colonia Argelina, Prado, Portão, etc.

Todos concordavamos em acreditar que esses casos eram determinados pelo uso de aguas contaminadas das cisternas e verduras e tructas em contacto com a terra, tambem contaminada pelos dejectos dos typhosos.

Porem agora o phenomeno se apresenta sob feição muito diversa. A molestia terrivel irrompeo brusca e temerosamente em grande parte da cidade, emquanto aquelles antigos fócos de endemia typhica se acham livres do mal.

A maneira violenta, rapida e geral pela qual se nos mostra a epidemia, indica com clareza uma causa tambem

geral.

Esta, na minha opinião, só pode existir na agua que a população curitybana consome, e agua que póde adquirir os germens morbigenos, desde os mananciaes até as torneiras domiciliarias».

Em seguida disse o *Dr. Reynaldo Machado* que os exgottos de Curityba não prestavam - são e continuam a ser uma ameaça á saúde publica».

Fez ver ainda os logares onde não ia a agua da serra, nem a rêde de exgottos, estavam ficando livres da epidemia.

Tambem em discursos então pronunciados pelo Dr. Moreira Garcez, foram apontados os perigos que offerecia a rêdo do expettos pelo que má construeção

rêde de exgottos pela sua má construcção.

Em summa, a impressão que teve a commissão paulista, toi estarem divididas as opiniões sobre a epidemia de febre typhoide que de surpreza invadira Curityba: apontavam uns a conspurcação das aguas dos mananciaes; outros — que no seu trabalho declarou o Dr. Theodoro Bayma ser a maioria — accusavam os exgottos da cidade.

Organizada a carta epidemiologica verificaram os membros da commissão a veracidade dos factos assignalados pelo *Dr. Reynaldo Machado* e outros distinctos clínicos de Curityba, isto é, que os casos de febre typhoide eram raros na proximidade do reservatorio, como também fóra da cidade

onde não chegavam agua e exgottos. Os casos distribuiam-se pelo centro da cidade, parte servida por esses melhoramentos.

Do estudo bacteriologico das aguas da rêde de abastecimento reservatorios, mananciaes e exgottos, feito de accôrdo com a orientação da planta epidemiologica da cidade, pesquisando de preferencia as zonas flagelladas, constatou a Commissão que a rêde de abastecimento poude ser dividida em quatro zonas, de accôrdo com a sua maior ou menor polluição: «a de aguas peiores, pessimas, como a da rua Saldanha Marinho, etc., (0,05 a 0,005 de contaminação); a das aguas más (0,1 a 0,5), como Pedro Ivo, Silva Jardim, Avenida Iguassú, etc.; a das aguas melhores (5,0), como na rua Conselheiro Barradas, Avenida Concordia, Praça Santos Andrade, etc., e a de aguas boas, como as adjacencias da caixa distribuidora, della directamente abastecidas».

Em seguida diz o *Dr. Bayma:* «Em todos os pontos onde a agua se mostrou por essa forma polluida, foi grande o numero de pessoas atacadas pelo mal, sendo raros os casos nas zonas onde a agua não se achaya inquinada».

No entanto, as pesquizas sobre a agua da Serra, em sua origem, indicavam que ella podia ser incluida na escala das aguas puras, só tendo sido encontrado o bacillo «coli communis» em 250 c. c., e assim mesmo coli atypico.

Ficou, portanto, demonstrado tratar-se de polluição das

aguas na rêde de abastecimento.

A enorme differença entre o indice coli das aguas dos mananciaes e reprezas e o das zonas em que se constataram casos de febre typhoide, não podia levar a outra conclusão.

A Commissão apontou os contactos entre a rêde de exgottos e a de abastecimento de aguas — causa da polluição e consequente epidemia, — que incontinenti foram reparados, dando o resultado esperado.

Antes de iniciar os nossos trabalhos solicitamos da Directoria de Saúde Publica dados sobre a incidencia da febre typhoide, que sabemos grassar endemicamente e, ás vezes, com exacerbações epidemicas, nesta cidade. Infelizmente essas informações foram incompletas, não sendo possível com rigor separar os casos importados dos autochtones, nem saber a distribuição geographica destes pela cidade, o que nos impedio de organisar a carta epidemiologica dos casos deste Municipio.

Graças á boa vontade do Sr. Dr. José Loyola, Director Geral de Saúde Publica, e de seus auxiliares, conseguimos o sufficiente para organisar o graphico I, referente ás curvas de mortalidade por febre typhoide em Curityba desde 1905 até

1929 e o graphico II, da mortalidade no anno de 1929, este

com a distribuição de casos por mezes.

A leitura do graphico I nos mostra que a febre typhoide em Curityba é endemica com exacerbações epidemicas, e a These do Dr. Jayme Drumond Reis, citada pelo Dr. Theodoro Bayma, affirma que isso se dá «ha mais de dous seculos porque em documentos, escriptos em 1675, já são narradas as suas façanhas, ceifando normalmente, quer quando faz suas investidas sob a forma de pequena epidemia, quer quando reina como grande epidemia, muitas vidas».

Pelo graphico II sobre a mortalidade em 1929, e outros dados que a seguir daremos, ve-se que actualmente não ha epidemia de febre typhoide em Curityba: a sua incidencia é a do estado endemico que se vem mantendo, ha muitos annos, com pequenas oscillações, exceptuando-se a epidemia dos mezes de Setembro, Outubro e Novembro de 1917, que se vê no graphico III.

Damos a seguir uma lista dos casos autochtones de tebre typhoide e paratyphoides que entraram para o Hospital Oswaldo Cruz, no anno de 1929, com a sua residencia e exis-

tencia ou não de installação sanitaria.

	Nomes	Residencia	Installação sanitaria
Fevereiro	A. D.	Grande Hotel	sim
3	M. J. D.	Rua João Negrão	sim
•	A. E. G.	Cajurú	não
	Е. В.	Prado	não
•	N. W.	Prado	não
Março	E. F.	Cajurú	não
>	P. B.	Cajurú	não
5	M. M.	Villa Monteiro	não
Abril	R. L.	C. Santa Felicidade	não
X	A T F.	C. Angelina	não
₹ °	E. W.	Batel	sim
>	R. M.	Praça Osorio	sim
	A. L. P.	Villa Parolim	não
Agosto	O. N.	Rua Ebano Pereira	sim
Donombus	A. T.	Rua do Rosario	sim
Dezembro	J. C. G.	Alto Cabral	não
₽•	A. M. F.	Alto da Caixa d'Agua	não

Casos autochtones	17
Sem installação sanitaria	11
Com installação sanitaria	6

Pelos graphicos e dados acima vê-se que não houve em 1929 epidemia de febre typhoide em Curityba, e que a incidencia dessa molestia nesta cidade é maior nas zonas onde não chegam as installações sanitarias. Ha factores que concorrem em Curityba para que se mantenha a febre typhoide endemica, como sejam: disposição dos excretas onde não chegam os exgottos, aguas de poços e de nascentes polluidas; moscas, fructas, principalmente as rasteiras e desprovidas de cascas como os morangos; portadores de germens, não se devendo dar alta a nenhum curado de febre typhoide sem dois exames negativos das fézes e urinas com respeito aos B. typhosus e paratyphosus A e B. E convem assignalar que mesmo dentro da cidade, e mais ainda nos seus arredores, commumente são aproveitados os depositos das fossas como adubo.

Nos hoteis, uma das mais communs sobremesas é a de

morangos.

O uso de aguas de fontes não examinadas bacteriologicamente é muito commum em Curityba, porque ao povo não lhe agrada a agua das torneiras, levado pela côr que ellas sempre apresentam e que se accentúa com as chuvas.

No anno de 1929 o coefficiente de lethalidade por febre typhoide no Municipio de Curityba foi de 16 por 100.000 habitantes (os dados officiaes dão Curityba com 100.000 habitantes). Esse coefficiente é um dos menores até hoje registados; e mesmo assim ultrapassa os coefficientes geralmente acceitos como de causas extranhas á agua.

Se tomarmos a media dos ultimos cinco annos, vemos que esse coefficiente foi de 23,8 e, portanto, muito elevado, como se pode observar no quadro que segue:

Mortalidade pela Febre Typhoide no Municipio de Curytiba nos ultimos 18 annos

Annos	Ohitea	COEFFICIENTES					
	Obitos	Por 100.000 habts.	Quinquennaes				
1917	121	167,5					
1918	52	71,2					
1919	21	28,3					
1920	20	25,5					
1921	25	31,4					
1922	17	29,8	24,0				
1923	14	16,8					
1924	14	16,5					
1925	28	32,57					
1926	23	26,2					
1927	17	18,0	23,8				
1928	25	26,3	•				
1 92 9	16	16,0					

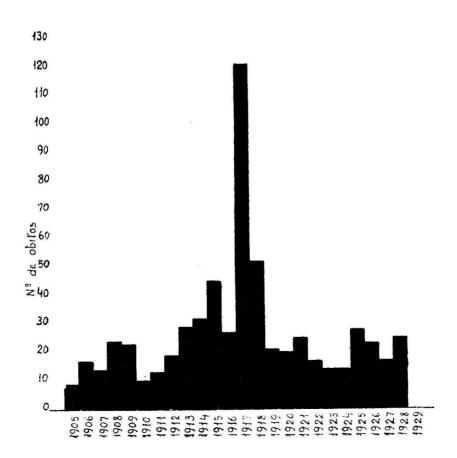
Os casos de 1929 são todos autochtones, o que foi por nós verificado; quanto aos dos outros annos, elles nos foram fornecidos pela Directoria Geral de Saúde Publica com a informação de que se tratava igualmente de casos au-

tochtones.

O elevado coefficiente de mortalidade por febre typhoide que acabamos de assignalar, faz suspeitar das aguas de Curityba, razão pela qual o Exmo. Sr. Dr. Affonso de Camargo, D.D. Presidente do Estado do Paraná julgou de conveniencia fossem ellas examinadas.

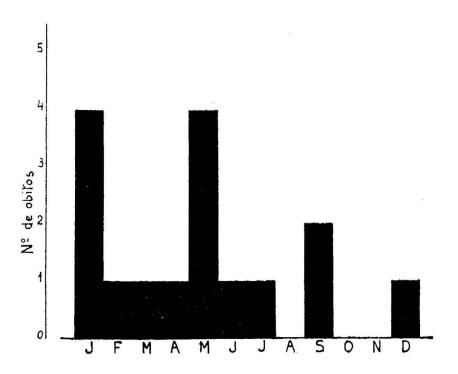
Graphico I

Mortalidade annual pela Febre typhoide no Municipio de Curityba 1905-1929



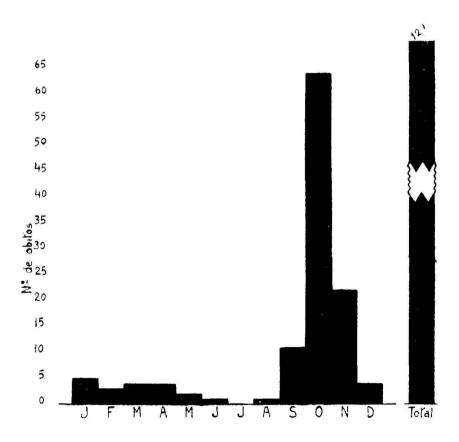
Graphico II

Mortalidade pela Febre typhoide no Municipio de Curityba em 1929 Distribuição dos obitos por mezes



Graphico III

Epidemia de Febre typhoide no Municipio de Curityba em 1917 Distribuição mensal dos obitos



II

Um methodo padrão para exame de aguas

A importancia e responsabilidade das analyses de que tomos incumbidos não nos permitte lançar mão de qualquer methodo no exame bacteriologico das aguas de abastecimento de Curityba.

Cada Paiz, Estado, Instituto, regulamento sanitario, bacteriologista, etc., adopta um methodo de exame com os respectivos indices acceitaveis na interpretação de seus resultados. Como diz *Rosenau*, essa confusão trazida pelas preferencias pessoaes do analysta impossibilita comparar-se o exame de um laboratorio com o de outro.

. Escolhemos um methodo que se póde affirmar sem receio de contestação ser o mais pratico, completo e efficiente apparecido até esta data sobre o assumpto.

Trata-se do «Standard Methods of Water Analysis» (Sixth edition, 1925), que está sendo adoptado como *Methodo Padrão*, não só nos Estados Unidos da America do Norte, como tambem em quasi todas as partes do mundo. E' trabalho feito por uma commissão de especialistas na materia e publicado pela «American Public Health Association». Sobre elle diz Rosenau «The work of this committee constitutes one of the most important contributions ever made to the subject».

E' o methodo adoptado pelo Instituto de Hygiene de São Paulo, do qual somos assistente.

O «Standard Methods of Water Analysis» seguindo as tendencias actuaes exigidas e tidas como indispensaveis no exame sanitario de aguas de abastecimento publico, só cogita, na parte bacteriologica, da contagem de germens e determinação do indice coli.

O methodo é minucioso, começando a descrever frascos para a colheita das amostras de agua, pipetas, placas de Petri, tubos de fermentação, etc. Trata dos materiaes e drogas usados no preparo dos meios, do ajustamento de sua reacção pela determinação da concentração do ion-hydrogenio, esterilisação, etc.

Para a armazenagem e transporte de uma amostra, o tempo permittido entre o momento da colheita e o inicio do exame não deverá exceder a seis horas para aguas impuras, e doze para aguas relativamente puras. Durante esse periodo a temperatura deverá ser mantida, tão proxima quanto possivel, da temperatura de 10°C, o que se consegue com caixa propria onde os frascos com as amostras são rodeados de gelo. Qualquer desvio desse limite deverá ser especificado no relatorio.

Contagem de germens — As placas de Petri para a contagem de germens devem ser de dez centimetros de diametro, e a sua parte inferior tão plana quanto possivel, para que o meio fique em grossura uniforme por toda a placa.

Ao fazer as diluições da amostra os frascos devem ser agitados rigorosamente 25 vezes. As placas deverão ser feitas immediatamente após as diluições, collocando-se 1 c.c. da amostra ou diluições nas placas antes da addição do meio de cultura. O meio depois de fundido e esfriado a 40° será addicionado ás placas, dez c.c. em cada uma. A mistura é feita inclinando-se ou girando-se a placa. As placas com gelatina vão immediatamente para a estufa a 20°C e as de gelose, a 37°C.

A contagem é feita com uma lente de augmento de 21/2 diametros. As colonias das placas com gelose serão contadas após 24 horas de estufa a 37°C e as com gelatina após 48 horas na temperatura a 20°C.

No preparo das placas as diluições da amostra são feitas com o fim de se obter de 30 a 300 colonias em uma placa, devendo pelo menos duas placas darem colonias nestes limites. O methodo ensina o modo de exprimir os resultados numericos das bacterias por c.c.

Presença de membros do grupo B. coli — O indice coli é determinado pela presença de membros do grupo coli, que o methodo recommenda considerar todos os bacillos não esporulados, Gram negativos, que termentarem a lactose com producção de gaz e crescerem aerobicamente nos meios solidos padrões.

Para que a determinação do indice coli tenha significação quantitativa determina o methodo que se semeie em caldo lactosado a 0,5 % fracções decimaes de um centimetro cubico: 10 c.c., 1 c.c., 0,01 c.c., 0,001 c.c., etc. Podem ser usados tubos de fermentação de qualquer typo, devendo, comtudo, ter pelo menos 3 vezes mais de meio que a quantidade de agua a examinar.

São tres as provas para a determinação do indice coli:

1) Prova presumptiva; 2) Prova parcialmente confirmada;

3) Prova completa.

1) — Prova presumptiva — No maior tubo de fermentação semear 10 c.c. da amostra e quando for necessario examinar quantidades maiores, tantos tubos quantos forem, necessarios serão semeados com 10 c.c. cada um. Nos outros tubos 1 c.c., 0,1 c.c., 0,01 c.c., 0,001 c.c., etc. Collocar esses tubos na estufa a 37°C e fazer a leitura 24 e 48 horas após.

A formação de gaz, em 24 horas, em quantidade maior que 10 % do braço fechado do tubo de fermentação, constitue uma prova presumptiva positiva. Não havendo formação de gaz em 24 horas, a incubação deverá ser prolongada

até 48 horas. E a presença de gaz em qualquer quantidade que então apparecer constitue uma prova duvidosa, que precisa ser confirmada.

E' negativa a prova se após 48 horas de estufa não se observar a formação de gaz.

2) — Prova parcialmente confirmada — Semear placas de Endo ou de eosina-azul de methyleno, do tubo que, após 48 horas de estuta, mostrar formação de gaz na menor quantidade da agua examinada.

Após incubação de 18 a 24 horas, será considerada positiva a prova se se desenvolverem colonias typicas, fermentando a lactose do meio, semelhantes ás do grupo coli.

Se não se desenvolverem colonias typicas no espaço de 24 horas — o que ás vezes se observa com membros do grupo coli, que podem acidificar o meio lentamente — o exame deve ser continuado como indica a prova completa.

3) — Prova completa — Das placas isolar pelo menos duas colonias typicas, transferindo-as para um tubo de gelose inclinada e para um tubo de fermentação de caldo lactosado.

Se dentro de 24 horas não tiverem apparecido colonias typicas, incubar por mais 24 horas, transferindo, em seguida, pelo menos duas colonias consideradas como sendo parecidas com as de *B. coli*, mesmo que não sejam typicas, para agar inclinado e tubos de fermentação com caldo lactosado.

Incubar os tubos de fermentação e verificar a formação de gaz durante 48 horas. Os tubos de gelose tambem permanecem 48 horas na estufa a 37°C, fazendo-se o exame microscopico pelo menos de uma cultura que tiver fermentado com producção de gaz no tubo de fermentação.

O methodo affirma ser satisfatorio para a demonstração da presença de um membro do grupo do *B. coli* a formação de gaz no caldo lactosado e de tratar-se de bacillos não esporulados.

Ha muitos outros detalhes. Damos apenas um resumo do methodo. Elle foi por nós seguido em suas linhas geraes.

Ш

Considerações sobre a contagem de bacterias

Em geral quasi todos os methodos bacteriometricos são passiveis de critica.

A contagem directa ao microscopio não distingue microbios vivos de microbios mortos.

Na contagem em gelatina a 20º nascem melhor os germens communs das aguas, ao passo que os pathogenicos vegetam de preferencia a 37º, em agar.

Na gelatina pode-se contar o numero de colonias que a liquefazem. Sabe-se que nas aguas impuras o numero de

bacterias que liquefazem a gelatina é grande.

Os methodos padrões modernos não cogitam mais da pesquisa nas aguas das bacterias thermophilas, microbios que vegetam a uma temperatura comprehendida entre 50 a 70°. Muitas bacterias thermophilas têm sido isoladas do intestino delgado (Rabinowitsh).

Na bacteriometria em gelose e gelatina, em placas, contam-se apenas os germens aerobios que vegetam nesses meios, que são preparados com pH favoravel aos germens do grupo coli-typhico, não podendo vegetar aquelles que de-

pendem de reacções e meios especiaes.

Tambem o indice anaerobico só pode ser determinado por processo especial, com meio proprio, em tubos de Vignal ou em placas.

A pesquisa dos anaerobios tem particular importancia no exame de aguas de poço, onde a sua existencia mostra a

presença de materia organica.

Damos preferencia na determinação do indice anaerobio ao processo em placas que Weinberg e Ginsbourg aconselham para a pesquisa de anaerobios na agua, e que se baseia no seguinte: em 1919 Neuberg e Nord demonstraram que o B. perfringens reduz o sulfito de sodio em enxofre; sendo essa propriedade applicada mais tarde (1924) por Wilson e Mc V. Blair no isolamento desses microbios na agua, por tratar-se de caracter commum á maioria dos anaerobios. O meio é o seguinte: gelose glycosada a 3 % — 100 c.c.; solução em agua distillada de sulfito de sodio a 20 % (frescamente preparada), 10 c.c.; solução de chlorureto de ferro a 8 % — 1 c.c.

Nesse meio o B. perfringens, B. fallox, V. septico, B. chauvoei e o B. sporogenes dão colonias negras, os B. tetanico e histolytico colonias de um negro esverdeado; sendo inconstantes os resultados do B. oedematiens.

O exame em placas com esse meio é feito da seguinte maneira: 20 c.c. da gelose sulfito-glycose-ferro, esfriada a 60° é bem misturada com 20 c.c. da agua a examinar e em seguida derramada em uma grande placa de Petri. Cobrir com nova camada de uma mistura identica; em seguida, após resfriamento, juntar 20 c.c. de gelose com parte igual de agua esteril.

Weinberg e Ginsbourg dizem que, praticamente, todas as colonias negras podem ser consideradas como formadas pelo B. perfringens; e que, dando uma agua de fonte mais de duas colonias negras em 10 c.c. — deve ser considerada como suspeita.

O «Standard Methods of Water Analysis», por nós adoptado, só determina a contagem de germens aerobios em gelatina e gelose. Na gelatina a leitura é feita após 48 horas

na temperatura de 20°, e na gelose após 24 horas na estufa a 37°.

Sobre a questão de saber-se após quantos dias deve ser feita a leitura, não ha accôrdo entre os bacteriologistas; e pena é que muitos fallem no numero de colonias que devem conter as aguas boas, ou as más, sem se referirem da maneira que são contadas as colonias, principalmente quantos dias de incubação ou de temperatura ambiente e se a contagem foi feita com lente ou não, etc.

Os autores francezes dão preferencia á contagem em gelatina, fazendo a leitura após 15 días de permanencia mais ou menos a 20°. No caso das colonias que liquefazem a gelatina serem muitas, torna-se necessario fazer essa leitura antes, o que daria um numero de colonias inferior á realidade. E' a razão pela qual H. Vincent aconselhou multiplicar esse numero por um coefficiente variavel com o numero de dias, dando uma escala que os livros francezes geralmente publicam.

Pelo «Standard Methods» a leitura das placas em gelatina é feita em 48 horas; ao passo que de accôrdo com o coefficiente de *H. Vincent* o numero de colonias encontradas em 48 horas deve ser multiplicado por 19.6, porque calcula as colonias que deveriam vegetar em 15 dias.

Sobre o julgamento sanitario de uma agua pelo numero

de germens, vamos citar algumas opiniões:

Diz Rosenau: «From Germany we have the arbitrary standard based upon the dictum of Koch that a good water should not contain over 100 bacteria per c.c. This is good working rule, but should not be taken too literally». Continuando, diz que a agua póde conter um grande numero de bacterias que lhe são proprias, vegetando na temperatura ambiente e não sendo prejudiciaes ao homem.

Varia muito o indice acceitavel de bacterias segundo se trata de aguas superficiaes, profundas, etc., assim como a qualidade dos germens encontrados.

Segundo Rosenau, as aguas superficiaes para serem acceitaveis não deverão ter mais que alguns centos de bacterias por c.c. na contagem a 20°C, e menos que 100 por c.c. a 37°C.

A opinião de Ford (William W. Ford) é a seguinte: «A safe standard for drinking—is 50 to 100 bacteria per cubic centimeter. Higher counts are sometimes permissible when the water is demonstrably free fecal pollution, while strict standards are sometimes necessary when a constant stream of fecal material is passing into a large body of water».

Não nos podemos estender aqui sobre os varios factores que fazem variar o numero de germens nas aguas, principalmente das aguas superficiaes, variações de accôrdo com a estação do anno, concorrendo para isso a quantidade de chuvas, etc. «The rainfall is the main factor which causes these seasonal variations; but its specific effect differs with different streams. The immediate result of a smart shower is always to increase contamination by introducing fresh wash from the surface of the ground. More prolonged moderale rain, however, exerts an opposite effect, and after the main impurities which can be washed away have been removed, may dilute the stream with water purer than itself» (Prescott and Winslow).

O effeito das chuvas depende tambem do caracter do rio. Embora de boa qualidade um rio mostra augmento de germens no periodo das chuvas; ao passo que outro muito polluido, recebendo constantemente esta polluição, ella é diluida pelo augmento das aguas, dando como resultado um menor numero de germens nesse periodo.

Prescott e Winslow citam no seu livro os estudos de Kissbalt (1906), feitos com a agua de dois rios: o Lahn, considerado como bom e o Wiesseck, altamente polluido. Nos mezes das chuvas o Lahn apresentava 3 a 4 vezes mais colonias por c.c., dando-se o contrario com o Wieseck, que as apresentava diminuidas mais ou menos da metade nessa epoca.

Nas aguas guardadas nos reservatorios, a sedimentação, auto-depuração e tantos outros factores concorrem para a diminuição das bacterias.

Na contagem de bacterias devem ser lembrados outros factores que tambem são importantes, como o numero de horas entre a colheita da amostra e o momento de ser semeada, o tamanho do vidro, a qualidade do meio em que é semeada, a marca da peptona usada, etc.

IV

Considerações sobre "Indice coli"

O medico inglez *Budd* (1856) é citado como dos primeiros que suspeitaram da transmissão da febre typhoide pelas aguas de abastecimentos e que essa polluição provinha de fézes humanas.

Hans Zinsser diz: «Desde aquelle tempo a investigação bacteriologica e a purificação sanitaria da agua em larga escala provaram sem possibilidade de duvidas o perigo de abastecimento de agua a esse respeito. Em um pequeno numero de casos foi observada prova directa da presença do Bacillus typhosus na agua de abastecimento. Em regra geral só é feita a prova indirecta, pois a rapida diluição, a demora nas pesquizas emprehendidas sobre a agua depois do appareci-

mento de casos, e muitas outras circumstancias que causam a destruição ou morte do bacillo no abastecimento de agua, tornam muito difficil a demonstração desses bacillos na agua. A prova indirecta entretanto, tem sido perfeitamente convincente pois a presença do coli-bacillo tem revelado a contaminação extrema por meio de fézes nas aguas provadas epidemiologicamente como transmissoras da febre typhoide».

A pouca resistencia do bacillo da febre typhoide nas aguas levou os bacteriologistas a uma prova indirecta da sua provavel presença pela pesquisa de bacillos do grupo coli, commumente encontrados nas fézes humanas.

Sedgwick e Winslow (1902) affirmaram que mesmo em gelo 40 % de bacillos typhicos morrem em 3 horas e 98 % em duas semanas. Houston (1908) tambem demonstrou que quando uma agua é artificialmente infectada com bacillo typhico, 99,9 % desses germens morrem em uma semana (cit. Prescott and Winslow).

Emfim, precisariamos de centenas de folhas para resumir os trabalhos que demonstram a fraca resistencia dos bacillos typhicos nas aguas e todos os factores que para isso concorrem.

Num caso de epidemia de cholera deve-se pesquisar o vibrião cholerico nas aguas pelos processos de enriquecimento conhecidos; o mesmo se devendo fazer em caso franco de epidemia de febre typhoide. Mas o caso por exemplo de não ser encontrado o bacillo da febre typhoide importa pouco no exame sanitario da agua pelos motivos acima expostos.

Actual isolations of the typhoid bacillus from water

are, however, surprisingly few» (Ford).

No seu Text-Book of Bacteriology, ainda diz Ford: «In general attemps to isolate the typhoid bacillus from water are practically fruitless».

Sobre o assumpto diz Rosenau: «It is comparatively easy to isolate colon bacilli and to determine their approximate number in a water. It is also comparatively easy to isolate the cholera vibrio. Methods for determining whether a water does or does not contain typhoid, dysentery, and other pathogenic parasites are tedious, difficult, and oftenimpossible in the present state of our knowledge». (1927).

A opinião geral é essa, e não precisamos adduzir mais citações nesse sentido.

São essas tambem as razões pelas quaes não fizemos minuciosas e prolongadas pesquizas do B. typhosus nas aguas de Curityba; o que fariamos, comtudo, se estivessemos em franca epidemia de febre typhoide.

O exame sanitario de uma agua de abastecimento publico é modernamente feito pela contagem do numero de bacterias e presença ou ausencia de bacterias intestinaes, membros do grupo coli-aerogenes, em quantidades variaveis de agua, como vimos no methodo por nós resumido.

Consideram os bacteriologistas como pertencendo ao grupo coli-aerogenes os bacillos Gram-negativos, não esporulados que termentam a lactose com producção de gaz e vegetam aerobicamente.

Quanto ao valor do indice coli no julgamento sanitario de uma agua devemos assignalar que ha regulamentos sanitarios de exigencias variaveis dentro de certos limites.

«The presence of Bacillus coli regulary in 1 c.c. quantities of water is usually an indication that the water is receiving tecal pollution. Its presence in smaller quantities may be regarded as evidence of serious contamination. Its occasional presence in larger quantities, 3 c.c. and 5 c.c. should be made the occasion for carefully scrutinizing the sources of the water supply» (Ford).

A opinião de *Rosenau* (Preventive Medicine and Hygiene, 1927), é que nas aguas superficiaes o coli bacillo não deve estar presente em 1 c.c., e não habitualmente em 10 c.c.

Hans Zinsser cita a opinião de Rosenau.

Calmette, Negre e Boquet (Manuel Technique de Microbiologie et Sérologie, 1925), dizem que quando a agua contem 100, 500, 1.000 B. coli por litro, ou numero mais elevado, deve ser considerada como muito suspeita e perigosa para a alimentação; e apenas suspeita no caso de conter de 10 a 100 B. coli por litro.

A opinião emittida por Sevage já em 1914, foi que sescretal *B. coli* should be absent from 100 c.c. of deep water supplies and from 10 c.c. of surfaces waters».

A commissão americana do Serviço Federal dos Estados Unidos adoptava até ha bem pouco tempo o indice de 1 em 100 c.c.

As aguas tratadas de São Paulo apresentam geralmente esse indice, segundo observamos em grande numero de exames feitos.

Das citações que acabamos de fazer vemos que os autores ora fallam em *B. coli*, ora em grupo coli.

E' preciso que isto fique bem esclarecido.

O «Standard Methods of Water Analysis», que seguimos nos nossos exames, determina o *indice coli* pela presença de membros desse grupo e não pela pesquisa do *B. coli*. Determina, portanto, o *indice do Grupo coli*.

No tocante ás aguas de abastecimento, o indice colí é o principal criterio no julgamento de sua qualidade.

٧

Exame das agradas, mananciaes, reservatorios, caixas e rêde de distribuição.

Foram examinadas com methodo as aguas dos mananciaes da Serra, das reprezas, caixas da cidade e de toda a rêde de distribuição.

Quasi todos os mananciaes que se encontram na Serra do Marumby, distando hora e meia de automovel, de Curityba, vão ter á Repreza do Carvalho, que se acha nessa mesma serra, e são os seguintes: Iporan, Cayuguava, Urú, Tangará, Mico, Carambola, Braço, Iporangá e Iporanguinha.

Dois outros mananciaes da mesma zona vão ter directamente á linha adductora: as aguas do Salto e do Cayuguava 2.

As aguas de todos esses mananciaes vão ter ao grande reservatorio São Francisco, já dentro da Cidade, e deste a outras duas caixas: a do Batel e a do Alto do Cabral.

Cada uma dessas tres caixas distribue agua directamente a uma parte da cidade.

Colhemos sempre duas amostras, na mesma hora: uma da caixa e outra das ultimas casas em que chegava a distribuição da agua dessa caixa. Assim qualquer contaminação da rêde de distribuição será assignalada pela differença do indice coli e contagem de colonias.

Damos um modelo dos exames completos e a seguir um resumo desses exames.

Os exames foram longamente commentados um por um no relatorio apresentado ao Governo do Estado do Paraná.

MODELO

RELATORIO SOBR	EOEX	AME E	BACTE	RIOL	OGIÇO	DA AG	UA DO
Curitybade		de 1	9 perati	ıra an	. Ás ibiente.		
Temperatura de agu Quantidade da amos Transporte	stra						
Intervallo de tempo semeada,							
			IA.	I	llui	8 e ő ş	
7		Tempo	1 c.c.	0,1 cc.	0,01 c.c.	0,00	1 c.c.
I Contagem total	Agar	24 horas a 37°C 48 horas			ļ		
	Gelatina	a 20°C			-		
						o de g	a z
II		0.1	10 cc.	1 cc.	0,1 cc.	0,01 cc.	0,001 cc.
Prova presumpti- va para o Gru-	Caldo lacto-	24 horas a 37°C					
po Coli	sado	48 horas a 37°C					
III Prova parcialmente confirmada							
	Para o G	rupe celi	identif	cação de	s germens	Re	sultado
IV Prova completa	S &	C. Jactosado Gram Esporos	Lactose Dextrose Mannita	Maltose Saccharose	Dulcita Salicina Adonita	Indol	
	1 2 3 4 5						
	C	DNC	LU	o e	S		
Numero total de co							l horas a
87°C Numero total de col	lonias d	esenvo	lvidas	em g	elatina	durante	
a 20°C Bacillus coli (prova							
Bacillus coli (provi	a parcis	lmente	confi	mada)			
Bacillus coli (provi Identificação							
Indice coli							
	COL	MME	DN'T	AR	os		
****************							*********

Resumo dos exames

EXAME A

Relatorio sobre o exame Bacteriologico da agua do Reservatorio S. Francisco.

Numero total de colonias desenvolvidas em agar durante 24 horas a 37°C — 16.

Numero total de colonias desenvolvidas em gelatina durante 48 horas a 20°C -- 35.

Bacillus coli (prova presumptiva) — Positiva em 10 c.c.

Bacillus coli (prova parcialmente confirmada) - Positiva.

Bacillus coli (prova completamente confirmada) — Positiva.

Identificação — Foram isoladas 5 colonias suspeitas do grupo coli e identificadas 3 (A 1, A 2, A 3).

Indice coli — 0,1 por c.c.

EXAME B

Belatorio sobre o exame Bacteriologico da agua colhida na Universidade do Paraná. (Agua do Reservatorio S. Francisco).

Numero total de colonias desenvolvidas em agar durante 24 horas a 37°C - 9.

Numero total de colonias desenvolvidas em gelatina durante 48 horas a 20°C -26.

Bacillus coli (prova presumptiva) — Positiva em 10 c.c. após 48 horas.

Bacillus coli (prova parcialmente confirmada) — Positiva.

Bacillus coli (prova completamente confirmada) — Positiva.

Identificação — Foram isoladas e identificadas 3 colonias suspeitas do grupo coli (B 1, B 2, B 3).

Indice $col_1 - 0,1$ por c.c.

EXAME C

Relatorio sobre o exame Bacteriologico da agua do reservatorio do Batel.

Numero total de colonias desenvolvidas em agar durante 24 horas a $37^{\circ}\text{C} - 3$.

Numero total de colonias desenvolvidas em gelatina durante 48 horas a $20^{\circ}\text{C} - 6$.

·Bacillus coli (prova presumptiva) — Negativa em 10 c.c.

EXAME D

Relatorio sobre o exame Bacteriologico da agua colhida no grupo Escolar Barão do Rio Branco. — (Avenida Silva Jardim. (Agua do Res. Batel).

Numero total de colonias desenvolvidas em agar durante 24 horas a 37°C — 5.

Numero total de colonias desenvolvidas em gelatina durante 48 horas a 20°C -12.

Bacillus coli (prova presumptiva) — Duvidosa em 10 c.c. (menos de 1/10 de gaz).

Bacillus coli (prova parcialmente confirmada) — Positiva. Bacillus coli (prova completamente confirmada) — Positiva. Identificação — Foram isoladas 4 colonias suspeitas do grupo coli e identificadas 3 (D 1, D 2, D, 3).

Indice coli -0.1 por c.c.

EXAME E

Relatorio sobre o exame Bacteriologico da agua colhida na torneira do Jardim da casa do Dr. Abelardo Fernandes. — Alto do Cabral.

Numero total de colonias desenvolvidas em agar durante 24 hora a 37°C — 38.

Numero total de colonias desenvolvidas em gelatina durante 48 horas a 20°C -- 425.

Bacillus coli (prova presumptiva) — Positiva em 1 c.c. Bacillus coli (prova parcialmente confirmada) — Positiva. Bacillus coli (prova completamente confirmada) — Positiva. Identificação — Foram isoladas 3 colonias suspeitas do grupo coli e identificadas 2 (E 1, E 2).

Indice coli - 1 por c.c.

EXAME F.

Relatorio sobre o exame Bacteriologico da agua colhida no Quartel do V Batalhão de Engenharia, Bacachery (Agua do Alto do Cabral).

Numero total de colonias desenvolvidas em agar durante 24 horas a 37°C — 230.

Numero total de colonias desenvolvidas em gelatina durante 48 horas a 20°C — 1.200.

Bacillus coli (prova presumptiva) — Positiva em 1 c.c.

Bacillus coli (prova parcialmente confirmada) — Positiva.

Bacillus coli (prova completamente confirmada) — Positiva.

Identificação — Foram isoladas 3 colonias suspeitas do grupo coli e identificadas 2 (F 1, F 2).

Indice coli — 1 por c.c.

EXAME G

Relatorio sobre o exame Bacteriologico da Agna da Reprêsa do Carvalho (Serra).

Numero total de colonias desenvolvidas em agar durante 24 horas a $37 \circ C - 24$.

Numero total de colonias desenvolvidas em gelatina durante 48 horas a 20°C - 65.

Bacillus coli (prova presumptiva) - Positiva em 10 c.c. após 48 horas.

Bacillus coli (prova parcialmente confirmada) — Positiva.

Bacillus coli (prova completamente confirmada) - Positiva.

Identificação — Foram isoladas 4 colonias suspeitas do grupo coli e identificadas 2 (G 1, G 2).

Indice coli — 1 por c.c.

EXAME H

Relatorio sobre o exame Bacteriologico da agua do Cayuguava n.º 2 (Serra).

Numero total de colonias desenvolvidas em agar durante 24 horas a 37°C - 50.

Numero total de colonias desenvolvidas em gelatina durante 48 horas a 20°C — 170.

Bacillus coli (prova presumptiva) - Positiva em 10 c.c.

Bacillus coli (prova parcialmente confirmada) — Positiva.

Bacillus coli (prova completamente confirmada) - Positiva.

Identificação - Foram isoladas e identificadas 2 colonias suspeitas do grupo coli (H 1, H 2).

Indice coli -0.1 por c.c.

EXAME I

Relatorio sobre o exame Bacteriologico da agua do reservatorio São Francisco (2.º exame).

Numero total de colonias desenvolvidas em agar durante 24 horas a 37°C - 14.

Numero total de colonias desenvolvidas em gelatina durante 48 horas a $20^{\circ}C - 34$.

Bacillus coli (prova presumptiva) — Positiva em 10 c.c. Bacillus coli (prova parcialmente confirmada) - Positiva. Bacillus coli (prova completamente confirmada) — Positiva. Identificação — Foram isoladas e identificadas 2 colonias suspeitas do grupo coli (I 1, I 2). Indice coli — 0,1 por c.c.

EXAME J

Relatorio sobre o exame Bacteriologico da agua do Bacachery. Casa do Sr. Santo Guadanhim. (Agua do Alto do Cabral).

Numero total de colonias desenvolvidas em agar durante 24 horas a 37°C — 34.

Numero total de colonias desenvolvidas em gelatina durante 48 horas a 20°C — 300.

Bacillus coli (prova presumptiva) — Positiva em 1 c.c. após 48 horas.

Bacillus coli (prova parcialmente confirmada) — Positiva. Bacillus coli (prova completamente confirmada) — Positiva. Identificação — Foram isoladas e identificadas 2 colonias suspeitas do grupo coli (J 1, J 2).

·Indice coli — 1 por c.c.

EXAME K

Relatorio sobre o exame Bacteriologico da agua da Represa do Carvalho. 2.º exame (Serra).

Numero total de colonias desenvolvidas em agar durante 24 horas a 37°C - 50.

Numero total de colonias desenvolvidas em gelatina durante 48 horas a 20°C — 350.

Bacillus coli (prova presumptiva) — Positiva em 10 c.c. Bacillus coli (prova parcialmente confirmada) — Positiva. Bacillus coli (prova completamente confirmada) — Positiva. Identificação — Foram isoladas 3 colonias suspeitas do grupo coli e identificadas 2 (K 1, K 2).

Indice coli -0.1 por c.c.

EXAME L

Relatorio sobre o exame Bacteriologico da Agua do Salto (Serra)

Numero total de colonias desenvolvidas em agar durante 24 horas a 37°C — 85.

Numero total de colonias desenvolvidas em gelatina durante 48 horas a $20^{\circ}\text{C} - 225$.

Bacillus coli (prova presumptiva) — Positiva em 10 c.c. Bacillus coli (prova parcialmente confirmada) — Positiva.

Bacillus coli (prova completamente confirmada) — Positiva. Identificação — Foram isoladas e identificadas 3 colonias suspeitas do grupo coli (L 1, L 2, L 3). Indice coli — 0,1 por c.c.

EXAME M

Relatorio sobre o exame Bacteriologico da agua do Reservatorio do Batel (2.º exame).

Numero total de colonias desenvolvidas em agar durante 24 horas a 37°C — 10.

Numero total de colonias desenvolvidas em gelatina durante 48 horas a $20^{\circ}\text{C} - 21$.

Bacillus coli (prova presumptiva) — Positiva após 48 horas em 10 c.c.

Bacillus coli (prova parcialmente confirmada) — Positiva. Bacillus coli (prova completamente confirmada) — Positiva. Identificação — Foram isoladas e identificadas 3 colonias suspeitas do grupo coli (M 1, M 2, M 3).

Indice coli -0.1 por c.c.

EXAME N

Relatorio sobre o exame Bacteriologico da agua colhida no Bacachery, na casa do Sr. Valerio Molinari (Agua do Alto do Cabral, 4,º exame).

Numero total de colonias desenvolvidas em agar durante 24 horas a 37°C — 19.

Numero total de colonias desenvolvidas em gelatina durante 48 horas a 20°C — Não foi feito.

Bacillus coli (prova presumptiva) — Positiva em 10 c.c. Bacillus coli (prova parcialmente confirmada) — Positiva. Bacillus coli (prova completamente confirmada) — Positiva.

Identificação — Foram isoladas 3 colonias suspeitas do grupo coli e identificadas 2 (N 1, N 2).

Indice coli -0,1 por c.c.

EXAME O

Belatorio sobre o exame Bacteriologico do reservatorio São Francisco (3.º exame)

Numero total de colonias desenvolvidas em agar durante 24 horas a 37°C — 33.

Numero total de colonias desenvolvidas em gelatina durante 48 horas a 20°C — 65.

Bacillus coli (prova presumptiva) — Positiva em 10 c.c. Bacillus coli (prova parcialmente confirmada) — Positiva. Bacillus coli (prova completamente confirmada) — Positiva. Indentificação — Foram isoladas 5 colonias suspeitas do grupo coli e identificadas 3 (O 1, O 2, O 3).

Indice coli — 0,1 por c.c.

VI

Discussão dos exames

O «Standard Methods of Water Analysis», por nós adoptado nos exames que acabamos de apresentar e commentar, na determinação do numero de *B. coli* ou *Indice coli* não exige nem recommenda a identificação dos germens isolados.

O Methodo trata apenas de determinar se o germem encontrado pertence ao Grupo coli, considerando como tal os bacillos gram negativos, não esporulados, que fermentam a lactose com franca producção de gaz; sendo o que constitue a sua prova completa.

A' essa prova completa do methodo para a determinação do grupo coli juntamos outras provas que nos permitissem identificar esses bacillos.

Infelizmente não pudemos obter em Curityba todos os assucares e meios indispensaveis para uma identificação completa. A que apresentamos é uma identificação provavel.

A Commissão americana que redigio o «Standard Methods of Water Analysis», em sua 5.ª edição (1923), recommenda que se faça a differenciação dos membros do grupo coli de origem fecal dos de origem não fecal.

Os membros do grupo coli encontrados nas aguas dos mananciaes podem provir de animaes e não de homens, mas não se conhece até hoje methodo que os differencie, confirmando-se assim os estudos antigos de *Houston* (1905) e de *Savage* (1906) que acharam impossivel semelhante differenciação; como tambem podem não ser de origem fecal.

Entre os de origem fecal e não fecal, essa commissão recommenda que se proceda a differenciação pelas provas do vermelho de methyleno, Voges-Proskauer, etc.

Em sua ultima edição (1915), já a commissão não deu tanto valor a essas provas, dizendo: «The following tests are tentatively, recommended for distinguishing fecal strains of organisms in the coli-aerogenes group. At the present time our knowledge is not sufficiently complete to warrant the adoption of any single test or group of tests.

The procedures are presented with the hope that positive evidence will gradually accumulate».

A seguir damos um quadro com a identificação provavel dos bacillos do grupo coli isolados nos diversos exames feitos.

A commissão que redigio a 5.ª edição (1923) do «Standard Methods of Water Analysis», nos quadros que apresentou para a differenciação do B. coli de origem fecal, dos de origem não fecal, indicou que os vermelhos de methyla positivos e Voges. Proskauer negativos apresentavam alto gráo de probabilidade de serem de origem fecal. Tambem tratou da mesma differenciação entre outros membros do grupo coli.

Apenas com os bacillos coli encontrados é que fizemos as provas do vermelho de methyla e Vosges Proskauer, procedendo todos como de origem fecal.

O Dr. Borges Vieira já ha muito tempo vem estudando esse assumpto tendo encontrado sempre nas aguas de S. Paulo colis de origem fecal: «já desde varios annos, applicando estas reacções durante muitos dias em seguida aos colis por nós isolados das aguas desta Capital verificamos a presença deste typo vermelho de methyla positivo e Vosges Proskauer negativo».

Igualmente o Dr. Genesio Pacheco tem estudado o assumpto no Rio de Janeiro.

	Lactore	Dextrose	Mannita	Maltose	Saccharose	cita	Salicina	Adonita	2]	V. Proskauer	Kethyła	
	Lac	Dex	Man	Mal	Sac	Dulcita	Sali	Ado	Indol	V.Pr	Term.	
A 1	当		業	紫	纂	繗	-	-	+	-	+	B. coli communior
A 2	辨	养养	滌	滌	紫	-	-	_	+	-	+	B. cloaclae
A 3	辨	养养	緣	緣	樂	紫	-	_	+	_	+	B. coli communior
B 1	辨	1	貅	業	_	**	_	-	_			B. metacoloides (fastellani)
B 2	崇	养养	潫	**	F	業	_	_	_		_	B. metacoloides (Castellani)
В 3	辨	养	業	**	=	辮	_	=	_	_		B. metacoloides (Castellani)
D 1	辨			業	_	_	_	_	_	_		B. acidi lactici
D 2	湯	* * * * * * * * * * * * * * * * * * *	※ ※	*	_	_	_	_	_			B. acidi lactici
D 3	辨	1 ※	紫	*	_	=	O	=	_			?
E 1	辨辨	1 ※	業	業業業	兼	緣	_	-	+	_	+	B. coli communior
E 2	灣	* ※	滌	紫	辮	業	_	_	+	=	+	B. coli communior
F 1	— **	林林	業	樂		_	_	_	_	_		B. acidi lactici
F 2	*		紫	紫	繰		業	業				B. lactis aerogenes
G 1	- ※	* *	業	紫	紫	=	-		+		-	B. coaclae
G 2	美	* ※	業	紫紫紫	業	嫌	=	_	<u> </u>	_	+	B. coli communior
H 1	湯	* ※	業	**	紫	業	_	_	+	_	+	B. coli communior
H 2	劣		紫	紫	業	業	=	_	+	_	+	B. coli communior
I 1	**		紫	紫	業	樂	_	<u> </u>		_	+	B. coli communior
I 2	業	1 美	業	紫紫	樂	業	_	=	=	_	+	B. coli communior
J 1,	業	* *	業	紫	-		_	_	+	_	_	B. acidi lactici
J 2	業	* **	業	業	紫	_	業	紫				B. lactis aerogenes
K 1	業		業	紫	業	業	_		+	=	+	B. coli communior
K 2	業		業	紫	嫌	業	_	=	+	<u> </u>	+	B. coli communior
L 1	紫	* 崇	業	紫		**	_	_	+	_	_	B. acidi lactici
L 2	紫	1 ※	*	紫	_	_	_	=	干	_	_	B. acidi lactici
L 3	澇	1 ※	紫	業	<u> </u>	_	=	_	+	-		B. acidi lactici
M 1	劣	_		-	秦	=	_		_	_		B. cloaclae
M 2		£ %	*	**	**	_	_	_	_	_		B. cloaclae
M 3	一	£ 1/4	* ***	禁	然	_		_			-	B. coaclae
N 1	— ※	* **	***************************************	業	素	=	_		+	-	-	B. cloaclae
N 2	- *	* ※	**	務	紫水	=	_	_	+	 -		B. cloaclae
0 1		*************************************	********************************	紫水	※ ※ ※ ※ ※ ※ ※ ※	_	_	_	+	-	-	B. cloaclae
O 2	- 1/2 1/3	F 78	源	秦	系	_	=	_	+	_	-	B. cloaclae
O 3	— ※	新	**	素が	参	_	業	業		-	-	B. lactis aerogenes
₩ aci				1300	1.211,		75	30		-	<u></u>	1

[#] acido e gaz

+ fermenta e positivo

não fermenta e negativo

+ fracamente positivo

Como acabamos de ver, dos 14 exames positivos isolamos 5 membros differentes do grupo coli, cuja identificação ficou assim distribuida:

B. coli communior	6	vezes 42,8%
B. cloacae	5	vezes 35,7%
B. acidi lactici	4	vezes 28,5%
B. lactis aerogenes	3	vezes 21,4%
B. metacoloides (Castellani)	1	vez 7.1%

Embora não tivessemos isolado numero identico de colonias de cada exame, damos em seguida a distribuição dos 33 membros do grupo coli encontrados:

B. coli communior	11	raças
B. cloacae	9	raças
B. acidi lactici	7	raças
B. lactis aerogenes	3	raças
B. metacoloide (Castellani)	3	raças
Total	33	

Em 42,8 % dos exames foi constatada a presença do B. coli communior, sendo que quasi todos elles portaram-se logo na primeira passagem nos assucares como germens typicos.

Alguns, comtudo, fermentaram a saccharose lentamente, no maximo dois dias.

Todos os *B. coli communior* isolados deram a prova do vermelho de methyla + e Voges Proskauer —, não fermentaram a adonita e, com excepção de dois, deram indol, procedendo assim como B. coli provavelmente de origem fecal.

Os dois *B. coli communior* que não deram indol pertencem ao *typo Melia* desses germens, cuja unica differença é não produzirem indol.

O B. coli é o germem mais commum nas fézes do homem e de muitos animaes.

O original B. coli obtido por Escherich não fermentava a saccharose.

Durham propoz que se chamasse B. coli communis ao coli original de Escherich, que não fermenta a saccharose, e B. coli communior a variedade que a fermenta.

Em segundo logar vem o B. cloacae, que foi encontrado em 35,7 % dos exames.

O B. cloacae existe nas fézes de homens e de animaes, mas nas dos homens em muito pequena quantidade. Ford chega mesmo a dizer: «It is not definitely determined whe-

ther it is present in the intestinal tract of man, but it is

present in the dejecta of animals».

Um caracter que lhe é peculiar é a sua grande resistencia. E' um dos ultimos a permanecer vivo nas aguas e «The sunlight experiments show that it is among the most resistent of lactose fermenters». (Clemecha).

Na identificação acima são encontrados alguns B. cloa-

Na identificação acima são encontrados alguns B. cloacae com a reacção de indol positiva e outros negativa. Esses germens, na realidade, podem dar ou não indol, como se pode ver no «Manual of Determinative Bacteriology» de Bergey.

O B. cloacae pode ser ou não de origem fecal.

O B. acidi lactici tambem foi regularmente encontrado. Existe em pequeno numero nas fézes humanas e de animaes.

Das 7 raças isoladas apenas duas deram nitidamente

indol, duas, producção fraca e tres, negativa.

O B. acidi lactici typico deve dar indol; mas é possivel que a longa permanencia nas aguas altere essa sua propriedade biochimica.

Sabe-se que a repicagem de certos germens em dias successivos, em agua peptonada, é capaz de augmentar a sua producção de indol, assim como, continuando por muito tempo essas passagens, pode ir diminuindo e mesmo ser abolida essa propriedade.

Outro membro do grupo coli que isolamos em menor numero foi o B. lactis aerogenes, muito encontrado na natu-

reza, podendo ser ou não de origem fecal.

Existe regularmente nas fézes de homens e animaes, sendo particularmente mais encontrado nas crianças, onde é abundante na parte superior dos intestinos.

Outros germens do grupo coli foram isolados e que não nos foi possivel identificar.

Em exames especiaes que fizemos, pesquisamos o B. typhosus nas aguas da Repreza do Carvalho e Reservatorio de São Francisco, sendo sempre negativos os resultados.

Não havia indicação para a pesquisa do B. typhosus nas aguas de Curityba, onde nos mezes de Outubro, Novembro e Dezembro o obituario por febre typhoide apenas registou um caso. Os nossos exames foram feitos em dezembro.

VII

Depuração das aguas da serra

Os hygienistas consideram a febre typhoide como indice das condições sanitarias de uma cidade.

Em Março de 1893, J. Reinche, em Hamburgo, assignalou o declinio do obituario geral naquella cidade resul-

tando da melhoria dos serviços de abastecimento das suas aguas, provenientes do rio Elba.

Em Setembro do mesmo anno Hiram Mills, em Lawrence, cidade que se achava assolada pela febre typhoide, procedendo á filtração das aguas de seu abastecimento, constatou e documentou a diminuição do coefficiente de mortalidade por febre typhoide, como tambem uma franca diminuição da mortalidade geral.

Sedgwich e Mac Nutt, confrontando grande numero de estatisticas, confirmam que em consequencia ao fornecimento de uma melhor agua, torna-se sensivel a melhoria do estado sanitario de uma cidade, seguida do declinio da lethalidade geral; e a essa coincidencia deram o nome de phenomeno de Mills-Reincke.

Em 1904, Allen Hazen, estudando meticulosamente o assumpto, do qual é autoridade, confrontando estatisticas que assignalam o declinio da mortalidade por febre typhoide com aquella do obituario geral, formulou o seu theorema, dando a esse phenomeno expressão quantitativa, chegando á conclusão que, em cada morte por febre typhoide evitada pelo fornecimento de melhor agua a uma população, mais duas ou tres, de outras causas, possivelmente tambem serão poupadas.

A commissão chefiada pelo Dr. Theodoro Bayma fazendo, em 1917, o exame bacteriologico das aguas da Serra, deixou affirmado estarem ellas incluidas, em sua origem, na escala das aguas puras, pois só encontrou o B. coli communis em 250 c.c. dessas aguas, mesmo assim coli atypico.

São passados 13 annos e o nosso exame vem revelar agora a presença de membros do grupo coli em 10 c.c. dessas aguas, das quaes foram isolados os *B. coli communior* (Escherichia coli) e o *B. cloacae* (Aerobacter cloacae).

Confluindo mais ou menos as opiniões, como vimos atraz, em considerar como suspeitas as aguas de superficie que revelem a presença de membros do grupo coli em 10 c.c., como suspeitas ficam classificadas as aguas da Serra.

A nosso pedido o Dr. Benjamim Ribeiro, assistente do Instituto de Hygiene de São Paulo, fez o exame chimico das aguas misturadas de todos os mananciaes de Curityba, tal qual são distribuidas, e que damos a seguir, classificando-as tambem como suspeitas pelo seu elevado teôr em materia organica.

Analyse chimica de agua — potabilidade

Amostra — Agua de abastecimento da cidade de Curityba (Est. do Paraná) Remettente Dr. Lucas de Assumpção

Resultado da analyse

por 1.000 cc.

Reacção neutra
Residuo total 0,0360 grs.
» fixo 0,0184 »
Perda ao rubro nascente 0,0176 »
Materia organica (meio acido. 0,0028 grs. (representada em 0 consumido pelo KMn04)
Ammonea livre 0,00001 » (representada em N)
» de albuminoides . 0,000122 ° (
Nitritos ausencia
Nitratos traços
Chloretos 0,000708 grs. (representado em
NaCL)

OBSERVAÇÕES

Em vista do elevado teôr em materia organica, a presente agua deve ser considerada suspeita.

S. Paulo, 17 de Janeiro de 1930

ass. Benjamim Ribeiro
Assistente

E' possivel que com mais alguns annos já essas aguas attinjam o indice coli igual a 1 por c.c., isto é, um membro do grupo coli em cada centimetro cubico, tornando-a, então, perigosa e impropria ao abastecimento da cidade.

Actualmente as aguas da Serra não são boas, nem más, — são suspeitas. Accresce ainda: o coefficiente de mortalidade por febre typhoide no Municipio de Curityba não é pequeno. Tomando-se a media dos ultimos cinco annos, vemos que esse coefficiente foi de 23,8 por 100.000 habitantes. Um coefficiente de lethalidade por febre typhoide de 5 a 5,5 por 100.000 habitantes é geralmente apontado como de proveniencia extranha á agua; quando maior, a agua vae sendo suspeitada.

Ha tambem a questão do aspecto das aguas de Curityba.

Como disse William P. Mason, em seu livro Water Supply», a tendencia actual é exigir uma agua que alem da sua relativa pureza seja transparente e sem côr.

A agua de Curityba é francamente colorida pela abundancia de materia organica que contem, materia organica que acreditamos ser mais de origem vegetal. E essa côr não desapparece facilmente pela filtração.

A população tem receio de a beber, servindo-se de aguas de fontes, muitas vezes perigosas.

Quem chega a Curityba, podendo, não a bebe, pela má impressão que lhe causa a sua côr.

Em summa: por todos esses motivos que acabamos de expor, torna-se aconselhavel o tratamento dessas aguas.

...

Qualquer systema depurador lembrado deve ser antes submettido a experiencias, pois modificações inevitaveis apparecem devidas á natureza da agua a ser depurada.

O Dr. Severino Lessa apresentou ao «Terceiro Congresso Brasileiro de Hygiene», realizado em São Paulo, em Novembro de 1926, um trabalho sobre a «Depuração da agua de Abastecimento», dizendo em uma de suas conclusões:

«Para depurar as aguas de superficie, destinadas ao abastecimento de agglomerações humanas no Brasil, o processo indicado, na immensa maioria dos casos, consiste em:

- a) Tratamento pelo sulfato de aluminio;
- b) Filtração em filtros rapidos;
- c) Chloração, toda a vez que a e b forem insufficientes».

A agua embora seja a mesma em toda a parte, soffre, comtudo, modificações de accôrdo com os terrenos que percorre.

As analyses feitas pelo *Dr. Arthur Torres* em amostras colhidas em todos os nossos Estados, demonstram a grande pobreza de saes calcareos do nosso solo, o contrario do que se observa na Europa.

Esse facto reflecte-se nas nossas aguas, cuja pobreza de saes calcareos é manifesta.

As aguas dos nossos rios são turvas, sujas e apresentam côr, sendo ricas em materia organica vegetal e em argilla.

A côr e a abundancia de materia organica das aguas de Curityba, difficilmente dispensarão de um coagulante no seu tratamento.

Pela natureza das nossas aguas o coagulante mais indicado é o sulfato de aluminio. E' o coagulante usado em

São Paulo nas estações depuradoras de quasi todos as suas

aguas, tornando-as bem claras, crystallinas,

Alem do sulfato de aluminio o sulfato ferroso tambem é geralmente empregado como coagulante, principalmente nos Estados Unidos da America do Norte. Mas existem muitos trabalhos condenando o seu emprego em aguas coloridas.

O Dr. Mauro Alvaro, chefe da Secção de Engenharia do Serviço Sanitario do Estado de São Paulo, em seu trabalho sobre «Reforço do nosso abastecimento de agua», tratando do aproveitamento das aguas do rio Tieté, aconselhou que a sua depuração se fizesse em duas phases:

«Primeira: - coagulação, sedimentação e filtração ra-

pida;

Segunda: — chloração, como tratamento supplementar». Na parte que trata da coagulação é partidario do sulfato de aluminio, dizendo que a côr das aguas do Tieté não é eliminada pela filtração, o que torna indispensavel a coagulação previa em qualquer methodo de depuração.

Para as aguas de Curityba, coloridas e com abundancia de materia organica, como demonstrou o seu exame chimico, a coagulação é indispensavel, convindo, portanto, para a sua depuração o processo chamado de filtração mechanica, systema americano que exige o emprego de um coagulante e, após sedimentação, passagem das aguas atravéz de uma camada de areia em pequenos tanques. E' tambem conhecido pelo nome de systema de filtração rapida.

O processo de filtração lenta pela areia, systema inglez, é de origem anglo-saxonia e muito mais antigo que o ame-

ricano de filtração rapida.

Na purificação hydrica pela filtração lenta o tratamento preliminar por um coagulante não é parte essencial do processo, a agua passando apenas lentamente por uma camada de areia em grandes reservatorios. Este systema é principalmente indicado para aguas pouco turvas e de pouca côr, pois apenas 30 % das suas materias corantes são removidas.

O systema americano de filtração mecanica, filtração rapida, remove quasi todas as materias corantes, sendo o mais indicado para as aguas de Curityba.

- O Dr. Domingos Cunha, grande auctoridade em Engenharia Sanitaria, em trabalho tambem discutido no «Terceiro Congresso Brasileiro de Hygiene», realizado em S. Paulo, em 1926, entre outras apresentou as seguintes conclusões:
 - «1.ª Quando as analyses não revelarem contaminação fecal ponderavel, as aguas para abastecimento poderão ser tratadas pela decantação com prévia junção de coagulantes e pela filtração rapida, sendo dispensada a desinfecção final;

- 2.a O sulfato de aluminio e hydrato de calcio são as substancias indicadas para a coagulação;
- 3.º Convem juntar a cal não só por não poder alem de certa dose do primeiro coagulante, ser encontrada nas mossas aguas a quantidade de calcio suficiente para a necessaria combinação; como para não empobrecer a agua desse elemento, como ainda, para evitar a formação do CO²»

São mais ou menos as conclusões a que chegou o Dr. João de Barros Barreto, relator do thema sobre «Depuração da agua de abastecimento», julgando, comtudo, que o processo de chloração «só não será utilisado, quando provas evidentes e repetidas indicarem irretorquivelmente que a agua, sem o emprego do desinfectante, vê garantida a segurança de que o perigo, si existe, é tão pequeno que não póde ser revelado pelos meios disponiveis de verificação».

De todos esses estudos e das condições especiaes das aguas de Curityba (serra), a conclusão a se tirar é que o

seu tratamento deverá ser o seguinte:

a) - Coagulação pelo sulfato de aluminio;

b) - Sedimentação;

c) — Filtração rapida em areia.

As aguas da Serra ainda não tendo attingido um indice coli que indique grande polluição, sendo apenas aguas classificadas como suspeitas, não ha indicação, por emquanto, de um tratamento chimico supplementar de acção germicida energica como o chloro, ozona, etc.

O Dr. Cincinato Pamponet Filho, em sua these sobre «Chloração das aguas de abastecimento publico em São Paulo», em uma de suas conclusões diz que «A filtração entre nós tem-se revelado um processo insufficiente, pois, permitte a

presença do colibacillo nas nossas aguas!»

Com as aguas dos mananciaes de São Paulo, só a filtração, mesmo mechanica (com coagulação) é insufficiente, devido á sua elevada polluição, que se não pode comparar

com a das aguas de Curityba.

Em aguas muito polluidas a coagulação, sedimentação e filtração constituem a primeira phase na depuração hydrica, cabendo-lhe remover a turbidez e côr das aguas; na segunda phase entram de preferencia as substancias chimicas germicidas, como o chloro, etc.

Mas tanto a filtração lenta como a filtração rapida (coagulação, sedimentação e filtração) que acabamos de propor para as aguas de Curityba, podem remover 99 a 99,7 %

de todas as bacterias presentes (Fowell).

A seguir damos um quadro de alguns exames das aguas da repreza de Santo Amaro e que são fornecidas a São Paulo após depuração completa.

Indice coli por c. c.

	2.a phase				
In natura	Coagulada e decantada	Filtrada	Chlorada		
20 20	- 0,5	0	0		
20	5	0,1	0		
20		0,1	0		
10	27	**************************************	0		
5	0,2	0,1	0		
20	1	0,1 0,01	0		
100		a say	0		
200		10	0		

Por esse quadro ve-se a enorme diminuição do indice coli pelo tratamento na primeira phase, que propomos para as aguas da Serra.

Note-se que o indice coli dessas aguas é de 5 a 200 por c.c., quando o das aguas de Curityba é de 0,1 por c.c.

Assim mesmo o Dr. Geraldo de Paula Souza, director do Instituto de Hygiene de São Paulo, e grande conhecedor do assumpto, é de opinião que para maior segurança as aguas de Curityba ainda deveriam ser chloradas.

Em São Paulo, actualmente, as aguas de todos os seus mananciaes são chloradas. As de Cotia e Santo Amaro são previamente coaguladas, decantadas e filtradas; todas as outras passam apenas por um processo de pre-filtração muito grosseiro antes de serem chloradas.

A queda do indice de mortalidade geral observada em todas as cidades cujas aguas são depuradas — phenomeno de *Mills-Reinck* — torna-se um factor de salubridade dos mais importantes.

Accresce ainda: Allen Hazen (1904), observou que com o fornecimento de melhor agua a uma população, em cada morte evitada por febre typhoide, duas ou tres por outras causas serão poupadas.

O phenomeno de *Mills-Reinck* e o theorema de *Huzem*, embora sem uma acceitação geral depois das criticas que lhes foram feitas principalmente por *Chapin* e *Whipple*, ainda continuam a ser muito citados.

O valor de uma boa agua está resumido nas seguintes palavras de *Hazem*: «Não possuir a salubridade da agua é desgraça nacional e ameaça á posteridade».

CONCLUSÕES

Ī

As aguas dos mananciaes da Serra e de seus reservatorios na cidade apresentaram, na occasião dos exames por nós feitos, o mesmo indice coli.

H

As aguas foram methodicamente examinadas no percurso de toda a sua distribuição pela rêde de abastecimento, sendo o seu indice coli uniforme e o mesmo dos mananciaes e reservatorios, com excepção da zona do Alto do Cabral e Bacachery.

Ш

O indice coli encontrado em todos os exames feitos e repetidos diversas vezes foi de 0,1 por centimetro cubico, ou 1 membro de grupo coli em 10 c.c. de agua, exceptuandose a zona do Alto do Cabral e Bacachery que em quatro exames, tres deram indice coli igual a 1 por c.c., não obstante tratar-se das mesmas aguas.

IV

Sobre a zona do Alto do Cabral e Bacachery deve ser exercida activa fiscalisação sanitaria, com repetidos exames bacteriologicos de suas aguas e fiscalisação da rêde de distribuição, por serem os nossos resultados duvidosos quanto á contaminação dessas aguas no seu trajecto.

V

Considerando que no tocante ás aguas de abastecimento, o indice coli é o principal criterio no julgamento de sua qualidade; considerando ainda estarem quasi todos os autores de accôrdo em condenar as aguas superficiaes que contenham membros do grupo coli em 1 c.c., como perigosas ao abastecimento de uma população, e confluindo tambem as opiniões em consideral-as apenas como suspeitas quando representantes desse grupo são encontrados em 10 c.c., isto é, com indice coli igual a 0,1 por c.c., e sendo este o indice das aguas dos mananciaes de Curityba, podemos concluir que essas aguas pelo seu indice coli são consideradas como aguas suspeitas.

VI

O exame chimico das aguas misturadas de todos os mananciaes de Curityba, tal qual são distribuidas, feito pelo Dr. Benjamim Ribeiro, no Instituto de Hygiene de São Paulo, a nosso pedido, classificou-as tambem como suspeitas pelo seu elevado teôr em materia organica.

VII

Não encontramos o B. typhosus em exames especialmente feitos nesse sentido, embora não houvesse indicação para semelhante pesquisa.

VIII

Por todos os motivos discutidos no presente trabalho, aconselhamos que desde já seja estudado qual o tratamento mais aconselhavel ás aguas de Curityba, com o fim de o por em pratica.

IX

Pelo seu elevado teôr em materia organica e pela sua côr -- que não é eliminada facilmente pela filtração, -- torna-se indispensavel o emprego de um coagulante no seu tratamento.

X

Os coagulantes mais usados são o sulfato de aluminio e compostos de ferro; dos compostos de ferro o sulfato ferroso — mais commumente empregado — não é aconselhado por alguns autores no tratamento de aguas coloridas, convindo melhor para as aguas de Curityba o sulfato de aluminio.

XI

Propomos que seja estudado o seguinte processo de depuração das aguas de abastecimento de Curityba:

a) — Coagulação pelo sulfato de aluminio;

b) — Sedimentação;

c) - Filtração rapida em areia.

XII

Como medida complementar a desinfecção dessas aguas pelo chloro é, por emquanto, dispensavel, visto tratar-se de aguas apenas suspeitas, de fraca polluição; comtudo, emquanto não forem chloradas, convem exercer sobre ellas rigorosa fiscalisação.

BIBLIOGRAPHIA

Theodoro Bayma - "FEBRE TYPHOIDE NO PARANÁ" - 1918.

M.J.Rosenau - "PREVENTIVE MEDICINE AND HYGIENE" - 1927.

"STANDARD METHODS FOR THE EXAMINATION OF WATER AND SEWAGE" - American Public Health Association - (Sixth edition - 1925).

Weinberg et Ginsbourg - "Dennées Récents sur les Microbes Anaérobi ET LEUR ROLE EN PATHOLOGIE" - 1927.

William W. Ford - "TEST-BOOK OF BACTERIOLOGY" - 1927.

Prescott and Winslow - "ELEMENTS OF WATER BACTERIOLOGY WITH SPECIAL REFERENCE TO SANITARY WATER ANALYSIS" - Third edition, 1915.

Hans Zinsser - TEXTBOOK OF BACTERIOLOGY" - Sixth edition 1927.

A.Calmette, L.Negre et A.Boquet - "MANUEL TECHNIQUE DE MICROBIOLOGI ET SEROLOGIE" - 1925.

William G.Strvage - "THE BACTERIOLOGICAL EXAMINATION OF FOOD AND WATER" 1914.

Borges Vieira - "FEBRE TYPHOIDE EM SÃO PAULO" - 1926.

W. Clemesha - "THE BACTERIOLOGY OF SURFACE WATERS IN THE TROPICS"-1912.

D.H. Bergey - "MANUAL OF DETERMINATIVE BACTERIOLOGY" - 1925.

William P.Mason -"WATER-SUPPLY" - 1916.

Severino Lessa - "Depuração da agua de abastecimento" - "ANNAES DO TERCEIRO CONGRESSO BRASILEIRO DE HYGIENE (Realizado em São Paulo de 4 a 12 de Novembro de 1926)" - 1929.

Mauro Alvaro - "REFORÇO DO NOSSO ABASTECIMENTO DE AGUA" P 1922.

Domingos Cunha - "Depuração das aguas potaveis colhidas nos grandes rios não acudados no Brasil" - "ANNAES DO TERCEIRO CONGRESSO BRASILEIRO DE MYGIENE" - 1929.

João de Barros Barreto - "Depuração da agua de abastecimento - Parecer" - "ANNAES DO TERCEIRO CONGRESSO BRASILEIRO DE HYGIENE"1929.

Cincinato Pamponet Filho - "CHLORAÇÃO DAS AGUAS DE ABASTECIMENTO PUBLICO EM SÃO PAULO" - These inaugural - 1928.

A, Prescott Folwell - "WATER-SUPPLY ENGINEEFING" - 1927.