Análise microbiológica de areias de praças públicas da cidade de Palmas (PR)

Microbiological analysis of sands in public squares of the city of Palmas (PR)

Rodrigo Hinojosa Valdez^{1(*)} Pamela Piceti Grosbelli¹

Resumo

O uso de areias em praças públicas para o entretenimento é uma prática comum e é principalmente realizada por crianças e adolescentes. Mas se esta areia não estiver em condições adequadas para sua utilização, pode trazer riscos à saúde humana. O objetivo deste trabalho foi verificar a ocorrência de coliformes em areias de recreação localizadas em praças públicas, na cidade de Palmas, Paraná. O experimento foi realizado com areias de seis praças públicas. As amostras foram processadas no laboratório de Microbiologia do Instituto Federal do Paraná, durante setembro a novembro de 2011. O método adotado para a pesquisa foi o de Tubos Múltiplos e os resultados obtidos foram analisados e comparados com a Tabela do Número Mais Provável. Apenas a areia da praça localizada entre a Rua Pedro Cordes e a Rua Cacique Conda, no Bairro Lagoão, não apresentou contaminação por coliformes termotolerantes e totais. O local que teve um maior índice de contaminação por coliformes termotolerantes foi à praça localizada na Rua Capitão Paulo Araújo, com a Rua Sete de Setembro no Bairro Santa Cruz. Já a praça localizada no Parque da Gruta apresentou a maior contaminação para coliformes totais. O restante apresentou pelo menos contaminação por um dos grupos de coliformes. De modo geral, apenas uma praça está apta para sua utilização, às demais estão impróprias e merecem uma atenção maior pelas autoridades para melhorar sua qualidade higiênico-sanitária. Torna-se ainda necessário estabelecer uma efetiva legislação de qualidade sanitária para areias de recreação, para que o controle delas seja realizado rotineiramente.

Palavras-chave: coliformes; areias; tubos múltiplos.

I Dr.; Farmaceutico Bioquímico; Professor do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Paraná, IFPR; Endereço: PR 280, s/n, Trevo CODAPAR, CEP: 85555-000, Palmas, Paraná, Brasil; E-mail: rodrigo. valdez@ifpr.edu.br (*) Autor para correspondência, pamelagrobelli@hotmail.com

Abstract

Playing on sand playgrounds in public areas is an activity that is commonly performed by children and adolescents. Therefore, recreational sand in inadequate conditions is risky to human health. The aim of this study was to verify the occurrence of coliforms in sand playgrounds in public squares located in the city of Palmas, Paraná. The experiment was conducted in six public squares. The samples were processed in the laboratory of Microbiology at Federal Institute of Paraná, during September and November 2011. The multitube method was adopted for the research, and the results were analyzed and compared through the Table of the Most Probable Number. Only the square located between Pedro Cordes and Cacique Conda streets in Lagoão District showed no contamination by total and thermotolerant coliforms. The site that presented a higher rate of faecal coliform contamination was the Plaza located between Capitão Paulo Araújo and Sete de Setembro streets, at the District of Santa Cruz. The square located at Parque da Gruta presented the highest level of contamination by coliforms. The other places showed at least one point of contamination by one of the coliform groups. In general terms, only one square was appropriate for use. It is necessary more attention from the authorities to improve the sanitary and hygienic conditions of the rest of the squares, which are inadequate to use. It is also necessary to establish an effective health quality legislation concerning sands for playgrounds, in order to ensure routine control over their conditions.

Key words: coliforms; sands; multiple tubes.

Introdução

A relação entre o homem e animal vai muito além, do convívio familiar. Os animais também frequentam lugares destinados a população humana, como o caso de praças públicas, onde há principalmente a presença de crianças. Por defecarem nestes locais, os animais são uma das principais fontes de contaminação microbiológica (VAZ et al., 2005; CAVALCANTE et al., 2010).

A presença desses animais, a poluição trazida pela água das chuvas, secreções do corpo de crianças e adultos, lixos jogados em locais impróprios e o retardamento da substituição dessas areias por órgãos públicos têm sido responsáveis por um número significativo de doenças por contato direto, como por exemplo: micoses, verminoses, gastroenterites, diarréias, vômitos, dores

abdominais, e outras manifestações clínicas (YAMANE, 2007).

Entre os bioindicadores microbiológicos mais conhecidos, destacam-se os coliformes totais e os coliformes termotolerantes, micro-organismos estes que serão avaliados e quantificados no presente estudo.

Segundo Geus e Lima (2006), a designação para coliformes totais inclui as bactérias na forma de bastonetes Gramnegativos, não esporogênicos, aeróbios ou anaeróbios facultativos, capazes de fermentar a lactose com produção de gás, em 24 a 48 horas a 35°C. O grupo inclui os seguintes gêneros: Escherichia sp., Citrobacter sp., Enterobacter sp., Klebsiella sp., Pseudomonas sp.

A denominação para coliformes fecais era utilizada para descrever coliformes que tem a capacidade de fermentar a lactose com produção de gás a 44,5°C. *Escherichia coli*,

Klebsiella sp. e Enterobacter sp., apresentam esta característica de termotolêrancia. O Ministério da Saúde, pela Resolução nº 12, de 2 de janeiro de 2001, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária adotou a denominação de coliformes fecais para coliformes a 45°C, considerando os padrões "coliformes de origem fecal" e "coliformes termotolerantes" (SILVA et al., 2006). O principal componente desse subgrupo é a Escherichia coli (CONAMA, 274/00).

As bactérias do grupo de coliformes termotolerantes têm um parâmetro de confiabilidade maior com relação aos coliformes totais, pois essas bactérias são de origem fecal e não se multiplicam com facilidade no ambiente externo, apresentando um período de sobrevivência similar ao das bactérias patogênicas. Enquanto isso, as bactérias de coliformes totais podem ser encontradas no solo, vegetais e água, ou seja, não são necessariamente encontradas somente em fezes (CARDOSO, 2008).

De maneira geral, os coliformes termotolerantes estão presentes em grande número no trato intestinal de humanos e outros animais de sangue quente, por serem eliminadas em grande quantidade pelas fezes e constituem o indicador de contaminação fecal mais utilizado no mundo, sendo empregadas como parâmetro bacteriológico básico, pois, apesar de a maioria não ser patogênica, sua presença indica que o local foi contaminado, podendo assim outros patógenos estar presentes, causando transmissão de doenças para humanos (YAMANE, 2007).

As enterobactérias são um dos principais agentes de infecções intestinais, têm forma de bastões curtos que podem formar cadeias (YAMANE, 2007). Na figura 1, podemos encontrar um diagrama representativo dos agrupamentos do grupo coliforme.

As infecções causadas por coliformes podem ser intestinais ou extra-intestinais, que podem ser localizadas ou sistêmicas. As infecções localizadas mais freqüentes são as das vias urinárias, dos pulmões, do sistema nervoso central, da pele e do tecido celular subcutâneo. Tanto as infecções intestinais como as extra-intestinais podem permanecer localizadas ou se transformarem em infecções sistêmicas. As bacteremias são muito frequentes devido às enterobactérias presentes nos intestinos translocarem-se para a corrente sanguínea (TRABULSI et al., 2005; YAMANE, 2007).

A bactéria *E. coli* pertence à família Enterobacteriaceae é reconhecida como a enterobactéria mais frequentemente isolada em animais e humanos, e também é o indicador mais importante de contaminação fecal. Apresenta-se na forma de bacilos Gramnegativos, encontrada na microbiota normal do intestino de animais e humanos. Cresce em meio complexo a 44-45°C, fermenta a lactose e manitol com produção de ácido e gás, e produz indol a partir do aminoácido triptofano. Dependendo da linhagem, elas podem ser patogênicas. Nos animais, pode induzir a quadros de gastroenterites e outras afecções como mastite, diarreia, nefrite, cistite, artrite, entre outros (ANDRAUS, 2006; FERNANDES, 2010).

Em humanos, este grupo pode acarretar quadros de distúrbios intestinais graves, infecções urinárias, meningites em recém-nascidos e septicemias. Essa bactéria coloniza o intestino dos seres humanos dentro de horas após o nascimento e é considerado um organismo da flora normal, mas existem cepas que podem ser patogênicas e causar danos à saúde do hospedeiro, pois certas linhagens produzem enterotoxinas que determinam essa patogenicidade da

doença (RODRIGUEZ-ANGELES, 2002; ANDRAUS, 2006; FERNANDES, 2010).

Embora não exista uma legislação específica no Brasil que determine um limite de contaminação para areias, a resolução nº 274 CONAMA (2000) em seu Art. 8º recomenda aos órgãos ambientais a avaliação das condições parasitológicas e microbiológicas da areia, para futuras padronizações. O projeto de lei original nº 2.297, de 2003, retomado em 2009, dispõe sobre a obrigatoriedade de tratamento e

assepsia de areia contida em tanques de lazer e recreação, existentes em áreas públicas e privadas (BRASIL, 2009). Como não são disponíveis padrões ou valores limites estabelecidos pela legislação para areias, o que se tem usado atualmente são valores propostos por pesquisadores portugueses, no *Guideline for Microbiological Quality of Sands* (MENDES et al., 1993; VAZ et al., 2005), cujos valores são mostrados na tabela 1.

Outro padrão que se tem usado para o controle de coliformes em areias é o mesmo

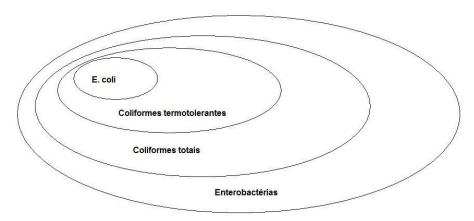


Figura 1. Diagrama representativo do grupo coliforme *Fonte:Yamane, 2007.*

Tabela I. Concentração máxima de microorganismos propostos por pesquisadores portugueses para areias secas de praias usando metodologia de membrana filtrante (MF) ou tubos múltiplos (NMP)/g de areia

Parâmetros	Valor Proposto pelo "Guideline for Microbiological Quality of Sands" (NMP/100g de areia)				
Coliformes totais	10^6				
Coliformes fecais	10^{5}				
Candida sp.	105				

utilizado para pesquisa de coliformes em águas e alimentos, a Técnica do Número Mais Provável (NMP) por mL, uma técnica clássica, rápida e de baixo custo. O NMP analisa o crescimento celular microbiano pela leitura da turvação do meio e determinação de produtos metabólicos no meio, como gases, ácidos e álcoois (RIBAS; CUNHA, 2009).

Os parques públicos da cidade de Palmas (PR) têm fundamental importância para o entretenimento e o desenvolvimento de atividades físicas por crianças e adultos (CAVALCANTE et al., 2010). E o estudo

investigativo que permite evidenciar a contaminação dessas areias por microorganismos que podem vir a causar doenças são a base para aplicação de ações de caráter preventivo. Por isso, o presente trabalho tem por objetivo a análise microbiológica de areias de praças públicas destinadas à recreação da cidade de Palmas (PR).

Material e Métodos

Locais de estudo e períodos da coleta

O município possui cerca de seis praças recreacionais públicas com caixas ou campo de areia. Foram selecionadas aleatoriamente seis praças consideradas de alta afluência de público. Cada local foi identificado por números (local 1, local 2, local 3 e local 4, local 5 e local 6).

Como a pesquisa de cada local foi realizada em duplicata, optou-se para, distinguir os locais, classificá-los por periferia (primeira amostra) e centro (segunda amostra).

- O local 1 escolhido foi a praça Parque Infantil Municipal, localizada na rua Bispo Dom Carlos, Bernardo Ribeiro Vianna com a João Gualberto, no centro da cidade.
- O local 2 foi a praça localizada entre a rua Nossa Senhora de Fátima, rua Doutor Antônio B. Ribas e rua Rutílio de Sá Ribas, no bairro Santuário.
- O local 3 foi a praça localizada na rua rio Sena, com a rua Vereador Bonifácio Batista Ribas, no bairro El Dourado.
- O local 4 encontra-se no Parque da Gruta, localizada na rua Professor Virgílio Ferreira.

- O local 5 encontra-se na rua Capitão Paulo Araújo, com a rua 7 de Setembro, no bairro Santa Cruz.
- O local 6 escolhido foi a praça localizada entre a rua Pedro Cordes, e a rua Cacique Conda, no bairro Lagoão.

O material das amostras de areias foi coletado no período de setembro a novembro de 2011.

Coleta do material

Para a coleta, utilizou-se em cada local dois frascos de vidros previamente esterilizados em autoclaves a temperatura de 121º por 15 minutos, foi coletado cerca de 250g de areia de dois pontos diferentes do mesmo local. As amostras foram acondicionadas isoladamente e transportadas até o IFPR-Instituto Federal do Paraná em uma caixa térmica com gelo reciclável. As amostras foram processadas no Laboratório de Microbiologia do Instituto Federal do Paraná, tendo sido pesados 25 gramas de cada amostra e adicionadas para 225 mL de água peptonada (Biobrás, Montes Claros) a 0,1% estéril e homogeneizadas manualmente por aproximadamente 20 minutos. Esta diluição corresponde a uma proporção de 1:10. A partir da diluição inicial, foram feitas as diluições seriadas 10-2 e 10⁻³ em água peptonada (Biobrás, Montes Claros) 0,1%. Essas diluições 10⁻¹, 10⁻² e 10⁻³ foram usadas para posterior procedimento microbiológico (CARDOSO et al., 2001).

Procedimento microbiológico

Para a determinação de coliformes totais e termotolerantes, usou-se a metodologia de tubos seriados. Partindo das diluições 10⁻¹, 10⁻² e 10⁻³ de cada

amostra, foi pipetado alíquotas de 1 mL das respectivas diluições para uma série de três tubos contendo 9 mL do Caldo Lauril triptose (Acumedia, Michigan) contendo tubo de Durham invertido, e incubados a 35°C por 24 a 48 horas. E após esse tempo foi verificada a presença de gás nos tubos de fermentação (tubos de Durham). Esse processo é denominado como Teste Presuntivo, pois nesta fase, acontece uma seleção inicial de micro-organismos que fermentam a lactose com produção de gás.

Para o Teste Confirmatório e Diferencial, foi retirada uma alçada de cada tubo que apresentou crescimento e produção de gás, e foi semeado em tubos contendo 10 mL de Caldo Lactosado Bile Verde Brilhantes-CLBVB (Acumedia, Michigan) em tubos contendo 10 mL de Caldo – E.C (Acumedia, Michigan), com tubos de Durham invertidos (CARDOSO et al., 2001; SILVA et al., 2006).

Os tubos contendo CLBVB (Acumedia, Michigan) foram incubados por 48 horas a 35°C, enquanto os tubos contendo E.C (Acumedia, Michigan) foram incubados por 24 a 48 horas a 45°C em banho maria. A formação de gás nos tubos contendo CLBVB (Acumedia, Michigan) indicou a presença de coliformes totais, e nos Caldos E.C (Acumedia, Michigan) os que formaram gás indicaram a presença de coliformes termotolerantes (SILVA et al., 2006).

A quantidade desses microrganismos é expressa pelo Número Mais Provável (NMP) que indica o grau de contaminação e consequentemente o risco quanto à presença de micro-organismos patogênicos. Os resultados obtidos foram analisados e comparados com a Tabela do NMP (Tabela 2), com intervalo de confiança em nível de 95% de probabilidade, segundo a *Bacteriological Analytical Manual*

Food And Drug Administration, 1984 apud (SILVA et al., 2001).

Resultados e discussão

Devido à escassez de estudos e normatizações sobre a análise de areias em praças de recreação e à inexistência, no Brasil, de parâmetros e índices estabelecidos pelos órgãos ambientais para o controle microbiológico de areias, optou-se por parâmetros utilizados pela Técnica do Número Mais Provável, utilizado no controle de contaminação da água e de alimentos.

A cidade de Palmas (PR) apresenta cerca de seis praças públicas principais, todas frequentadas por crianças em idade escolar, algumas em boas condições e outras com instalações precárias, ou seja, com lixo jogado nos locais, brinquedos com sinais de desgastes, ausências de telas de proteção e avisos de conscientização, assim sendo inevitável a entrada de animais nestes locais.

As praças analisadas localizam-se em diversos locais da cidade, como área central e região da periferia. De todas, apenas uma não apresentou nenhum tipo de contaminação por coliformes, a denominada local 6 (Figuras 2 e 3 e Tabela 2), apesar de estar localizada em um bairro periférico e de população mais humilde, a praça estava em boas condições, assim como a areia, e possuía placas com avisos do tipo: "Não permitido a entrada de animais" e "Proibido jogar lixo neste local". Também era cercada com tela de proteção, a qual estava em boas condições, o que ajuda no controle da entrada de animais. Dos demais locais, todos apresentaram contaminação por coliformes termotolerantes ou totais (Figuras 1 e 2 e Tabela 3).

O local 2 e o local 3 apresentaram contaminação apenas por um dos grupos de coliformes. No caso do local 2, por termotolerantes, e o local 3 por totais. Já

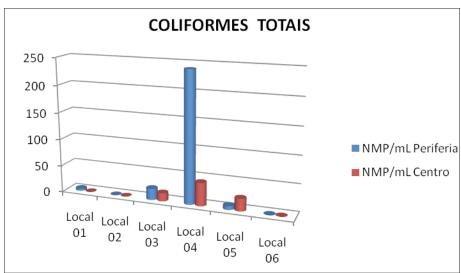


Figura 2. Número Mais Provável/mL de coliformes totais com intervalo de confiança em nível de 95% de probabilidade

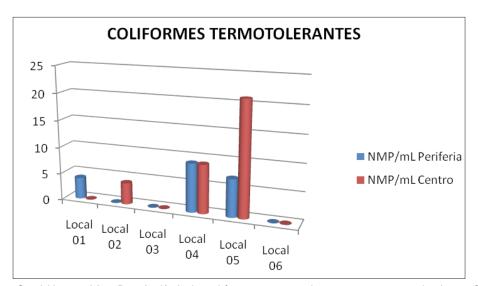


Figura 3. Número Mais Provável/mL de coliformes termotolerantes com intervalo de confiança em nível de 95% de probabilidade

os locais 1, 4 e 5 obtiveram contaminação por ambos, ficando com o maior índice de coliformes totais o local 4, e por termotolerantes o local 5 (Figuras 1 e 2 e Tabela 3).

Na tabela 2, podemos observar as combinações em séries de três tubos que foram utilizadas para chegar ao Número Mais Provável por mL, assim como os valores mínimos e máximos em um intervalo de confiança a nível de 95% de probabilidade.

Dentre os poucos estudos realizados sobre este tema, Andraus (2006) verificou os aspectos microbiológicos da qualidade de areias das praias de Matinhos, Caiobá e Guaratuba (PR), utilizando parâmetros microbiológicos

Tabela 2. Tabela do número mais provável por mL, conforme combinações de tubos, com o valor máximo e valor mínimo em um intervalo de confiança de 95% de probabilidade

Combinação Tubos	NMP/mL	Minímo	Máximo	Combinação Tubos	NMP/mL	Minímo	Máximo
0-0-0	<3	<0,5	<9	2-3-1	-	-	-
0-0-1	3	<0,5	9	3-0-0	23	4	120
0-1-0	3	<0,5	13	3-0-1	39	7	130
0-2-0	-	-	-	3-0-2	64	15	380
1-0-0	4	<0,5	20	3-1-0	43	7	210
1-0-1	7	1	21	3-1-1	75	14	230
1-1-0	7	1	23	3-1-2	120	30	380
1-1-1	11	3	36	3-2-0	93	15	380
1-2-0	11	3	36	3-2-1	150	30	440
2-0-0	9	1	36	3-2-2	210	35	470
2-0-1	14	3	37	3-3-0	240	36	1300
2-1-0	15	3	44	3-3-1	450	71	2400
2-1-1	20	7	89	3-3-2	1100	150	4800
2-2-0	21	4	47	3-3-3	≥2400	>1500	>4800
2-2-1	28	10	150				

Fonte: Bacteriological Analytical Manual Food And Drug Administration 1984 apud (SILVA et al., 2001) modificado

estabelecidos nas resoluções Conama 20/86 (índice máximo para coliformes totais 5000 NMP/100 mL) e resolução Conama 274/00 (índices máximos para coliformes termotolerantes 1000 NMP/100 mL) para a água, devido à ausência de parâmetros específicos para a areia. Se compararmos os resultados encontrados nesse trabalho com os valores descritos acima, podemos verificar que as únicas praças que excedem os limites permitido por estas resoluções, são os locais 4 e 5, como podemos observar nas figuras 4 e 5.

Os resultados obtidos pelo presente trabalho apresentaram-se abaixo das expectativas esperadas, pois a maioria dos locais onde foram coletadas as amostras encontrava-se em condições favoráveis para o desenvolvimento de coliformes. Um dos motivos para esses resultados pode ser a coleta em alguns locais ter sido realizada

em período de chuva, o que pode ter levado a mudanças no ambiente, fazendo com que ocorresse a retirada de sedimentos por correntes de água, e sobrepondo em outros locais, afetando a proliferação microbiológica do lugar (CALVACANTE et al., 2010). O número de coletas por local também pode ter influenciado esses resultados, pois se utilizou amostras de areia de dois pontos diferentes de cada praça, número esse que pode ter sido insuficiente para encontrar uma quantidade maior de coliformes na areia.

Um estudo feito por Vilela (2008) que demonstrou a ocorrência de larvas de *Ancylostoma* sp., em areias de praças públicas no município de Juiz de Fora (MG), justifica que os resultados obtidos foram influenciados pela amostragem, distribuição geográfica ou diminuição canina e felina no período da coleta, o que também pode ser justificado neste estudo.

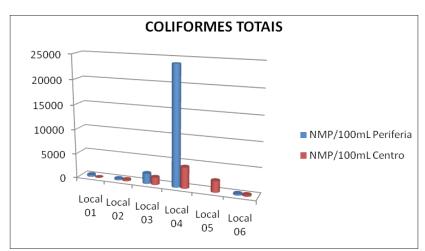


Figura 4. Comparação dos valores encontrados do NMP/mL com intervalo de confiança em nível de 95% de probabilidade, segundo a Bacteriological Analytical Manual: Food And Drug Administration, com os valores descritos pela Resolução Conama 20/86 (índice máximo para coliformes totais 5000 NMP/100 mL).

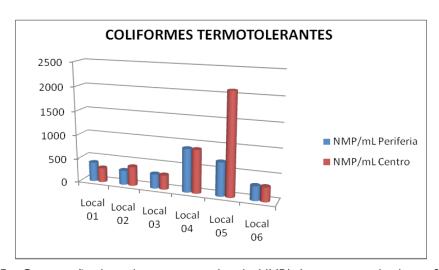


Figura 5. Comparação dos valores encontrados do NMP/mL com intervalo de confiança em nível de 95% de probabilidade, segundo a Bacteriological Analytical Manual: Food And Drug Administration, com os valores descritos pela Resolução Conama 274/00 (índice máximo para coliformes totais 1000 NMP/100 mL).

Tabela 3. Análise da ausência ou presença de coliformes totais e termotolerantes de todos os locais

	Local1	Local2	Local3	Local4	Local5	Local6
Coliformes termotolerantes	Presente	Presente	Ausente	Presente	Presente	Ausente
Coliformes totais	Presente	Ausente	Presente	Presente	Presente	Ausente

Como já descrito anteriormente, o único local que apresentou ausência de coliformes foi o local 6, os demais apresentaram a presença de pelo menos um dos grupos de coliformes, como nos mostra a tabela 3.

Contudo, por menor o índice, não significa que a praça não ofereça risco à saúde da comunidade. Por isso o controle microbiológico de areias deve ser feito rotineiramente, para que esses índices não evoluam e ofereça riscos à população, pois ainda a melhor solução é a prevenção. A conscientização também é um meio eficaz para a prevenção, para que a comunidade conheça os locais onde suas crianças estão brincando e exijam também o controle da qualidade da areia aos órgãos ambientais responsáveis.

Conclusões

Considerando como indicadores os coliformes totais e termotolerantes, podemos concluir que todas as praças analisadas, com exceção do local 6, apresentam alguma contaminação por estes.

Não importa a quantidade de coliformes encontrados, todas as praças que apresentam essas bactérias devem ganhar uma atenção das autoridades, pois estes micro-organismos podem ser ou se tornar

patogênicos ao indivíduo. Principalmente se o indivíduo em questão é criança, um grupo mais vulnerável do que os adultos em geral, e é o frequentador mais assíduo desses locais destinados à recreação, que quando em condições não adequadas, podem tornar-se um reservatório de bactérias.

Durante a realização desse trabalho observou-se que há pouquíssimos artigos encontrados sobre micro-organismos. Os existentes enfocam helmintos ou priorizam pesquisas em areias de praias, por isso, estudos como este, têm de ser feitos rotineiramente em municípios e do Brasil, para que seja possível controlar a presença dessas bactérias em areias, assegurando a qualidade das praças públicas e também para que estudos como estes possam servir de base para novas pesquisas.

Como não há nenhuma legislação para esse fim no Brasil, faz-se necessária a criação de uma efetiva legislação para estabelecer o controle sanitário e microbiológico destes locais.

Sugere-se o prolongamento deste estudo, para que os dados resultantes desta pesquisa fiquem mais completos.

Agradecimentos

Ao Programa PBIS/IFPR.

Referências

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA - ANVISA. Resolução - RDC, n. 12, de 2 de janeiro de 2001. Aprovar o Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial [da] União**, Brasília, DF. 10 jan. 2001.

ANDRAUS, S. Aspectos microbiológicos da qualidade sanitária das águas do mar e areias das praias de Matinhos, Caiobá e Guaratuba-PR. 2006. 102 f. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) – Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.

BRASIL. Projeto de Lei da Câmara nº 110. Diário do Senado Federal: Brasília, jun. 2009.

CALVACANTE, E. O.; SOUZA, A. H. P.; CAVALCANTE, C. C. S.; SERBINO, N. M. B.; SANTOS, M. G. Microbiologia de areias das praças públicas da cidade de Porto Velho, RO, Brasil. **Revista inter-texto**, Porto Velho, n.5, p. 1-11, 2010.

BRASIL. Resolução CONAMA n.20, de 18 de junho de 1986. Estabelece a Resolução CONAMA n.003, de 5 de julho de 1984. Diário **Oficial [da] União**, Brasília, DF, 30 jul. 1986.

CARDOSO, A. L. S. P.; TESSARI, E. N.C.; CASTRO, A. G. M.; KANASHIRO, A. M. I.; GAMA, N. M. S. Q. Pesquisa de coliformes totais e coliformes fecais analisados em ovos comerciais no laboratório de patologia avícula de decalvado. **Revista: Arquivos do Instituto Biológico,** São Paulo, v.68, n.1, p.19-22, 2001.

CARDOSO, C. L. Análise bacteriológica de água. In: CARDOSO, C. L. **Manual de aulas práticas**. Maringá, 2008. p. 86-87.

CONAMA. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução nº 274. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 29 nov. 2000.

FERNANDES, M. C. Indicadores de contaminação microbiológica e pesquisa de marcadores de virulência de enteropatógenos de animais domésticos, identificados no solo de parques e praças de recreação. 2010. 90 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária e Zootecnia) – Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2010.

GEUS, J. A. M; LIMA, I. A. ANÁLISE DE COLIFORMES TOTAIS E FECAIS: Um Comparativo entre técnicas oficiais VRBA e Petrifilm EC aplicados em uma indústria de carnes . In: ENCONTRO DE ENGENHARIA E TECNOLOGIA DOS CMPOS GERAIS, 14 a 15 de agosto., 2006, Ponta Grossa. **Anais...** Ponta Grossa: Utfpr, 2006. Disponivel em: http://www.pg.utfpr.edu.br/ppgep/anais/artigos/eng_tec_alimentos/12%20 ANALISE%20DE%20COLIFORMES%20TOT%20FECA%20UM%20COMPAR%20 TEC%20OFIC%20VRBA%20PE.pdf>. Acesso em: 9 out. 2011.

MENDES, B.; NASCIMENTO, M. J.; OLIVEIRA, J. S. Preliminary characterization and proposal of microbiological quality standard of sand beaches. Lisboa, **Water Science & Technology**, v. 27, n.3-4, p. 453-456, 1993.

RIBAS, M. M. F; CUNHA, M. E. Método de número mais provável para avaliação de grupos fisiológicos de microrganismos em digestão anaeróbia de água residuária de mandioca. **Ambiência**, Guarapuava, v. 5, n.3, p.401 – 417. set./dez., 2009.

RODRIGUEZ-ANGELES, G. Principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de Escherichia coli. **Salud Pública del México**, Cuernavaca, v.44, n.5, p. 464-475, 2002.

VALDEZ, R. H.; GROSBELLI, P. P. 843

- SILVA, M. P.; CAVALLI, D. R; OLIVEIRA, T. C. R. M. Avaliação do padrão coliformes a 45°C e comparação da eficiência das técnicas dos tubos múltiplos e Petrifilm EC na detecção de coliformes totais e Escherichia coli em alimentos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.26, n.2, p. 352-359, 2006.
- SILVA, N. da; JUNQUEIRA, V. C. A; SILVEIR, N. F. A. de. Manual de Análises Microbiológica de Alimentos. 2. ed. São Paulo: Varela, 2001.
- TRABULSI, L. R.; ORDOÑEZ, J. G.; MARTINEZ, M. B. Enterobacteriaceae. In: TRABULSI, L. R; ALTERTHUM, F.; GOMPERTZ, O. F.; CANDEIAS, J. A. N. **Microbiologia.** 4. ed. São Paulo: Atheneu, 2005 p. 269-276.
- VAZ, L. O.; SILVA, M. B.; RAMOS, A. D. GONÇALVES, R. F.; CASSINI, S. T. A. Consolidação dos dados sobre a qualidade sanitária de areias de contato primário em escolas e logradouros públicos da cidade de Vitória Espiríto Santo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, 23., 2008, Campo Grande. Anais... Campo Grande: Abes, 2005. p. 1-5.
- VILELA, F. M. P; SIMÕES, A. S; NOGUEIRA, L. O; OLIVEIRA, P. P. de. Ocorrência de larvas de Ancylostomasp na areia de áreas de lazer de praças públicas no município de Juiz de Fora, MG, Brasil. **HU Revista**, Juiz de Fora, v. 34, n. 2, p. 123-125, abr./jun., 2008.
- YAMANE, L. H. Avaliação da higienização do resíduo de caixa de areia de estações de esgoto. 2007. 148f. il. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2007.