

COMPARAÇÃO ENTRE O CALDO TRIPTOSE-LAURIL E O CALDO LACTOSADO, NA DETERMINAÇÃO DO NÚMERO DE BACTÉRIAS COLIFORMES NAS ÁGUAS DAS PRAIAS DOS MUNICÍPIOS DE SANTOS E SÃO VICENTE ^o

DACIO DE ALMEIDA CHRISTOVÃO *

A investigação bacteriológica das águas das praias de Santos e São Vicente, realizada por Christovão, Azevedo Netto e Jezler¹, em 1954, confirmou o elevado grau de contaminação dos primeiros quilômetros da Praia Grande — como era de esperar, dado o lançamento, em local próximo à praia, dos esgotos *in natura* de ambas as cidades — e veio revelar, pela primeira vez, a presença de bactérias coliformes em densidades acima dos padrões de balneabilidade comumente adotados, em vários trechos das outras praias do município de São Vicente e, também, da praia de Santos.

Posteriormente, entre outras medidas tendentes a corrigir a situação ou a melhor caracterizá-la, foi estabelecido o exame bacteriológico periódico das águas em questão, pela determinação do índice coliforme.

O decreto estadual n. 24.806, de 1955⁴, regulamentando a lei estadual n. 2.182 — que estabeleceu normas tendentes a evitar a contaminação e poluição das águas litorâneas ou interiores, correntes ou dormentes — adotou, para a amostragem e análise necessárias ao controle das águas, os métodos da Associação Americana de Saúde Pública.

A pesquisa das bactérias do grupo coliforme nas águas se inicia pela “prova de presunção”, a qual, de acordo com a última edição dos métodos padrões norte-americanos, pode ser realizada tanto em caldo lactosado simples, como em caldo triptose-lauril.

O emprêgo do caldo triptose-lauril, de Mallmann e Darby¹⁶ — combinação do caldo triptose dos mesmos autôres³ e do meio de Cowls² — tem sido apresentado como grandemente vantajoso, por ocasionar a evidenciação de maior número de provas confirmadas e pela economia de tempo e de material que proporciona aos laboratórios de controle de potabilidade e balneabilidade de águas, graças à redução do número de provas presuntivas falsas. Este efeito deve-se à presença do agente umectante, sulfato de lauril, o qual, provocando

Recebido para publicação em 25-7-1957.

^o Trabalho realizado na Cadeira de Microbiologia e Imunologia Aplicadas (Prof. Lucas de Assumpção) da Faculdade de Higiene e Saúde Pública da Universidade de São Paulo. Apresentado à Sessão de 14-9-56, do Departamento de Higiene e Medicina Tropical da Associação Paulista de Medicina.

* Assistente da Cadeira.

o abaixamento da tensão superficial do meio, dificulta, ou mesmo impede, a multiplicação de bactérias esporuladas — as responsáveis mais freqüentes pela ocorrência de provas falsas — principalmente aquelas do tipo aeróbio, como o *Bacillus polymixa* e outros.

Os pesquisadores norte-americanos Mallmann e Darby, na comunicação original¹⁶, chegaram mesmo a afirmar: “Nossa observação tem sido que sempre se obtém confirmação quando se produz gás no caldo triptose-lauril”

McCrary¹⁸, Diretor dos Laboratórios do Ministério de Saúde de Quebec, Canadá, ao relatar o estudo conjunto realizado por 17 laboratórios estaduais, provinciais, municipais e universitários dos Estados Unidos e Canadá, sobre o valor do caldo triptose-lauril, achou, entre outras conclusões, que seu emprêgo, relativamente ao do caldo lactosado, resultara na redução de cerca de 13% no número de porções positivas na prova de presunção e que, apesar disso, a percentagem de porções positivas na prova completa era maior; que, entretanto, se verificara que a produção de gás nesse meio requeria também confirmação.

Seria admissível que a freqüência relativa das bactérias esporuladas originárias de esgotos fôsse maior nas águas marítimas poluídas do que nas águas doces em igual condição, devido à pronunciada ação bactericida da água do mar e à resistência maior dos esporos. O uso do caldo triptose-lauril teria, portanto, probabilidade de revelar maior vantagem na determinação do número de coliformes nas águas do mar.

Tendo encontrado, entre as fontes de literatura mais usuais, uma única referência¹⁸ — relativa a trabalho realizado com apenas 10 amostras d'água, com 40 porções inoculadas — sobre a eficiência desse meio no exame de água do mar, o autor julgou de interesse verificar seu comportamento nos casos particulares das águas das praias dos municípios de Santos e São Vicente.

TÉCNICAS

Amostras: locais de amostragem, coleta e transporte — Como já descrito minuciosamente em trabalho anterior¹, foram estabelecidos seis locais de tomada de amostras — S1 a S6 — na praia de Santos, sete — V1 a V7 — nas praias da cidade de São Vicente e dez — G1 a G10 — na Praia Grande. Em cada local foram coletadas duas amostras por vez, uma — R — no ponto em que a profundidade das águas era de aproximadamente 0,75 m, outra — F — em parte mais profunda, cerca de 1,50 m.

Detalhes sobre o equipamento para a coleta e transporte das amostras d'água, assim como sobre a maneira como foram realizadas essas operações já foram descritos¹. As amostras foram sempre colhidas nas primeiras horas da manhã, entre 7,00 e 9,00 horas, de um grupo de locais de cada vez — Santos, São Vicente ou Praia Grande — e a coleta foi realizada três vezes por semana.

Medida da eficiência do caldo triptose-lauril — A eficiência do caldo triptose-lauril na prova de presunção foi medida pela comparação entre os resultados obtidos pela inoculação simultânea de amostras de águas das praias referidas, nesse meio e no caldo lactosado padrão ²⁰ De cada amostra examinaram-se duas sub-amostras A e B, empregando-se duas séries iguais de quatro “diluições” decimais, e de cada “diluição” inocularam-se três tubos de ambos os meios de cultura. Ao todo foram inoculados, portanto, com cada uma das amostras d’água, na prova de presunção, 24 tubos de caldo lactosado e 24 tubos de caldo triptose-lauril. As “diluições” ou volumes empregados para a água dos três primeiros locais de amostragem da Praia Grande, onde era de se esperar a maior frequência de coliformes, foram de 1,0 — 0,1 — 0,01 e 0,001 ml. Para tôdas as outras amostras usou-se a combinação de 10 — 1 — 0,1 e 0,01 ml. A partir de tôdas as porções positivas de tôdas as “diluições”, isto é, de todos os tubos que revelaram a presença de gás às 24 e às 48 horas de incubação, foram inoculados tubos de caldo bile-lactose-verde-brilhante, para a confirmação dos resultados. A prova de confirmação foi lida até as 48 horas de incubação.

O método utilizado, executado todo êle de acôrdo com os padrões da Associação Americana de Saúde Pública ²⁰, permitia medir-se a eficiência relativa dos meios, tanto pelo número de porções ou tubos presuntivamente positivos e depois confirmados, como através da determinação dos “números mais prováveis” — N.M.P. — de coliformes revelados em cada exame; os N.M.P. foram obtidos pelas tabelas de Hoskins ¹⁵. O primeiro processo tem sido quase o único utilizado na comparação e seleção dos meios de cultura para exame d’água e, através dêle, foram estabelecidos os atuais métodos padrões. Como será discutido posteriormente, nem sempre seria aceitável. A medida dos N.M.P. oferece, muitas vezes, vantagens apreciáveis e chega mesmo a ser a maneira apropriada de medir os resultados.

A realização dos exames em duplicata, com ambos os meios, pelo emprêgo das duas sub-amostras A e B, permitiria análise estatística destinada a medir o êrro de cada método e também, dada a variabilidade dos N.M.P., oferece a vantagem do seu valor médio ter maior probabilidade de se aproximar do verdadeiro valor do que ocorreria fazendo-se um único exame.

Número de exames — Contando-se as sub-amostras A e B, foram examinadas, ao todo, 208 amostras — 72 da praia de Santos, 56 das praias de São Vicente e 80 da Praia Grande. Inoculando-se 3 porções de cada uma de 4 “diluições” (ou volumes) de cada sub-amostra em caldo lactosado e em caldo triptose-lauril, segue-se que se examinaram 2.496 porções em cada um desses meios presuntivos. Tendo sido prejudicados os exames das sub-amostras A e B de uma das amostras V6-F — e de uma das V7-F, assim como da sub-amostra B de G6-F, o número de porções a ser considerado neste trabalho passou a ser de 2.436.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O quadro I apresenta, separadamente para as praias de Santos, São Vicente ou Praia Grande, o número de porções positivas nas provas de presunção e confirmação, obtidas a partir da inoculação em caldo lactosado ou caldo triptose-lauril. A distribuição dos resultados é feita de acôrdo com o volume inoculado e tempo de incubação da prova de presunção. No quadro II é apresentada distribuição semelhante, tomando-se, porém, os resultados de tôdas as praias conjuntamente.

Vê-se no segundo quadro que, no total das amostras examinadas, o uso do caldo triptose-lauril resultou na obtenção de 1.294 e 1.463 porções positivas na prova de presunção, lida, respectivamente, às 24 e às 48 h de incubação, enquanto o caldo lactosado, nas mesmas condições, forneceu 1.400 e 1.539 porções positivas. Assim, com o emprêgo do caldo triptose-lauril houve, respectivamente, redução de 7,6 e 4,9% no número de porções presuntivamente positivas.

Entretanto, ainda pelos dados do quadro II, pode-se notar que o uso do caldo triptose-lauril resultou também em diminuição do número de porções confirmadas. Houve, no total, 1.247 e 1.301 porções confirmadas, quando se partiu das provas presuntivas positivas obtidas com o caldo lactosado, respectivamente, às 24 e às 48 h de incubação. Partindo-se, nas mesmas condições, do caldo triptose-lauril, obteve 1.202 e 1.252 porções confirmadas, ou seja, menos 3,6 e 3,8%, respectivamente. Comparadas com as quedas percentuais ocorridas nas provas de presunção, estas menores quedas percentuais observadas nas provas de confirmação mostram ter havido maior proporção de confirmação nos exames realizados pela inoculação inicial em caldo triptose-lauril do que naqueles iniciados em caldo lactosado. Evidentemente, tal fato se demonstraria diretamente, estabelecendo-se, para cada meio presuntivo, as relações percentuais entre os números de porções confirmadas e os das porções positivas na prova de presunção. Pelos dados do quadro II, pode-se calcular tais percentagens de confirmação como sendo de 89,1 e 84,5 para as porções presuntivamente positivas em caldo lactosado, respectivamente às 24 e às 48 h de incubação, e de 92,9 e 85,6 para as do caldo triptose-lauril, nas mesmas condições. Porém, como se vê, estas diferenças, assim como aquelas observadas acima, foram muito pequenas.

Fatos análogos ocorrem, em geral, se forem considerados do mesmo modo os dados respectivo das praias de Santos, São Vicente e Praia Grande, separadamente (Quadro I). Apenas, para esta última praia, acentuam-se as diferenças entre os dois meios presuntivos.

O quadro III, embora não organizado com essa finalidade, permite verificação mais fácil desses fatos, tanto para o total das observações, como para os resultados de cada grupo de locais de amostragem. Esse quadro apresenta o número de porções positivas e os índices correspondentes, obtidos nas provas de presunção e confirmação, segundo o tempo de incubação da prova de presunção, meio presuntivo utilizado e proveniência das amostras. Os números

QUADRO I — Comparação entre o caldo triptose-lauril e o caldo lactosado na pesquisa de Coliformes em amostras d'água das Praias de Santos, São Vicente e Praia Grande. Números de porções positivas nas provas de presunção e de confirmação, segundo o volume inoculado e tempo de incubação da prova de presunção

PRAIA	P R O V A	Volume inoculado (ml)	TEMPO DE INCUBAÇÃO DA PROVA DE PRESUNÇÃO					
			Até 24 horas		De 24 a 48 horas		Até 48 horas	
			caldo lactosado	caldo triptose-lauril	caldo lactosado	caldo triptose-lauril	caldo lactosado	caldo triptose-lauril
Santos*	Presunção	10	216	216	0	0	216	216
		1	211	211	5	5	216	216
		0,1	127	110	27	28	154	138
		0,01	16	19	14	6	30	25
	Total	570	556	46	39	616	595	
Santos*	Confirmação	10	215	216	0	0	215	216
		1	203	200	5	5	208	205
		0,1	94	88	7	7	101	95
		0,01	10	11	1	2	11	13
	Total	522	515	13	14	535	529	
São Vicente**	Presunção	10	156	156	0	0	156	156
		1	147	145	5	7	152	152
		0,1	68	46	35	31	103	77
		0,01	8	3	6	2	14	5
	Total	379	350	46	40	425	390	
São Vicente**	Confirmação	10	156	156	0	0	156	156
		1	138	132	8	5	146	137
		0,1	40	37	12	8	52	45
		0,01	3	4	0	0	3	4
	Total	337	329	20	13	357	342	

(continua)

QUADRO I (cont.)

PRAIA	P R O V A	Volume inoculado (ml)	TEMPO DE INCUBAÇÃO DA PROVA DE PRESUNÇÃO					
			Até 24 horas		De 24 a 48 horas		Até 48 horas	
			caldo lactosado	caldo triptose-lauril	caldo lactosado	caldo triptose-lauril	caldo lactosado	caldo triptose-lauril
	Presunção	10 1 0,1 0,01 0,001	154 147 77 50 23	130 128 74 39 17	11 17 16 1 2	30 48 10 0 2	165 164 93 51 25	160 176 84 39 19
	Total	451	388	47	90	498	478	
Praia Grande***	Confirmação	10 1 0,1 0,01 0,001	112 136 71 49 20	103 129 70 39 17	11 5 2 1 2	12 8 1 0 2	123 141 73 50 22	115 137 71 39 19
	Total	388	358	21	23	409	381	

* — Em cada meio presuntivo foram inoculadas 864 porções — 216 de cada um dos volumes indicados.

** — Em cada meio presuntivo foram inoculadas 624 porções — 156 de cada um dos volumes indicados;

*** — Em cada meio presuntivo foram inoculadas 948 porções — 165 de 10 ml, 237 de cada um dos volumes de 1,0, 0,1 e 0,01 ml e 72 de 0,001 ml.

QUADRO II — Comparação entre o caldo triptose-lauril e o caldo lactosado na pesquisa de coliformes em amostras d'água das praias de Santos, São Vicente e Praia Grande, tomadas em conjunto. Número de porções positivas* nas provas de presunção e de confirmação, segundo o volume inoculado e tempo de incubação da prova de presunção

P R O V A	Volume inoculado (ml)	TEMPO DE INCUBAÇÃO DA PROVA DE PRESUNÇÃO					
		Até 24 horas		De 24 a 48 horas		Até 48 horas	
		caldo lactosado	caldo triptose lauril	caldo lactosado	caldo triptose lauril	caldo lactosado	caldo triptose lauril
Presunção	10	526	502	11	30	537	532
	1	505	484	27	60	532	544
	0,1	272	230	78	69	350	299
	0,01	74	61	21	8	95	69
	0,001	23	17	2	2	25	19
Total	1 400	1 294	139	169	1 539	1 463	
Confirmação	10	483	475	11	12	494	487
	1	477	461	18	18	495	479
	0,1	205	195	21	16	226	211
	0,01	62	54	2	2	64	56
	0,001	20	17	2	2	22	19
Total	1 247	1 202	54	50	1 301	1 252	

* Em cada meio presuntivo foram inoculadas 2 436 porções — 537 de 10 ml, 609 de cada um dos volumes de 1,0, 0,1 e 0,01 ml e 72 de 0,001 ml.

QUADRO III — Comparação entre o caldo triptose lauril e o caldo lactosado na pesquisa de coliformes em amostras d'água das praias de Santos, São Vicente e Praia Grande. Número de porções positivas e índices correspondentes * nas provas de presunção e confirmação tomando-se todos os volumes inoculados ou somente os dois menores, segundo o tempo de incubação da prova de presunção

Águas das Praias	Volumes inoculados considerados	PROVA DE PRESUNÇÃO POSITIVA				PROVA DE CONFIRMAÇÃO POSITIVA											
		Até 24 horas (1)		Até 48 horas (2)		A partir de (1)		A partir de (2)									
		caldo triptose-lauril	caldo lactosado	caldo triptose-lauril	caldo lactosado	caldo triptose-lauril	caldo lactosado	caldo triptose-lauril	caldo lactosado								
Santos	todos os volumes	556	104	570	107	595	111	616	115	515	96	522	98	529	99	535	100
	sómente os dois volumes menores	129	115	143	128	163	146	184	164	99	88	104	93	108	96	112	100
São Vicente	todos os volumes	350	98	379	106	390	109	425	119	329	92	337	94	342	96	357	100
	sómente os dois volumes menores	49	89	76	138	82	149	117	213	41	75	43	78	49	89	55	100
Praia Grande	todos os volumes	388	95	451	110	478	117	498	122	358	88	388	95	381	93	409	100
	sómente os dois volumes menores	56	78	73	101	58	81	76	106	56	78	69	96	58	81	72	100
Total	todos os volumes	1 294	99	1 400	108	1 463	112	1 539	118	1 202	92	1 247	96	1 252	96	1 301	100
	sómente os dois volumes menores	234	98	292	126	303	127	377	158	196	92	216	90	215	90	239	100

* — Os números índices acham-se em negrito. O valor 100 foi atribuído ao número de porções confirmadas a partir das porções positivas em caldo lactosado, com incubação até 48 horas.

índices são os que se obtém atribuindo-se o valor 100 ao número de porções confirmadas a partir das porções positivas ocorridas em caldo lactosado com incubação até 48 h. Comparando-se os índices obtidos, pode-se verificar mais facilmente os fatos acima descritos.

Colocada a questão nesses termos, pareceria justificável concluir-se pelo emprêgo facultativo de qualquer dos meios presuntivos estudados. É, com efeito o que revelariam os índices apresentados no quadro III. Considerando-se o número de porções confirmadas a partir de todos os volumes inoculados em caldo triptose-lauril, encontram-se os valores de 99, 96 e 93 nos casos das águas de Santos, São Vicente e Praia Grande, respectivamente. Pelo menos nos dois primeiros casos, parece indiferente o emprêgo de qualquer dos dois meios, embora com uma pequena restrição — o caldo triptose-lauril, tido como capaz de fornecer maior número de porções confirmadas, apresentou, realmente, resultados inferiores na série de observações relatadas. Dada a redução, já mencionada, de 7,6 ou 4,9%, conforme o caso considerado, no número de porções presuntivamente positivas obtidas em caldo triptose-lauril, haveria mesmo razão para a preferência dêste meio. Ainda mais, por esta maneira de analisar os resultados, parecia aconselhável a realização do exame das águas em questão simplesmente pela prova de presunção em caldo triptose-lauril, com incubação de 24 hrs. Pode ser visto facilmente pelos números índices (quadro III) que esta prova forneceu resultados muito próximos daqueles obtidos através da confirmação das porções positivas em caldo lactosado com incubação até 48 h, o que exige o total de 96 h, dois meios de cultura diferentes e duas inoculações. Ela é, mesmo, a que mais se aproximou desta prova de confirmação no caso das águas de São Vicente e da Praia Grande.

Entretanto êste modo de analisar os resultados, tomando-se para comparação os números totais de porções positivas nos vários grupos, é sujeito a causa de erro, a qual influencia os resultados, trazendo tendência bastante intensa à nivelção das diferenças, que poderia chegar a mascarar alguma diferença significativa entre grupos. Resulta essa influência da presença do número relativamente grande de porções dos maiores volumes inoculados, os quais, pela natureza do exame, são propositalmente selecionados para apresentarem, o mais freqüentemente possível, resultados totalmente positivos, tanto na prova de presunção, como na de confirmação. A presença de tal quantidade de porções positivas em ambos os tipos de provas, iniciadas com ambos os meios presuntivos, necessariamente tende a equalizar os resultados globais, medidos pelo número total de porções positivas. Isto pode ser visto nos três quadros apresentados, nos quais, com essa finalidade, foram incluídos nos diferentes grupos, os sub-totais de porções positivas dos menores volumes inoculados.

Observa-se no quadro II, por exemplo, que pelo emprêgo do caldo lactosado, resultou o total de 1.301 porções confirmadas e através do caldo triptose-lauril, 1.252. O uso do primeiro meio trouxe assim 3,9% mais de resultados confirmados. Tomando-se apenas os três volumes menores, observa-se o sub-

-total de 312 porções confirmadas dentre as inoculadas primariamente em caldo lactosado e de 286 entre aquelas inoculadas em caldo triptose-lauril. O primeiro meio, desta vez, mostra superioridade de 9,1% nos resultados confirmados.

Ainda pelos dados do mesmo quadro, pode-se ver que a prova de presunção em caldo lactosado com incubação de 24 h apresentou 1.400 porções positivas, 8,2% mais que a realizada em caldo triptose-lauril, que forneceu 1.294. Considerando-se somente os três volumes menores inoculados, encontram-se 369 porções positivas com o uso do caldo lactosado e 308, com o do caldo triptose-lauril. O primeiro meio, dêste modo, revelou 19,8% mais de resultados positivos.

No quadro I, como exemplos mais flagrantes dêsse efeito, podem-se tomar os números de porções confirmadas (oriundas das positivas na prova de presunção com incubação até 48 hrs.) das amostras da Praia Grande e os números de porções presuntivamente positivas às 24 h de incubação, das amostras de São Vicente. No primeiro caso, poderá ser verificado que, enquanto, ao se tomar os resultados totais, se encontram 7,3% mais de resultados positivos através do emprêgo do caldo lactosado, levando-se em consideração apenas os dois menores volumes inoculados, essa superioridade seria de 24,1%. No caso de São Vicente, do mesmo modo, poderá ser visto que, considerando os totais, o caldo lactosado apresenta 8,3% mais de porções positivas, e, tomando-se os resultados obtidos com os dois volumes menores, a sua superioridade seria de 55,1%. Essas diferenças entre os meios de cultura, variáveis conforme se consideram todos ou apenas alguns volumes, podem ser vistas, facilmente pela comparação dos índices respectivos, apresentados no quadro III.

Ora, os resultados apresentados pelos volumes menores talvez indicassem a eficiência relativa dos meios de cultura muito melhor do que o total dos volumes examinados, pois neles é que se encontram, com freqüência muito maior, números mínimos de coliforme e mesmo, muitas vezes, a ocorrência de um único dêsses microrganismos. A diferença na eficiência dos dois meios estudados poderá ser, portanto, bem maior que a sugerida pela comparação dos números totais de porções positivas.

O método da análise através de comparação dos totais de porções positivas, embora tenha sido o único utilizado pela quase totalidade dos autôres, até há poucos anos, em estudos da natureza da presente comunicação — como o de Hajna e Perry¹² e o, já referido, de McCrady¹⁸ — está sujeito a êrro. Seria processo perfeitamente aceitável somente quando se trabalhasse com porções de igual volume da amostra, o que, em geral, somente é possível quando se examinam águas com densidade de coliformes conhecida, como é o caso das águas tratadas. O processo de se adotar apenas os resultados dos volumes menores, cria o problema da seleção dos volumes a serem considerados. A solução consiste em realizar a comparação pelas estimativas da densidade de bactérias que corresponde à combinação de resultados encontrada em cada

exame, as quais são fornecidas através do método do “número mais provável” — N.M.P. O N.M.P. pode ser definido como “o número de organismos por unidade de volume que, na pesquisa da densidade bacteriana pelo método da diluição, de acôrdo com a teoria estatística, teria probabilidade maior que qualquer outro número possível, de dar o resultado de exame observado”⁹.

O conceito do N.M.P. foi introduzido em 1915 por McCrady¹⁷. Seguiram-se, entre outros, os estudos de Greenwood e Yule¹¹; de Fisher⁸, em 1921; de Reed¹⁹, em 1925; de Halverson e Ziegler¹³ e de Hoskins¹⁴, em 1933. Eisenhart e Wilson⁵, em 1943, apresentaram revisão crítica dos estudos realizados até então. Vários dos autôres mencionados, apresentaram, já no trabalho original ou em posteriores, tabelas para estimativa rápida do N.M.P., ou, mesmo, tabelas que forneciam os próprios valores, evitando assim os laboriosos cálculos matemáticos necessários e permitindo a difusão rápida da aplicação desse processo estatístico. Além disso, muitos métodos simplificados de cálculo do N.M.P. foram apresentados, entre eles os de Fisher e Yates⁹, e de Finney⁷. Últimamente, foram publicadas tabelas dos limites de confiança do N.M.P., como as de Swaroop²¹ e de Woodward²³. Swaroop, em recente número do Boletim da Organização Mundial de Saúde²², dedicado ao saneamento da água, apresentou discussão interessante de certos aspectos do N.M.P. e chamou a atenção, entre outros pontos, sobre seus limites de confiança e sobre a vantagem de ser introduzido o uso desses limites na rotina do contrôle da água.

A determinação do N.M.P., que leva na devida consideração o número de porções positivas ocorridas em cada nível de diluição, ou volume, é, como foi dito, bastante laboriosa e se recorre, por essa razão, a tabelas especiais para a obtenção direta das estimativas. Foram usadas nesta investigação as tabelas mais empregadas, que são as de Hoskins¹⁵. Trazem os N.M.P., por 100 ml de água, correspondentes a qualquer combinação de resultados obtida com a inoculação até de cinco porções de cada uma de três diluições decimais (ou volumes). A seleção das três “diluições” críticas — quando se trabalha com mais de três como é o caso desta investigação — em geral não oferece dificuldade, devendo-se apenas seguir certas regras, como as apresentadas nos métodos padrões americanos²⁰. Tem sido demonstrado que o uso de quatro ou mais diluições não altera significativamente o N.M.P.⁶.

Séries de N.M.P. podem ser tratadas estatisticamente. Fertig e Heller, em trabalho sobre a aplicação de técnicas estatísticas a processos de tratamento de esgotos⁶, ilustram de maneira simples e sucinta o emprêgo de algumas das técnicas estatísticas fundamentais na análise de séries de N.M.P.

Os quadros IV, V e VI apresentaram os N.M.P., por 100 ml, obtidos para as várias amostras d'água das praias de Santos, São Vicente e Praia Grande, respectivamente. Foram tabelados, para cada meio presuntivo, os N.M.P. das provas de presunção às 24 e às 48 h de incubação e os das provas de confirmação correspondentes. No quadro VII são apresentadas as médias geométricas de cada série. No caso da Praia Grande essas médias foram também

QUADRO IV — Comparação entre o caldo triptose-lauril e o caldo lactosado na pesquisa de coliformes em amostras d'água da praia de Santos, N.M.P., por 100 ml, obtidos nas provas de presunção e confirmação, segundo o tempo de incubação da prova de presunção, local de amostragem, sub-amostra e dia da colheita.

LOCAL DE AMOSTRAGEM (1.º dia)	sub-amostra	PROVA DE PRESUNÇÃO				PROVA DE CONFIRMAÇÃO				
		Até 24 horas (1)		Até 48 horas (2)		A partir de (1)		A partir de (2)		
		CL*	CTL*	CL	CTL	CL	CTL	CT	CTL	
S1	R	A	430	430	930	430	430	430	430	230
		B	430	430	930	430	39	230	230	39
	F	A	2400	230	2400	430	2400	2400	2400	230
		B	1500	430	1500	430	930	930	930	430
S2	R	A	1500	230	1500	2400	2400	930	930	430
		B	2400	930	2400	2400	930	930	1500	930
	F	A	930	930	1500	2400	930	930	1500	930
		B	930	930	930	2400	930	930	930	930
S3	R	A	930	430	2400	930	930	430	430	430
		B	1500	750	2100	4600	750	750	750	750
	F	A	930	930	930	2400	430	930	930	430
		B	430	430	930	930	230	230	430	230
S4	R	A	930	930	2400	2400	2400	930	930	930
		B	750	430	1500	4600	430	430	430	430
	F	A	230	930	430	4600	230	750	230	750
		B	230	390	230	750	230	230	230	230
S5	R	A	430	430	430	930	430	230	230	430
		B	430	230	430	430	93	230	230	93
	F	A	230	150	430	930	150	93	93	150
		B	430	230	430	430	93	430	430	93
S6	R	A	2400	930	2400	2300	2400	930	930	430
		B	930	430	2400	430	430	430	430	430
	F	A	2400	4300	2400	4300	2400	930	930	2300
		B	2400	2300	2400	2300	2400	2400	2400	2300

(continua)

QUADRO IV (continuação)

LOCAL DE amostragem (2.º dia)	sub-amostra	PROVA DE PRESUNÇÃO				PROVA DE CONFIRMAÇÃO			
		Até 24 horas (1)		Até 48 horas (2)		A partir de (1)		A partir de (2)	
		CL*	CTL*	CL	CTL	CL	CTL	CL	CTL
S1	R	750	390	750	390	230	230	230	230
	B	430	930	930	930	120	75	210	210
	F	150	430	750	430	150	430	150	430
S2	B	930	750	>11000	750	210	150	210	430
	A	11000	2400	11000	4600	4600	4600	11000	4600
	F	4600	4600	4600	4600	2400	4600	2400	4600
S3	A	2400	930	2400	930	930	430	930	430
	B	430	2100	430	2100	230	430	230	430
	F	930	430	930	430	430	230	430	230
S4	A	930	930	930	930	150	230	930	230
	B	430	930	930	930	430	930	430	930
	F	2400	2400	2400	2400	930	930	930	930
S5	A	930	2400	1500	2400	930	930	930	930
	B	1500	4600	11000	4600	390	930	1500	930
	F	2400	2400	2400	2400	930	2400	930	2400
S6	A	2400	930	4600	2400	750	430	1500	430
	B	930	4600	930	4600	930	4600	930	4600
	F	4600	4600	4600	4600	4600	4600	4600	4600

* — CL = caldo lactosado e CTL = caldo triptose-lauril.

(continua)

QUADRO IV (continuação)

LOCAL DE AMOSTRAGEM (3.º dia)	sub- anos tra	PROVA DE PRESUNÇÃO				PROVA DE CONFIRMAÇÃO			
		Até 24 horas (1)		Até 48 horas (2)		A partir de (1)		A partir de (2)	
		CL*	CTL*	CL	CTL	CL	CTL	CL	CTL
S1	R	930	210	930	930	150	210	150	210
	B	1500	230	4600	230	750	230	750	230
	F	390	430	2100	430	390	230	390	230
	B	230	930	430	930	230	210	230	930
S2	A	4600	4600	4600	4600	1500	2400	1500	4600
	B	4600	4600	4600	4600	2400	4600	2400	4600
	F	4600	4600	4600	4600	2400	930	2400	1500
	B	2400	4600	2400	4600	930	430	2400	2400
S3	A	430	430	430	430	230	150	430	150
	B	230	430	230	430	93	430	230	430
	F	430	390	430	390	150	93	150	390
	B	150	430	430	430	150	430	150	430
S4	A	23	430	430	430	230	430	230	430
	B	430	430	930	930	230	430	230	430
	F	930	430	1500	430	210	230	930	430
	B	430	23	750	230	230	230	230	230
S5	A	2400	430	4600	1500	930	750	930	1500
	B	930	430	2400	430	430	430	430	430
	F	2400	1500	2400	1500	430	930	430	930
	B	2400	430	4600	750	430	230	430	230
S6	A	430	230	930	430	75	43	30	43
	B	230	430	430	930	29	430	29	430
	F	430	430	930	930	430	430	430	430
	B	430	390	2400	390	230	390	230	390

* — CL = caldo lactosado e CTL = caldo triptose-lauril.

QUADRO V — Comparação entre o caldo triptose-lauril e o caldo lactosado na pesquisa de coliformes em amostras d'água das praias de São Vicente. N.M.P., por 100 ml, obtidos nas provas de presunção e confirmação, segundo o tempo de incubação da prova de presunção, local de amostragem, sub-amostra e dia da colheita.

LOCAL DE AMOSTRAGEM (1.º dia)	sub-amostra	PROVA DE PRESUNÇÃO				PROVA DE CONFIRMAÇÃO			
		Até 24 horas (1)		Até 48 horas (2)		A partir de (1)		A partir de (2)	
		CL*	CTL*	CL	CTL	CL	CTL	CL	CTL
V1	R	750	4600	4600	4600	230	750	230	4600
	B	2400	930	2400	930	430	430	430	430
	F	750	210	1500	930	430	210	430	210
V2	R	930	750	2400	1500	150	750	430	750
	B	2400	930	2400	930	2400	430	2400	430
	F	930	430	930	930	230	230	230	230
V3	R	1500	2400	1500	2400	750	230	750	230
	B	1500	930	1500	930	430	230	430	230
	F	210	430	2400	430	150	430	1500	930
V4	R	930	430	930	430	430	430	430	430
	B	1500	430	1500	430	750	230	750	430
	F	430	430	4600	2400	430	2400	930	2400
V5	R	230	230	930	430	230	23	430	39
	B	230	930	430	2400	93	930	230	930
	F	230	230	930	930	230	230	230	230
V6	R	430	230	930	930	93	430	430	430
	B	430	430	930	430	430	93	430	230
	F	230	2400	930	2400	230	430	430	430
V7	R	150	93	2400	430	93	93	150	93
	B	930	430	930	2400	930	210	930	930
	F	2400	230	2400	930	230	430	430	430
		430	430	1500	930	93	150	93	430

(continua)

QUADRO V (continuação)

LOCAL DE AMOSTRAGEM (2.º dia)	sub-amostra	PROVA DE PRESUNÇÃO				PROVA DE CONFIRMAÇÃO			
		Até 24 horas (1)		Até 48 horas (2)		A partir de (1)		A partir de (2)	
		CL*	CTL*	CL	CTL	CL	CTL	CL	CTL
V1	R	930	930	1500	930	430	930	930	930
	B	930	390	930	390	930	390	930	390
	A	430	210	930	210	430	210	430	210
	B	230	150	430	439	230	93	230	93
V2	A	230	430	430	930	230	930	230	930
	B	930	930	2400	2400	930	430	930	430
	A	150	930	150	930	150	210	150	210
	B	930	230	2400	430	930	93	930	93
V3	A	150	430	150	430	150	430	150	430
	B	430	150	750	150	430	150	430	150
	A	430	430	930	430	430	430	430	430
	B	230	230	930	230	230	230	430	230
V4	A	430	230	930	430	430	430	930	430
	B	930	230	930	230	930	230	930	230
	A	230	230	230	230	230	230	230	230
	B	430	230	930	230	430	230	430	230
V5	A	43	93	93	430	23	23	43	23
	B	150	75	430	150	39	43	75	43
	A	430	93	430	93	93	93	93	93
	B	75	230	150	430	43	93	93	93
V6	A	930	150	930	430	230	150	230	150
	B	430	150	430	150	150	150	430	150
V7	A	930	230	2400	230	230	230	230	230
	B	430	430	930	430	150	430	430	430

* — CL = caldo lactosado e CTL = caldo triptose-lauril.

QUADRO VI — Comparação entre o caldo triptose-lauril e o caldo lactosado na pesquisa de coliformes em amostras d'água da Praia Grande. N.M.P., por 100 ml, obtidos nas provas de presunção e confirmação, segundo o tempo de incubação da prova de presunção, local de amostragem, sub-amostra e dia da colheita.

LOCAL DE AMOSTRAGEM (1.º dia)	sub-amostra	PROVA DE PRESUNÇÃO						PROVA DE CONFIRMAÇÃO					
		Até 24 horas (1)		Até 48 horas (2)		A partir de (1)		A partir de (2)		A partir de (1)		A partir de (2)	
		CL*	CTL*	CL	CTL	CL	CTL	CL	CTL	CL	CTL	CL	CTL
G1	R	> 110000	6400	110000	9500	> 110000	> 110000	6400	> 110000	> 110000	9500	> 110000	9500
	F	> 110000	2900	> 110000	2900	> 110000	> 110000	2900	> 110000	> 110000	2900	> 110000	2900
G2	R	110000	46000	110000	46000	110000	110000	46000	110000	110000	46000	110000	46000
	F	> 110000	> 110000	> 110000	> 110000	> 110000	> 110000	> 110000	> 110000	> 110000	> 110000	> 110000	> 110000
G3	R	24000	46000	24000	46000	24000	24000	46000	24000	24000	46000	24000	46000
	F	> 110000	24000	> 110000	24000	> 110000	> 110000	24000	> 110000	> 110000	24000	> 110000	24000
G4	R	110000	11000	110000	11000	110000	110000	11000	110000	110000	11000	110000	11000
	F	> 110000	4600	> 110000	4600	> 110000	> 110000	4600	> 110000	> 110000	4600	> 110000	4600
G5	R	4600	2400	46000	2400	46000	46000	2400	46000	46000	2400	46000	2400
	F	4600	930	4600	930	4600	4600	930	4600	4600	930	4600	930

(continua)

QUADRO VI. (continuação)

LOCAL DE AMOSTRAGEM (1.º dia)	sub-amostra	PROVA DE PRESUNÇÃO				PROVA DE CONFIRMAÇÃO			
		Até 24 horas (1)		Até 48 horas (2)		A partir de (1)		A partir de (2)	
		CL*	CTL*	CL	CTL	CL	CTL	CL	CTL
G6	R	930	430	930	430	930	230	930	230
	B	230	230	430	230	230	230	230	230
	A	750	930	750	930	750	930	750	930
G7	R	750	230	4600	230	750	230	750	230
	B	930	930	2400	930	930	930	930	930
	A	390	150	750	430	390	150	390	150
G8	R	230	430	230	430	230	430	230	430
	B	430	230	430	230	430	230	430	230
	A	230	230	430	230	230	230	430	230
G9	R	230	210	230	930	230	93	230	230
	B	230	150	230	430	230	43	230	43
	A	430	230	930	230	430	43	430	43
G10	R	930	2400	930	2400	930	2400	930	2400
	B	230	150	430	430	230	93	230	430
	A	430	230	930	430	230	93	230	430
	R	230	230	230	230	230	230	230	230
	B	430	430	430	430	430	430	430	430
	A	93	93	230	93	93	93	93	93
	R	230	230	230	230	230	23	230	230
	B	230	230	230	230	230	23	230	230
	A	230	230	230	230	230	23	230	230

* — CL = caldo lactosado e CTL = caldo triptose-lauril.

(continua)

QUADRO VI (continuação)

LOCAL DE AMOSTRAGEM (2.º dia)	sub-amostra	PROVA DE PRESUNÇÃO				PROVA DE CONFIRMAÇÃO			
		Até 24 horas (1)		Até 48 horas (2)		A partir de (1)		A partir de (2)	
		CL*	CTL*	CL	CTL	CL	CTL	CL	CTL
G1	R	230	<30	430	430	91	<30	91	36
	B	930	230	930	230	230	230	230	230
	A	91	36	91	230	36	91	91	230
	B	73	91	150	230	30	36	30	36
G2	A	30	<30	30	91	30	<30	30	36
	B	230	<30	230	<30	36	<30	91	<30
	A	36	36	91	91	<30	36	<30	36
	B	91	36	91	73	36	<30	36	36
G3	A	430	91	430	230	230	230	430	230
	B	91	36	91	150	91	73	91	150
	A	230	36	230	36	230	36	230	36
	B	150	<30	150	36	91	36	91	36
G4	A	23	23	23	23	9,1	3,6	23	3,6
	B	23	9,1	23	21	9,1	7,3	9,1	7,3
	A	43	15	43	93	3,6	3	3,6	15
	B	23	23	43	43	9,1	23	9,1	23
G5	A	9,1	<3	23	43	<3	<3	<3	3,6
	B	23	9,1	43	43	<3	9,1	<3	9,1
	A	23	23	23	43	3,6	9,1	3,6	23
	B	43	3,6	43	93	7,3	3,6	7,3	3,6

(continua)

QUADRO VI (continuação)

LOCAL DE AMOSTRAGEM (2.º dia)	sub-amostra	PROVA DE PRESUNÇÃO						PROVA DE CONFIRMAÇÃO					
		Até 24 horas (1)			Até 48 horas (2)			A partir de (1)			A partir de (2)		
		CL	CTL	CTL	CL	CTL	CTL	CL	CTL	CTL	CL	CTL*	
G6	R	23	23	43	23	43	3,6	7,3	3,6	9,1	7,3	9,1	7,3
	B	9,1	7,3	93	23	93	3,6	11	3,6	3,6	11	3,6	11
	A	9,1	3,6	75	150	75	3,6	<3	3,6	3,6	<3	3,6	<3
	B	9,1	7,3	75	93	75	3,6	<3	3,6	3,6	<3	3,6	3,6
G7	R	43	3,6	93	43	93	3,6	<3	<3	<3	<3	7,3	7,3
	B	3,6	3,6	23	43	23	3,6	3,6	3,6	9,1	3,6	9,1	9,1
	A	9,1	9,1	14	23	14	9,1	3,6	<3	3,6	3,6	3,6	3,6
	B	23	9,1	230	23	230	9,1	<3	9,1	9,1	<3	9,1	<3
G8	R	9,1	9,1	23	23	23	9,1	<3	<3	<3	<3	<3	<3
	B	23	9,1	120	39	120	9,1	<3	9,1	23	<3	23	<3
	A	14	<3	43	75	43	<3	<3	3,6	3,6	<3	9,1	<3
	B	43	3,6	15	93	15	3,6	<3	3,6	3,6	<3	3,6	<3
G9	R	9,1	23	93	43	93	23	15	3,6	3,6	43	3,6	43
	B	43	9,1	23	43	23	9,1	<3	3,6	3,6	<3	3,6	<3
	A	23	23	93	23	93	23	9,1	3,6	3,6	9,1	3,6	9,1
	B	23	23	240	43	240	23	9,1	3,6	3,6	9,1	3,6	9,1
G10	R	9,1	9,1	43	93	43	9,1	9,1	7,3	7,3	23	21	23
	B	23	15	93	23	93	15	7,3	3,6	7,3	15	23	15
	A	23	9,1	93	75	93	9,1	7,3	23	23	15	23	15
	B	43	9,1	43	75	43	9,1	3,6	9,1	15	3,6	15	3,6

* — CL = caldo lactosado e CTL = caldo triptose-lauril.

calculadas separadamente em dois grupos de locais de amostragem — 1 a 5 e 6 a 10 — dada a eficiência aparentemente diferente do caldo triptose-lauril, relativamente à do caldo lactosado, nos pontos de alta e baixa contaminação desta praia. Além das médias referidas, o quadro VII apresenta seus respectivos índices, calculados em relação às médias obtidas na confirmação das porções presuntivamente positivas em caldo lactosado às 48 h de incubação. A essas médias da prova de confirmação foi atribuído o valor 100. No cálculo das médias foram abandonados todos os exames que apresentaram valores indeterminados de N.M.P. em qualquer das provas realizadas.

Os resultados expressos em N.M.P. revelam que o emprêgo do caldo triptose-lauril resultou, em média, na obtenção de menores índices de contaminação das águas examinadas. A diferença foi muito pequena no caso de Santos, mas chega a ser bem grande no de São Vicente e da Praia Grande. Comparando-se os dados do quadro VII com os do quadro III, vê-se que as diferenças entre os dois meios de cultura se acentuam quando avaliados pelos N.M.P. Embora muitas dessas diferenças pareçam não ser significantes, chama a atenção o fato do caldo triptose-lauril, em média, sempre ter fornecido resultados menores.

Relativamente aos resultados da Praia Grande é interessante observar-se que a eficiência do caldo triptose-lauril, comparada com a do caldo lactosado, parece ser diferente conforme se consideram os locais de maior ou menor contaminação ou seja, no caso, os locais de contaminação mais recente e mais remota. Nos pontos G1 a G5, situados nos cinco quilômetros mais próximos ao local do lançamento dos esgotos de Santos e de São Vicente, o índice da média geométrica dos N.M.P. resultantes do uso do caldo triptose-lauril foi de 72; nos pontos G6 a G10, localizados nos cinco quilômetros seguintes, o índice respectivo foi de 83. Essa diferença poderia ser significativa, porém somente análise estatística, levando em consideração os fatores interferentes, permitiria afirmá-lo. Se fôr real tal diferença de eficiência, condicionada neste caso ao grau de contaminação, ela poderá corresponder realmente à idade e não à intensidade desse fator, dada a fonte praticamente única de contaminação existente na Praia Grande. Possivelmente estaria em jôgo a relação número de organismos esporulados sobre número de coliformes. Poder-se-ia, também, imaginar algum efeito relativo à idade dos coliformes. Os organismos dos locais mais afastados da fonte de contaminação, que se mostraram mais resistentes à água do mar, talvez se adaptassem melhor ao crescimento no caldo triptose-lauril.

CONCLUSÕES

a) Na determinação da densidade dos organismos coliformes nas águas das praias de Santos, São Vicente e Praia Grande, o emprêgo, na prova de presunção, do caldo triptose-lauril — que, no exame de águas doces, comparado com o caldo lactosado, tem se revelado grandemente vantajoso, pela diminuição de provas presuntivas falsas e pelo aumento do número de provas confirmadas — não demonstrou, em média, vantagem alguma.

QUADRO VII — Comparação entre o caldo triptose-lauril e o caldo lactosado na pesquisa de coliformes em amostras d'água das praias de Santos, São Vicente e Praia Grande. Médias geométricas dos N.M.P. por 100 ml, e índices correspondentes*, obtidos nas provas de presunção e confirmação, segundo o tempo de incubação da prova de presunção e o grupo de locais de amostragem.

PRAIA	Local de amostragem	PROVA DE PRESUNÇÃO POSITIVA				PROVA DE CONFIRMAÇÃO POSITIVA			
		Até 24 horas (1)		Até 48 horas (2)		A partir de (1)		A partir de (2)	
		caldo lactosado	caldo triptose-lauril	caldo lactosado	caldo triptose-lauril	caldo lactosado	caldo triptose-lauril	caldo lactosado	caldo triptose-lauril
Santos	Todos S1 a S6	880	750	1 430	1 170	490	470	590	560
		149	127	242	198	83	80	100	95
São Vicente	Todos V1 a V7	510	350	1 030	620	270	240	390	290
		131	90	264	159	69	62	100	74
Praia Grande	G1 a G5	1 320	580	1 510	1 060	760	540	870	630
		152	67	174	122	87	62	100	72
Praia Grande	G6 a G10	74	50	160	163	37	32	47	39
		157	105	340	317	79	68	100	83
Praia Grande	Todos	320	170	500	420	170	140	210	160
		132	81	238	200	81	67	100	76

* — Os números índices acham-se em negrito. O valor 100 foi atribuído as médias geométricas dos N.M.P. obtidos na confirmação das provas presuntivas positivas em caldo lactosado, na incubação até 48 horas.

b) A realização das provas de presunção em caldo triptose-lauril trouxe, realmente, diminuição do número de porções confirmadas. Examinando os resultados através do processo do “número mais provável”, as diferenças para menos, relativamente ao que foi obtido pelo uso do caldo lactosado, mais se acentuaram. Sòmente pesquisas semelhantes em outras águas marítimas poderiam revelar se êste resultado é normal no exame da água de mar ou se é peculiar às águas examinadas.

c) A eficiência do caldo triptose-lauril parece sofrer a influência do grau, ou, possivelmente, da idade da contaminação. Isto é visível ao se examinarem, separadamente, os resultados referentes à primeira e à segunda metade da extensão investigada da Praia Grande. Na série de resultados obtidos, a inferioridade do caldo triptose-lauril foi mais acentuada nas águas dos cinco quilômetros próximos à origem da contaminação do que naquelas dos cinco quilômetros seguintes.

RESUMO

O emprêgo do caldo triptose-lauril na prova de presunção da pesquisa de coliformes nas águas, tem se demonstrado grandemente vantajoso, por ocasionar a evidencição de maior número de porções confirmadas e pela economia de tempo e de material que proporciona aos laboratórios de contrôle da potabilidade e balneabilidade de águas, graças à redução do número de provas presuntivas falsas. Êste efeito se deve à propriedade que tem êsse meio de restringir o crescimento de bactérias esporuladas. *A priori*, devido à pronunciada ação bactericida da água do mar e à resistência maior dos esporos, seria admissível que o uso do caldo triptose-lauril no exame das águas marítimas demonstrasse vantagem ainda maior que a evidenciada no exame das águas doces. Por isso, foi comparada sua eficiência com a do caldo lactosado no exame das águas das praias dos municípios de Santos e São Vicente.

Os exames de tôdas as amostras em cada meio foram feitos em duplicata. Foram examinadas, pela inoculação simultânea em ambos os meios, 104 amostras, 36 da praia de Santos, 28 das praias de São Vicente e 40 da Praia Grande. De tôdas, foram inoculadas em cada ensaio presuntivo, 3 porções de cada uma de 4 “diluições”. Examinaram-se, portanto, 2.496 porções em cada meio. Os resultados presuntivos positivos (em número de 3.002) foram verificados através da prova de confirmação, realizada em caldo bile-lactose-verde-brilhante. A técnica utilizada obedeceu aos métodos padrões da Associação Americana de Saúde Pública.

Os três primeiros quadros apresentam os números de porções positivas obtidas nas provas de presunção e de confirmação. Comparado com o caldo lactosado, o caldo triptose-lauril forneceu 7,6 e 4,9% menos de porções positivas na prova de presunção, lida às 24 e às 48 h de incubação, respectivamente; porém o número de porções confirmadas também foi menor, menos 3,6 e 3,8%, partindo-se, respectivamente, das provas presuntivamente positivas às 24 e às

48 h. Resultados semelhantes foram observados considerando-se separadamente as águas das praias de Santos, São Vicente e Praia Grande.

Analisados os dados pelo total de porções confirmadas — método que tem sido o usual em estudos desta natureza — pareceria justificável concluir-se pelo emprêgo facultativo de qualquer dos dois meios estudados, pois as diferenças, principalmente em Santos, são muito pequenas. Como êsse critério, quando se examina mais de uma “diluição” de cada amostra, está sujeito a êrro tendente a equalizar diferenças, os resultados foram também comparados em termos dos “números mais prováveis”, N.M.P., correspondentes ao exame de cada sub-amostra.

Os quadros IV, V e VI, respectivamente, apresentaram os N.M.P., por 100 ml, obtidos no exame das águas das praias de Santos, São Vicente e Praia Grande. No quadro VII é apresentada a média geométrica de cada uma dessas séries, achando-se a série da Praia Grande classificada em dois grupos, o da primeira e o da segunda metade da extensão investigada. Através dos N.M.P., as diferenças observadas entre os dois meios de presunção mostraram-se maiores que aquelas verificadas pelos totais de porções positivas.

Pode-se concluir que: a) nas águas examinadas, o emprêgo do caldo triptose-lauril não demonstrou, em média, vantagem alguma; b) trouxe, mesmo, diminuição do número de porções confirmadas; examinando-se os resultados através do processo do N.M.P., a inferioridade do caldo triptose-lauril se acenuou; c) a eficiência dêste meio presuntivo, no exame destas águas, parece sofrer a influência de grau ou, possivelmente, da idade da contaminação, porquanto sua inferioridade foi mais acentuada nas águas dos 5 quilômetros da Praia Grande próximos ao ponto onde os esgotos das cidades de Santos e São Vicente eram lançados *in natura* do que nas águas dos 5 quilômetros seguintes.

Somente pesquisas semelhantes em outras águas marítimas poderão revelar se a inferioridade do caldo triptose-lauril, aqui indicada, é normal nos exames de água de mar ou se é peculiar às águas examinadas.

SUMMARY

The use of lauryl-tryptose broth in the presumptive test of the bacteriological examination of water has been found to increase the number of coliform isolations. By reducing the number of false positives it affords also appreciable savings in time and material to the laboratories concerned with the control of the sanitary quality of water for drinking purposes. Since that culture medium inhibits the growth of spore-bearing bacteria, which in sea water are likely to survive to a greater extent than coliforms, one would expect that in the examination of sea water the medium should present a more pronounced advantage than for fresh water. In the present work, the efficiency of lauryl-tryptose broth was compared with that of lactose broth in the examination of water from Santos, São Vicente and Praia Grande beaches.

Duplicate tests were made with 104 samples (36 from Santos, 28 from São Vicente and 40 from Praia Grande) in both media. In each test 3 portions were inoculated for each of 4 dilutions, making up a total of 2,496 plantings in each medium. Whenever the presumptive tests were positive, their confirmation was sought in new tests performed in brilliant-green-lactose-bile broth. All techniques were followed according to the standard methods of the A.P.H.A.

In the presumptive tests, lauryl-tryptose broth gave 7.6 and 4.9 per cent less positive portions than lactose broth, after 24 and 48 h, respectively. In the confirmed tests, however, the number of positive portions was also smaller for lauryl-tryptose broth than for lactose broth, 3.6 and 3.8 per cent less portions being confirmed for 24 and 48 h positive presumptive tests, respectively. Analogous results are observed when the data corresponding to Santos, São Vicente and Praia Grande are considered separately.

The results obtained with the two culture media were also compared in terms of the "most probable numbers", as summarized in table VII, in which the geometric means of the MPN values are presented separately for the presumptive and confirmed tests of the Santos, São Vicente and Praia Grande beaches. In that table, data for Praia Grande are also presented in two groups of sampling points, G1 to G5 and G6 to G10.

It can be concluded that: (a) in the water of the beaches studied, the use of lauryl-tryptose broth did not show any advantage over that of lactose broth; (b) the number of confirmed portions was smaller for lauryl tryptose broth, a disadvantage in relation to lactose broth that appeared to be accentuated when the results are analysed by the "most probable numbers"; (c) the efficiency of lauryl-tryptose broth as a presumptive medium in the examination of these waters might be influenced by the degree or possibly the age of contamination, since the inferiority of this medium seemed intensified for the sections (G1 to G5) of Praia Grande nearest to the sewage outfall from the cities of Santos and São Vicente.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Christovão, D. de A.; Azevedo Netto, J. M. & Jezler, H.: Investigação da contaminação das praias de Santos e São Vicente. *Arq. Fac. Hig. Saúde Públi.*, **8**:167-188, 1954.
2. Cows, P. B.: A modified lactose broth for use in presumptive tests. *J. A. W. W. A.*, **31**:979-982, 1938.
3. Darby, C. W. & Mallmann, W. L.: Studies on media for coliform organisms. *J. A. W. A.*, **31**:689-693, 1939.
4. Decreto n. 24.806, de 25-7-1955: Regulamenta as leis ns. 2.182, de 23-7-1953 e 3.068, de 14-7-1955. (*in* Coleção de leis e Decretos do Estado de S. Paulo, **65**:184-191, 3.º trim. 1955).
5. Eisenhart, C & Wilson, P. W.: Statistical methods and control in bacteriology. *Bact. Rev.*, **7**:57-13, 1943.

6. Fertig, J. W. & Heller, A. N.: The application of statistical techniques to sewage treatment processes. *Biometrics*, **6**:127-135, 1950.
7. Finney, D. J.: The estimation of bacterial densities from dilution series. *J. Hyg. (Lond.)* **49**:26-35, 1951.
8. Fisher, R. A.: cit. in Swaroop.
9. Fisher, R. A. & Yates, F.: Statistical tables for biological, agricultural and medical research. 4th ed. Edinburg, 1953.
10. Glossary: water and sewage control engineering [edited by] APHA, ASCE, AWWA & FSIWA. s.L., s.d.
11. Greenwood, M. Jr & Yule, G. U.: On the statistical interpretation of some bacteriological methods employed in water analysis. *J. Hyg. (Lond.)* **16**:36-54, 1917.
12. Hajna, A. A. & Perry, C. A.: Comparative study of presumptive and confirmative media for bacteria of the coliform group and for fecal streptococci. *Am. J. publ. Hlth*, **33**:550-556, 1943.
13. Halverson, H. O. & Ziegler, N. R.: Application of statistics to problems in bacteriology. *J. Bact.*, **25**:101-121, 1933.
14. Hoskins, J. K.: The most probable numbers of *B. coli* in water analysis. *J. A. W. W. A.*, **25**:867-877, 1933.
15. —: Most probable numbers for evaluation of coli-aerogenes tests by fermentation tube methods. *Publ. Hlth Rep.*, **49**:393-405, 1934.
16. Mallmann, W. L. & Darby, C. W.: Uses of a lauryl sulfate tryptose broth for the detection of coliform organisms. *Amer. J. publ. Hlth*, **31**:127-134, 1941.
17. Mc Crady, M. H.: cit. in Swaroop.
18. — A practical study of lauryl sulfate tryptose broth for detection of the presence of coliform organisms in water. *Amer. J. publ. Hlth*, **33**:1199-1207, 1943.
19. Reed, L. J.: *B. Coli* densities as determined from various types of samples. *Publ. Hlth Rep.*, **40**:704-716, 1925.
20. Standard methods for the examination of water, sewage, and industrial wastes; prepared and published jointly by American Public Health Ass., American Water Works Ass., Federation of Sewage & Industrial Wastes Ass. 10th ed. New York, 1955.
21. Swaroop, S.: The range of variation of the most probable number of organisms estimated by the dilution method. *Ind. J. med. Res.*, **39**:107-134, 1951.
22. — Estimation of bacterial density of water samples. Methods of attaining international comparability. *Bull. Wild. Hlth Org.*, **14**:1089-1107, 1956.
23. Woodward, R. L.: How probable is the most probable number? *J. A. W. W. A.*, **49**:1060-1068, 1957.