



Manejo Microbiológico dos Grânulos de Polímero Acrílico Usados na Prevenção da Dengue

Microbiological Management of Polymer Granule Acrylic Used in the Prevention of Dengue Fever

Dante Togeiro Bastos
Filgueiras¹
José Marcos Dos Reis²

1. Acadêmicos do Programa de Desenvolvimento de Iniciação Científica do 5º ano do Curso de Medicina da Faculdade de Medicina de Itajubá (FMI/ MG)
2. Médico. Doutor em Medicina. Professor Titular da disciplina de Anatomia Humana da Faculdade de Medicina de Itajubá (FMI/ MG)

Trabalho realizado no Laboratório de Microbiologia da Faculdade de Medicina de Itajubá - Subvencionado financeiramente por FAPEMIG (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais)

Recebido em: junho de 2015
Aceito em: junho de 2015

Correspondência:

Dante Togeiro Bastos Filgueiras
Av. Renó Júnior, 368 Bairro São Vicente
Itajubá, MG Cep: 37502-138
E-mail: dantetogeiro@gmail.com

RESUMO

Objetivos: Efetuar o manejo microbiológico dos grânulos de polímero acrílico usados na prevenção da Dengue. **Materiais e Métodos:** Para a determinação da presença ou ausência de coliformes totais e fecais, e de *E. coli*, foram realizadas avaliações utilizando metodologia do kit Colitest®. Foram elaborados cinco recipientes com mudas de planta simulando as condições naturais de vasos de polímero acrílico. Utilizaram-se cinco diferentes grânulos de polímero acrílico adquiridos comercialmente. De tais recipientes foram colhidas sete amostras em dias sucessivos. A leitura foi feita com auxílio de uma lâmpada de ondas longas de 365nm, após realizou-se prova de Indol. **Resultado:** Em relação ao grupo amostragem, em 11,5% não houve crescimento bacteriano, em 17,2% houve presença de *E.coli* e em 71,3% coliformes totais, constatando altos índices de contaminação. **Discussão:** Não há na literatura científica trabalhos semelhantes, porém trabalhos analisando águas de outras fontes evidenciam que a água proveniente dos vasos dos grânulos tem maior potencial de contaminação. **Conclusão:** Os resultados obtidos permitiram identificar altas taxas de crescimento bacteriano, evidenciando grande risco de contaminação. As informações oferecidas nos rótulos não se encontram nos padrões estabelecidos pela ANVISA. O estudo é de grande importância por efetuar controle de qualidade microbiológico visando à segurança do consumidor em um produto usado na profilaxia do dengue.

Palavras chaves: Dengue, Prevenção & controle, Controle da Contaminação da Água.

ABSTRACT

Objectives: To make the microbiological management of acrylic polymer granule used in the prevention of Dengue fever. **Materials and Methods:** For the determination of the presence or absence of total and faecal coliform and *E. coli*, evaluations were performed with the use of the kit Colitest® methodology. Five vases were prepared to plant seedlings simulating the natural conditions of acrylic polymer vases. Five different acrylic polymer granule acquired commercially were used. In such containers seven samples were taken on successive days. The reading was done with the aid of a Long wave 365nm light bulb after which there was the proof of Indole. **Results:** Regarding the sample group, 11.5% had no bacterial growth, 17.2% showed the presence of *E.coli* and there was total coliform in 71.3%, finding high levels of contamination. **Discussion:** No similar studies were found in the literature, but studies analyzing water from other sources show that water from the vases of the granules has greater potencial contamination. **Conclusion:** The results have identified high rates of bacterial growth, showing great risk of contamination. The information provided on the labels are not the standards set by ANVISA. The study is of great importance for the making of microbiological quality control aiming at consumer safety in a product used in the prevention of the dengue fever.

Keywords: Dengue fever, Prevention & Control, Water Contamination Control.

INTRODUÇÃO

A dengue é uma doença infecciosa febril aguda causada por um vírus da família flaviviridae. No Brasil sua transmissão se dá através do mosquito *Aedes aegypti*¹ infectado pelo vírus.² Atualmente a doença é considerada um dos principais problemas de saúde pública do país¹. Existem quatro tipos de dengue, já que o vírus causador da doença possui quatro sorotipos: DEN-1, DEN-2, DEN-3 e DEN-4.³

Nas últimas duas décadas, a incidência de dengue nas Américas tem apresentado uma tendência ascendente, acometendo mais de 30 países, destacando-se Brasil, Colômbia e Venezuela. No Brasil, a primeira epidemia documentada clínica e laboratorialmente ocorreu em 1981-1982, em Boa Vista (RR); desde então a transmissão se dá de forma continuada, intercalando-se com a ocorrência de epidemias.^{4,5}

O Brasil é o país das Américas mais afetado em número de casos de dengue, sendo responsável por, aproximadamente, 70% dos casos notificados⁶. Em 2008, a doença se apresentou com força total, principalmente no Rio de Janeiro, que contou com 100 mortes e 125 mil casos somente na cidade do Rio de Janeiro.⁷ A epidemia de 2008 superou, em número de vítimas fatais, a epidemia de 2002, onde 91 pessoas morreram.⁸⁻¹⁰

Mediante a tropicalidade brasileira associada às inúmeras mudanças climáticas, táticas preventivas estão sendo desenvolvidas em relação à prevenção da dengue. O acúmulo de água parada propicia o acúmulo do inseto.^{1,3} Em geral a água se acumula em pneus abandonados, garrafas com o gargalo para cima, entulho que possa acumular água, plantas aquáticas, dentre outros.³

Uma das medidas práticas de higiene e prevenção que visa eliminar futuros criadouros do mosquito consiste no uso de grânulos de polímero acrílico no cultivo de plantas aquáticas. Os polímeros são à base de grande número de matérias plásticas.¹¹ Os grânulos de polímero acrílico¹² são popularmente conhecidos como bolinhas pérola, cristais de água, e inúmeros outros nomes, e são usados não só em cultivo de plantas aquáticas, mas também em diversas outras decorações.

Polímeros são substâncias formadas por macromoléculas,¹¹⁻¹³ que podem estar juntas ou de forma individual, e constituem uma classe de materiais que possuem grande afinidade pela água. O tipo de polímero¹⁴ do qual esses cristais de água são formados é a poliácrlamida, substância que absorve bastante água por meio da formação de ligações de hidrogênio, que são a interação entre as moléculas de hidrogênio e as moléculas de água.¹⁵

As moléculas de hidrogênio agem de modo a atrair e fixar as moléculas de água, fazendo com que estas fiquem retidas na bolinha que cresce à medida que as incorpora. Os polímeros hidrorreagentes são capazes de absorver água e posteriormente ir liberando a água de forma gradativa.¹³

Devido à sua capacidade de absorção, o mesmo material é utilizado principalmente em fraldas descartáveis¹⁶ e em vasos de plantas, para mantê-las vivas por mais tempo, já que a água retida pelo polímero demora mais tempo para evaporar.

Geralmente o polímero é comercializado em barracas de vendedores ambulantes, pequenas lojas de utilidades do lar, e lojas de produtos importados, já que a maioria das marcas é produzida na China. Os grânulos são vendidos desidratados, e devem ser

colocados em vasilha com água. Demoram cerca de 4-6 horas para se hidratar.

No que tange a informações de troca de água, a embalagem do produto apenas informa que a água deve ser trocada regularmente. Não informa qual a periodicidade da troca de água e o risco de contaminação microbiológica por parte do material.

O presente estudo tem como objetivo efetuar o manejo microbiológico dos grânulos de polímero acrílico usados na prevenção da Dengue.

MATERIAIS E MÉTODOS

Para a determinação da presença ou ausência de coliformes totais e fecais, e de *E. coli*, foram realizadas avaliações com o uso e a metodologia do kit Colitest®.¹⁷

O Colitest® é validado frente a APHA/AWWA/WEF, descrito no Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, pelo ITAL (Instituto Tecnológico de Alimentos) sob análise nº: MB -1836/05, conforme 14864 (ABNT) e DOQ CGCRE-008 (INMETRO). Aprovado e utilizado no Brasil por laboratórios de pesquisas e universidades.^{17,18} O Kit é utilizado para análise de água de alta sensibilidade de 1 (uma) U.F.C. por 100 ml.¹⁷⁻¹⁸

O meio Colitest® possui substâncias, nutrientes e MUG que, devidamente balanceados, inibem o crescimento de bactérias Gram-positivas favorecendo o crescimento de bactérias do grupo coliforme e facilitando a identificação de *E. coli* através da fluorescência e indol após incubação a 37°C em 18-48 horas.

Na presença de coliformes totais e de *E. coli*, o pH do meio se altera, devido à fermentação da lactose, isso faz com que o meio

de cultura Colitest® mude sua cor inicial de púrpura para amarelo.

O produto contém em sua formulação MUG que quando hidrolisado libera um fluoróforo, que apresenta fluorescência azul visível na luz ultravioleta, quando positivo para *E. coli*. A produção do Indol é característica de *E. coli* e pode ser usada na identificação presuntiva e/ou em sua confirmação.

Foram elaborados cinco recipientes com mudas de planta simulando as condições naturais de vasos de polímero acrílico. Os cinco recipientes escolhidos eram do mesmo tamanho e foram utilizados cinco diferentes grânulos de polímero acrílico¹⁵ adquiridos comercialmente. A água utilizada para completar os vasos também foi colhida para a efetivação de um grupo controle.

De tais recipientes foram colhidas sete amostras em dias sucessivos. De modo a evidenciar a possível existência de contaminação do polímero. Foram coletadas 35 amostras no total. O grupo controle também contou com 35 amostras.

A coleta das amostras se deu de modo asséptica, até completar o marcador de 100mL. As amostras foram devidamente identificadas. Todo o procedimento se deu de igual forma em ambos os grupos. Nas amostras colhidas, adicionou-se o inativador de Cloro, conforme as instruções do fornecedor. Solubilizou o meio de cultura e efetuou-se a homogeneização.

As amostras foram incubadas em estufa bacteriológica a 37°C. E, foram analisadas 48 horas após terem sido acondicionadas na estufa. A leitura foi feita com auxílio de uma lâmpada de ondas longas de 365nm equivalendo de 3-6 W. O quadro 1 apresenta a interpretação das amostras.

Quadro 1- Interpretação das Amostras

Colitest®	Turbidez	Amarelo	Fluorescência	Indol
Negativo	- ou +	-	-	-
Coliformes totais	+	+	-	-
<i>E.coli</i>	+	+	+	+

- O teste foi positivo para coliforme total quando a cúpula se manteve com coloração amarela.¹⁷⁻¹⁸
- O teste foi positivo para coliforme fecal quando a cúpula se manteve azul.¹⁷⁻¹⁸
- O teste foi positivo para *E.coli* quando a cúpula se manteve azul e com prova de Indol positiva.¹⁷⁻¹⁸
- O teste foi negativo quando a cúpula se manteve com a coloração púrpura.¹⁷⁻¹⁸

Os resultados foram expressos em NMP (número mais provável em 100 ml de água), onde uma cúpula positiva equivale a uma bactéria em 100 ml de água.

Realizou-se a prova do Indol para confirmar a presença de *E.coli*. Após a leitura da fluorescência, adicionou-se a amostra sugestiva a um tubo de ensaio estéril, no qual se

acrescentou 5 gotas de reativo de Kovacs, o equivalente a 0,2mL. Foram positivos os testes que formaram um anel vermelho na superfície do meio.

Os kits utilizados estavam dentro da garantia, em bom estado de conservação, e foram catalogados quanto ao número do lote estando dentro do prazo de validade. O método aplicado obedece a boas práticas laboratoriais e foi seguido rigoroso controle de qualidade. O descarte do material foi efetuado em Hipoclorito de Sódio 2% em cloro ativo, por 30 minutos e autoclavado por 15 minutos a 120°C.

RESULTADOS

A leitura dos resultados em percentil por amostra se deu conforme apresentado abaixo (Tabela-1), constatando altos índices de contaminação.

Tabela 1- Crescimento Bacteriano - amostras dos grânulos

Crescimento Bacteriano	Numero de Amostras	Percentil
Negativo (Ausência Bactéria)	4	11,5%
<i>E.coli</i>	6	17,2%
Coliformes Totais	25	71,3%
Total	35	100%

O teste foi negativo quando a cúpula se manteve com a coloração púrpura, o que ocorreu em 11,5% dos casos do grupo amostra de polímero acrílico, sendo tais amostras correspondentes às cores azul e vermelho, referentes aos dois primeiros dias.

O teste foi positivo para coliformes fecais quando a cúpula se manteve azul, o que ocorreu em 17,2% dos casos. Tais amostras foram submetidas ao pós-teste prova do Indol que confirmou o patógeno *E.coli* por meio do acréscimo de 5 gotas de reativo de Kovacs.

Amostras correspondentes às cores azul, rosa e amarelo, referentes aos dois últimos dias de coleta.

O teste foi positivo para coliformes totais em ocorrência de cúpula amarela o que ocorreu em 71,3% dos casos.

Em relação ao grupo controle todos os frascos mantiveram cúpula de coloração púrpura, de forma que em 100% teve resultado negativo, ou seja, não houve crescimento bacteriano.

Quadro 2 - Crescimento bacteriano (amostras por coloração do granulo x dia da coleta):

Granulo Acrílico	Azul	Verde	Vermelho	Rosa	Amarelo
1º dia	Ausente	Coliformes Totais	Ausente	Coliformes Totais	Coliformes Totais
2º dia	Ausente	Coliformes Totais	Ausente	Coliformes Totais	Coliformes Totais
3º dia	Coliformes Totais				
4º dia	Coliformes Totais				
5º dia	Coliformes Totais				
6º dia	<i>E.coli</i>	Coliformes Totais	Coliformes Totais	<i>E.coli</i>	<i>E.coli</i>
7º dia	<i>E.coli</i>	Coliformes Totais	Coliformes Totais	<i>E.coli</i>	<i>E.coli</i>

DISCUSSÃO

Apesar do uso disseminado dos grânulos de polímero acrílico no combate a Dengue, não foram encontrados artigos científicos em nossa revisão de literatura que fizesse alguma menção a possíveis riscos e consequências do uso deste material.¹³ As altas taxas de contaminação evidenciadas nas amostras deste projeto indica a necessidade de se avaliar o risco benefício do uso de tal produto pela população, já que esta pode estar potencialmente sujeita a infecções bacterianas.¹⁹

Nos resultados da análise do grupo dos grânulos de polímero houve crescimento de coliformes totais em 71,3% das amostras, resultados de extrema relevância já que a simples presença de coliformes totais em uma amostra de água é suficiente para sua reprovação, sem a necessidade de que se obtenha positividade na pesquisa de coliformes termotolerantes, conforme regulamenta a Portaria N° 518 do Ministério da Saúde e seguindo os resultados obtidos pelo método do NMP/100 mL.²⁰

Outro fator determinante para estabelecer a inadequação dessa água é o fato de ter sido detectada a presença de *E.coli*, gênero do grupo dos coliformes termotolerantes, em 17,2% das amostras. Da mesma forma, a presença de *E.coli* (principal bioindicadora de dejetos fecais) em apenas uma amostra já é suficiente para reprovação da água analisada, segunda a Portaria N° 518 do Ministério da Saúde.²⁰

Nota-se, portanto, que o crescimento de coliformes totais e de *E.coli* foram positivos para quase todas as amostras (88,5%). Essas bactérias identificadas são de grande importância médica; principalmente as do grupo *E.coli*, pois são enterobactérias que causam

infecções diarreicas que podem levar ao óbito, em casos extremos que evoluem com septicemia conforme relatado por Zeilhofer et al.²¹

Em um estudo realizado por Cereijo et al²², foi utilizado metodologia do kit Colitest® para análise microbiológica de águas potáveis de diversas marcas vendidas comercialmente. Das 18 amostras analisada, todas mantiveram coloração purpura, de forma que não houve crescimento bacteriano em nenhuma amostra. No presente estudo, as altas taxas de contaminação podem ser explicadas pelo fato dos grânulos de polímero acrílico em associação com a planta terem funcionado com importantes meios de crescimento das bactérias, de forma a viabilizar a proliferação dos agentes.²²

O Trabalho de Dozzo et al¹⁷, em que foram feitas análises microbiológicas de amostras de águas oriundas de 8 ambientes naturais diferentes (córregos, beira de lago, etc.), evidenciou crescimento tanto de *E.coli* como Coliformes Totais em apenas um ambiente (proximidades da borda de lago). Em comparação ao nosso estudo, verifica-se que água oriunda dos vasos dos grânulos tem potencial de contaminação mais significativa que diversas ambientes naturais, como córregos e nascente de água no solo (olhos d'água).¹⁷

Devido a este potencial de contaminação, é necessário que os rótulos dos produtos contenham determinadas informações para os consumidores, fato que não foi evidenciado em nenhum rótulo dos produtos utilizados no projeto. Tais informações, seguindo orientações da ANVISA, devem ter o intuito de alertar sobre o potencial risco de contaminação, bem como medidas que auxiliassem no combate ao crescimento bacteriano no produto.²³

Informações quanto à periodicidade da troca de água dos vasos ou a determinação do período em que os grânulos, já hidratados, poderiam ser utilizados, poderiam auxiliar no combate à proliferação bacteriana nos vasos de grânulo de polímero de acrílico. Medidas essas que deveriam ser analisadas quanto a sua aplicabilidade e eficácia, de forma que realmente tornassem o produto mais higiênico para utilização da população.²³

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos permitiram identificar altas taxas de crescimento bacteriano, evidenciando grande risco de contaminação.

REFERÊNCIAS

1. Figueiredo LTM. Dengue in Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2012;45(3):285.
2. Higa Y. Dengue vectors and their spatial distribution. *Trop Med Health.* 2011;39(4 Suppl):17-27.
3. Teixeira MG, Barreto ML, Guerra Z. Epidemiology and preventive measures of dengue. *Inf Epidemiol Sus.* 1999;8(4):5-33.
4. Brasil – Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. Diretrizes nacionais para prevenção e controle de epidemias de dengue. Brasília: MS; 2009. 160p.
5. Gubler D. The emergence of epidemic dengue fever and dengue hemorrhagic fever in the Americas: a case of failed public health policy. *Rev Panam Salud Publica.* 2005;17(4):221-4.
6. Maciel IJ, Siqueira Júnior JBS, Martelli CMT. Epidemiologia e desafios no controle do dengue. 2008;37(2):111-30.
7. Nogueira RM, Araujo JMG, Schatzmayr HG. Dengue viruses in Brazil, 1986–2006. *Rev Panam Salud Publica.* 2007;22(5):358-63.
8. Barreto ML, Teixeira MG. Dengue no Brasil: situação epidemiológica e contribuições para uma agenda de pesquisa. *Estud Av.* 2008; 22(64):53-72.
9. Casali CG. A epidemia de dengue/dengue hemorrágico no município do Rio de Janeiro, 2001/2002. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2004;37(4):296-9.
10. Barreto ML, Teixeira MG. Dengue fever: a call for local, national, and international action. *Lancet.* 2008;372(9634):205.
11. Canevarolo SV. Ciências dos polímeros. São Paulo: Liber; 2002. 267p.
12. Mendonça B, Peixoto C. Trabalho nº1 Poliacrilamidas [Dissertação]. Bragança/São Paulo: Instituto Politécnico de Bragança – Escola Superior de tecnologia e Gestão; 2011/2012.
13. Rosa F, Bordado JM, casquilho M. Polímeros Superabsorventes: Potencialidades aplicações. Dossier Comunicações – Química [Internet] [Acesso em: 2015 Jun 10]. Disponível em: http://web.ist.utl.pt/~mcasquilho/compute/_fitting/Ing98-DC_Quim8.pdf
14. Nasser RO, Lopes GK, Andrade CT, Teixeira SCS. Correlação entre a capacidade de inchamento e as características estruturais de polímeros superabsorventes. In: 9º Congresso Brasileiro de Polímeros. Anais [Internet]. 2007. [Acesso em: 2015 Jun 10]. Disponível em: <http://www.ipen.br/biblioteca/cd/cbpol/2007/PDF/291.pdf>
15. Azevedo TLF, Bertonha A, Níveis de polímero superabsorvente, frequências de irrigação e crescimento de mudas de café. *Acta Scientiarum.* 2002;24(5):1239-43.
16. Marconato JC, Franchetti SMM. Polímeros superabsorventes e as fraldas descartáveis: um material alternativo para o ensino de

- polímeros. Química Nova na Escola [Internet]. 2002;(15): [Acesso em: 2015 Jun 10]. Disponível em: <http://qnesc.sbq.org.br/online/qnesc15/v15a09.pdf>
17. Dozzo ADP. Análise microbiológica da qualidade de água para consumo animal [Dissertação]. Nova Odessa/SP: Instituto de Zootecnia; 2011.
 18. Pontelo KT, Aguiar MMG. Validação de método alternativo para pesquisa de coliformes totais e *Escherichia coli* na água. Pós Rev [Internet]. 2012;6: [Acesso em: 2015 Jun 10]. Disponível em: <http://blog.newtonpaiva.br/pos/wp-content/uploads/2013/04/PDF-E6-FARM32.pdf>
 19. Rocha ES, Rosico FS. Análise microbiológica da água de cozinhas e/ou cantinas das instituições de ensino do Município de Teixeira de Freitas (BA). Rev Baiana Saúde Pública. 2010;34(3):694-705.
 20. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Coordenação-Geral de Vigilância em Saúde Ambiental. Portaria MS n.º 518/2004. Brasília/DF: MS; 2005. 28p.
 21. Zeilhofer P, Zeilhofer LVAC, Haridoim EL, Lima ZM, Oliveira CS. GIS applications for mapping and spatial modeling of urban-use water quality: a case study in District of Cuiabá, Mato Grosso, Brazil. Cad Saúde Pública. 2007;23(4):875-84.
 22. Cereijo TL, Alves WS, Porfiro CA, Belisário CM, Costa LM. Análise microbiológica de águas minerais comercializadas. In: I Congresso de Pesquisa e Pós-Graduação do Câmpus Rio Verde do IF Goiano 06 e 07 de novembro de 2012. Rio Verde/GO; 2012.
 23. Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. Regulamento técnico para águas envasadas e gelo. RDC n. 274, de 22 de setembro de 2005 [Internet]. Brasília, 2005. [Acesso em: 2015 Jun 20]. Disponível em: <http://www.aguaseaguas.com.br/images/stories/pdflegislacaonovas/014.pdf>

Correspondência: Dante Togeiro Bastos Filgueiras. Av. Renó Júnior, 368 Bairro São Vicente Itajubá, MG. CEP: 37502-138 E-mail: dantetogeiro@gmail.com