



11º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2017  
02 a 04 de agosto de 2017 – Campinas, São Paulo  
ISBN 978-85-7029-141-7

## AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE ÁGUAS MINERAIS DE DIFERENTES MARCAS E VOLUMES COMERCIALIZADAS NO ESTADO DE SÃO PAULO

Natália Gonçalves **Keese**<sup>1</sup>, Silvia Andréia **Morelli**<sup>2</sup>, Fabiana Taminato **Imazaki**<sup>2</sup>, Margarete Midori **Okazaki**<sup>3</sup>, Beatriz Thie **Iamanaka**<sup>4</sup>

Nº 17204

**RESUMO** – O objetivo do presente estudo foi avaliar as condições microbiológicas de amostras de água mineral comercializadas no Estado de São Paulo, Brasil. De 11 marcas avaliadas, seis (54%) apresentaram pelo menos uma amostra em desacordo com a Resolução RDC nº 275/2005, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Noventa e cinco amostras foram analisadas de acordo com as metodologias oficiais para as determinações de bactérias do grupo coliformes totais, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, enterococos e clostrídios sulfito redutores. Considerando a legislação vigente, concluiu-se que, do ponto de vista microbiológico, nove amostras (9,5%) estavam impróprias para o consumo humano.

**Palavras-chaves:** água mineral, microbiologia, bactérias

**ABSTRACT** – The aim of the present study was to provide an overall evaluation of the microbiological conditions of bottled mineral water samples commercialized in the State of São Paulo, Brazil. Of the 11 brands evaluated, six (54%) had at least one sample which did not follow Resolution RDC no. 275/2005 of the National Agency of Sanitary Surveillance (ANVISA). Ninety-five samples were analyzed according to the official methodologies for bacterial determinations for

1 Autor, Bolsista CNPq (PIBIC): Graduação em Ciências Biomédicas, Metrocamp, Campinas-SP; naanat17@gmail.com.

2 Colaborador, Técnica do laboratório de microbiologia do Instituto de Tecnologia de Alimentos, Campinas-SP.

3 Co-orientador, Pesquisador do Instituto de Tecnologia de Alimentos, Campinas-SP.

4 Orientador: Pesquisador do Instituto de Tecnologia de Alimentos, Campinas-SP; beatriz@ital.sp.gov.br.



**11º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2017**  
**02 a 04 de agosto de 2017 – Campinas, São Paulo**  
**ISBN 978-85-7029-141-7**

*bacterial determinations of total coliforms, Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, enterococci and sulfite reducing clostridia. Considering the current legislation, it was concluded that, from a microbiological point of view, nine (9.5%) evaluated samples proved to be unfit for human consumption.*

**Keywords:** mineral water, microbiology, bacteria.

## **INTRODUÇÃO**

A água é essencial em todos os segmentos da vida, sendo considerada um recurso insubstituível. A sua oferta para abastecimento tem sido apontada como um dos grandes problemas do século XXI, uma vez que 95,1% da água do planeta é salgada, e dos 4,9% restantes, apenas 0,1% estão aptos para o consumo humano (PORTO *et al.*, 2011). Atualmente cerca de 1,2 bilhões de pessoas não dispõem de água apropriada para uso doméstico (VIEIRA *et al.*, 2011). Embora a qualidade da água tenha se tornado uma questão de interesse para a saúde pública a partir do final do século XIX (DANTAS *et al.*; 2010), ainda cerca de 80% de todas as doenças que acometem os países em desenvolvimento provêm de água de má qualidade (PORTO *et al.*, 2011).

As doenças de veiculação hídrica são causadas principalmente por micro-organismos patogênicos de origem entérica, animal ou humana, transmitidos basicamente pela rota fecal-oral, e compreendem uma gama variada de patologias gastrintestinais como: disenteria, salmonelose, shigelose, poliomielite, hepatite A, rotavíruses, verminoses, amebíase e giardíase, além das infecções epidêmicas clássicas como a cólera e a febre tifóide (GOMES *et al.*, 2008). Dentre as bactérias patogênicas possíveis de serem encontradas na água, destacam-se as dos gêneros: *Salmonella*, *Streptococcus*, *Shigella*, *Vibrio*, *Yersinia*, *Campylobacter*, *Escherichia* e *Pseudomonas* (VIEIRA *et al.*, 2011). A preocupação com a qualidade da água de rede pública e, principalmente, a busca do bem-estar proporcionado pelos sais minerais naturais provocou, nos últimos anos, uma contínua demanda por água mineral em todos os países (CASTRO *et al.*, 2010).

A água mineral ou potável de mesa é obtida diretamente de fontes naturais ou por extração de águas subterrâneas. Caracteriza-se pelo conteúdo definido e constante de sais minerais, oligoelementos e outros constituintes, considerando-se as flutuações naturais (ASSIRATI, 2014).

A indústria de água mineral está presente em todas as grandes regiões geográficas do mundo. De acordo com ASSIRATI (2014), o consumo mundial de água engarrafada em 2013 foi



**11º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2017**  
**02 a 04 de agosto de 2017 – Campinas, São Paulo**  
**ISBN 978-85-7029-141-7**

estimado em 266 bilhões de litros, 7% maior que em 2012. No Brasil, o consumo per capita de água mineral foi de 90,0 a 90,3 litros/ano no período de 2012- 2013.

O Brasil é um país privilegiado por possuir uma das maiores reservas de água doce do planeta e, especialmente, água subterrânea, fato que lhe confere um importante posicionamento geoestratégico mundial no mercado de água mineral (SEBRAE, 2016). Segundo ROSA *et al.* (2008), existem mais de 1300 nascentes naturais de água no território brasileiro, das quais são retiradas e comercializadas 180 marcas diferentes de água mineral (ROSA *et al.*, 2008).

O consumo nacional de água mineral envasada tornou-se popular somente na década de 80, em função da crescente preocupação da população com a saúde, decorrente da poluição progressiva das águas (COELHO *et al.*, 1998).

A Norma vigente no Brasil que estabelece os padrões microbiológicos para água mineral é a Resolução RDC nº 275 de 22 de setembro de 2005, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BRASIL, 2005b) que determina a ausência de *Pseudomonas aeruginosa*, enterococos, clostrídios sulfito redutores, coliformes totais e *Escherichia coli* em 100mL de água mineral e água natural.

As *Pseudomonas* são bactérias cuja principal característica é a extrema versatilidade metabólica e nutricional, que permite a utilização de uma enorme variedade de compostos orgânicos como fonte de carbono e energia. Em função dessa versatilidade, ocupam nichos ecológicos muito diversos, sendo amplamente distribuídas na natureza, na água e nos alimentos (SILVA *et al.*, 2017).

Os *Enterococcus* são bactérias lácticas Gram positivas, não esporogênicas, catalase e oxidase negativas. Anaeróbios facultativos, fermentam carboidratos produzindo predominantemente ácido láctico, sem produção de CO<sub>2</sub> (metabolismo homofermentativo). A morfologia é de cocos, que ocorrem predominantemente aos pares ou pequenas cadeias (SILVA *et al.*, 2017).

Clostrídios sulfito redutores, como diz o nome, são os clostrídios que reduzem o sulfito a sulfeto de hidrogênio (H<sub>2</sub>S) a 46°C. Na análise de água comumente é realizada a enumeração dos esporos de clostrídios sulfito redutores e *C. perfringens* (SILVA *et al.*, 2017).

As bactérias do grupo coliformes (coliformes totais) são formadas principalmente pelos gêneros: *Escherichia*, *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Serratia* e *Enterobacter*, e são consideradas os principais indicadores biológicos de contaminação de água de origem fecal (ALESSIO *et al.*, 2009). São caracterizadas como bacilos Gram negativos, anaeróbios facultativos, não formadores de esporos, oxidase negativos, fermentadores de lactose com produção de ácido e gás à 35-37°C/24-



**11º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2017**  
**02 a 04 de agosto de 2017 – Campinas, São Paulo**  
**ISBN 978-85-7029-141-7**

48h (FORTUNA *et al.*, 2007). Devido ao fato desses micro-organismos possuírem seu *habitat* no intestino de homens e animais, a sua presença indica a possibilidade da ocorrência de outros micro-organismos patogênicos relacionados a várias outras enfermidades gastrointestinais, bem como extra-intestinal, veiculadas por água contaminada (ALESSIO *et al.*, 2009).

A *Escherichia coli*, uma das bactérias mais estudadas em todo o mundo, é considerada o principal representante do grupo coliformes termotolerantes (subgrupo do grupo coliformes) e indicador específico de contaminação fecal (PONGELUPPE *et al.*, 2009). Pode ser isolada de diversas partes do corpo humano, e as linhagens patogênicas dessa espécie possibilitam a ocorrência de diversas patologias, como: pneumonia, meningite, infecções intestinais e diarreias moderadas a severas, podendo levar o indivíduo a óbito quando o tratamento não for eficaz (ALESSIO *et al.*, 2009). A *Escherichia coli* apresenta capacidade de fermentar a lactose e manitol, com produção de ácido e gás a 45°C em 24 horas. Produz indol a partir do triptofano, é oxidase negativa, não hidroliza a uréia e apresenta atividade das enzimas  $\beta$  galactosidase e  $\beta$  glucuronidase (PONGELUPPE *et al.*, 2009). Os métodos mais modernos diferenciam *E. coli* através da verificação da atividade da enzima  $\beta$ -glicuronidase, produzida por 96% das cepas, incluindo as anaerogênicas. Um dos substratos para verificar a atividade  $\beta$ -glicuronidase é o MUG (4-metilumbeliferil- $\beta$ -D-glicuronídeo), que quando é degradado pela  $\beta$ -glicuronidase, resulta em 4-metilumbeliferona, fluorescente sob luz UV. Outro é o BCIG (5-bromo-4-cloro-3-indolil- $\beta$ -D-glicuronídeo), também chamado de X- $\beta$ -D-Glicuronídeo, que quando é degradado pela enzima, forma um produto de reação azul (SILVA *et al.*, 2017).

## **MATERIAL E MÉTODOS**

Foram avaliadas amostras de água mineral natural não carbonatada de 11 marcas mais comercializadas no Estado de S. Paulo, envasadas em diferentes volumes e tipos de embalagem (200mL, 300mL, 500mL, 1,5L, 5L, 10L e 20L, totalizando 95 amostras. Cada amostra foi submetida à pesquisa (em 100mL) de bactérias do grupo coliformes totais, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, enterococos e clostrídios sulfito redutores, conforme estabelecido pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária, através da Resolução RDC nº 275 de 22 de setembro de 2005 (BRASIL, 2005b).

As determinações de coliformes totais e de *Escherichia coli* foram realizadas através da



**11º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2017**  
**02 a 04 de agosto de 2017 – Campinas, São Paulo**  
**ISBN 978-85-7029-141-7**

adição de um meio de cultura cromogênico e fluorogênico (COLILERT) nas amostras (100mL), seguida de incubação a  $35\pm 1^\circ\text{C}/24$  h. O desenvolvimento de cor amarela é confirmativa da presença de coliformes totais e a ocorrência de fluorescência azulada, sob lâmpada de luz ultravioleta (4 a 6w), ondas longas (366 nm), confirmativa da presença de *Escherichia coli*. A pesquisa de *Pseudomonas aeruginosa* foi realizada pelo método dos tubos múltiplos, com a adição de 10 porções de 10 mL da amostra de água em 10 tubos contendo 10 mL de Caldo Asparagina, em concentração dupla. Os tubos com crescimento e produção de um pigmento verde fluorescente sob luz ultravioleta (365 nm, luz negra) após  $35\text{-}37^\circ\text{C}/24\text{h-}48\text{h}$ , seguiram para teste confirmativo, através da transferência de 0,1mL do caldo asparagina contendo a amostra para o caldo acetamida, seguida de incubação a  $35\text{-}37^\circ\text{C}/24\text{-}36$  h. A alteração da cor deste meio de vermelho pálido para púrpura/magenta (“pink”) é característica confirmativa de *Pseudomonas aeruginosa*. Na determinação de enterococos foi utilizado o método cultural de filtração das amostras (100mL) com a transferência das membranas para uma placa com Ágar m-Enterococos. Membranas com colônias típicas (vermelhas, marrons ou róseas) desenvolvidas após  $36\pm 2^\circ\text{C}/44\pm 4\text{h}$  foram transferidas para uma placa de Bile Esculin Azide Agar (sem inverter) e incubadas a  $44\pm 1^\circ\text{C}/2\text{h}$ . Aquelas que apresentarem escurecimento do meio em seu redor (cor castanha a preta) devido à hidrólise da esculina são consideradas confirmativas como enterococos. A pesquisa de clostrídios sulfito redutores (em 100mL) foi realizada pelo método dos tubos múltiplos, com a adição de 10 porções de 10 mL da amostra de água (previamente submetida a choque térmico a  $75\pm 5^\circ\text{C}/15\text{min}$  para destruição de células vegetativas e ativação dos esporos) em 10 tubos contendo 10 mL de Caldo Diferencial Reforçado para Clostrídios (DRCM) desaerado, em concentração dupla. O escurecimento do meio após  $37\pm 1^\circ\text{C}/44\pm 4\text{h}$  de incubação é confirmativo para clostrídios sulfito redutores. Todos os ensaios microbiológicos foram realizados no laboratório de microbiologia do Instituto de Tecnologia de Alimentos (Campinas, SP), de acordo com as metodologias preconizadas pela AOAC 991.15 (2012) para a pesquisa de coliformes totais e *Escherichia coli* (em 100mL); HUNT (2012) para a pesquisa *Pseudomonas aeruginosa* (em 100mL); ISO 7899-2:2000 para a pesquisa de enterococos (em 100mL) e ISO 6461-1:1986 para a pesquisa de clostrídios sulfito redutores (em 100mL).

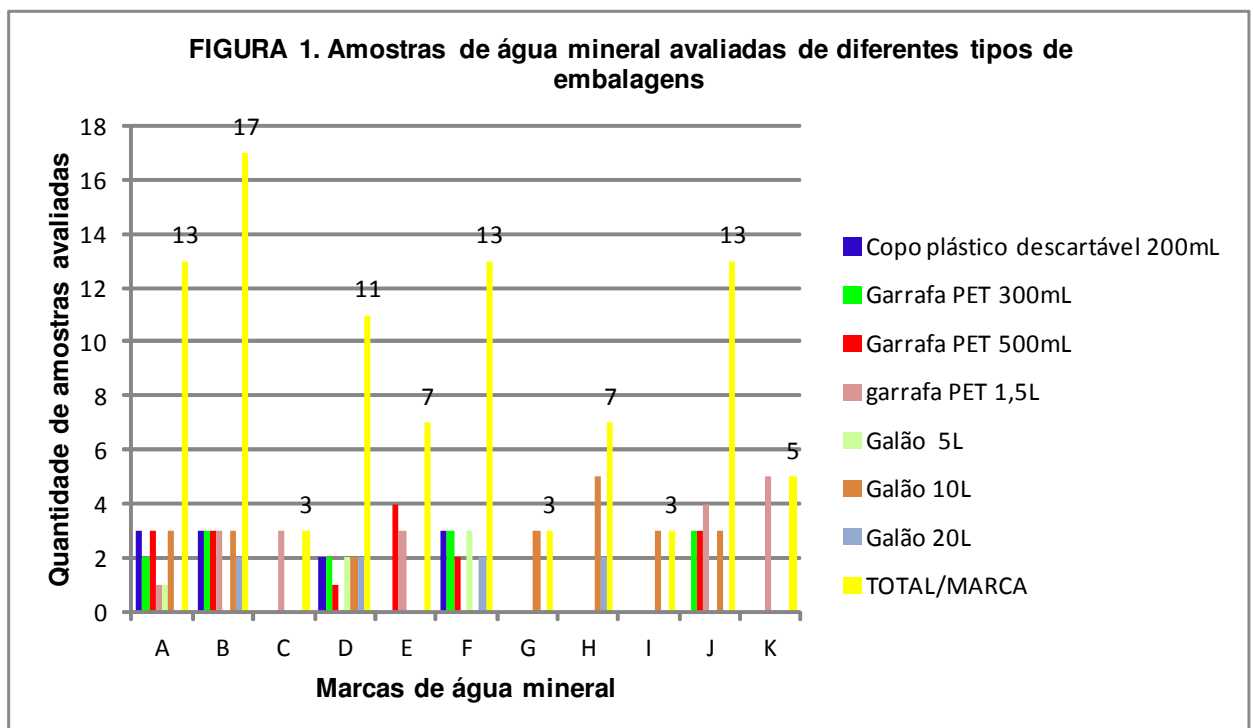
## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

As amostras de água mineral envasadas em diferentes tipos de embalagens (Figura 1) foram avaliadas dentro do prazo de validade (dois meses para água envasada nos galões de

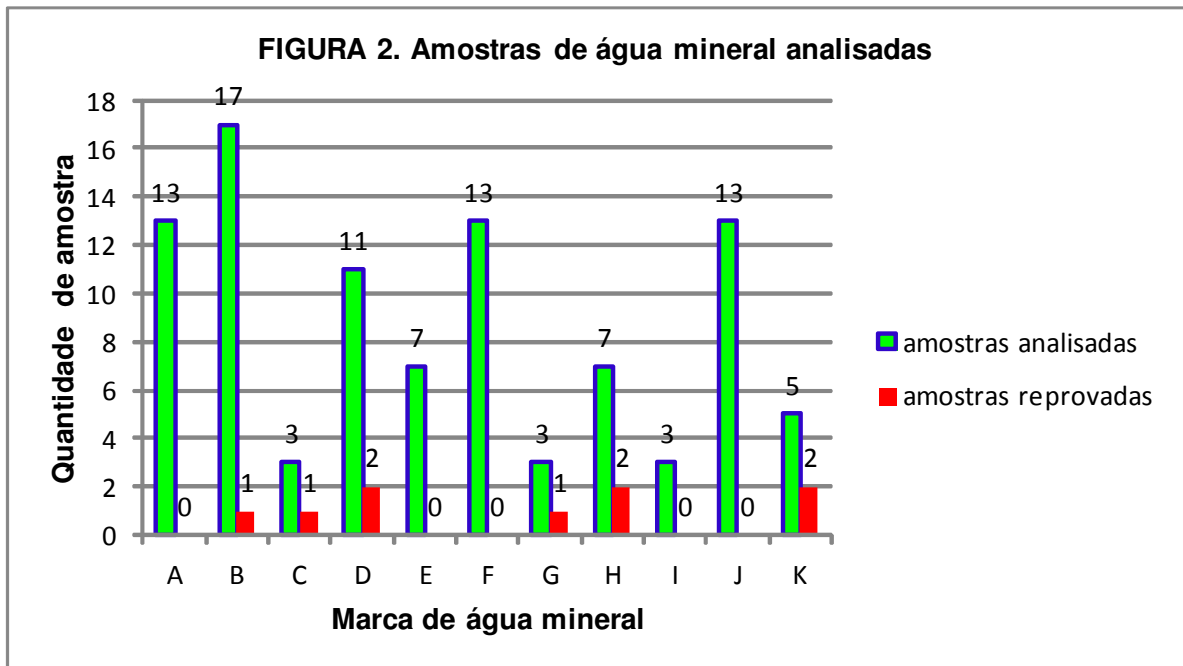


polipropileno retornáveis de 10 e de 20L, e 1 ano para aquelas envasadas em copos e garrafas descartáveis).

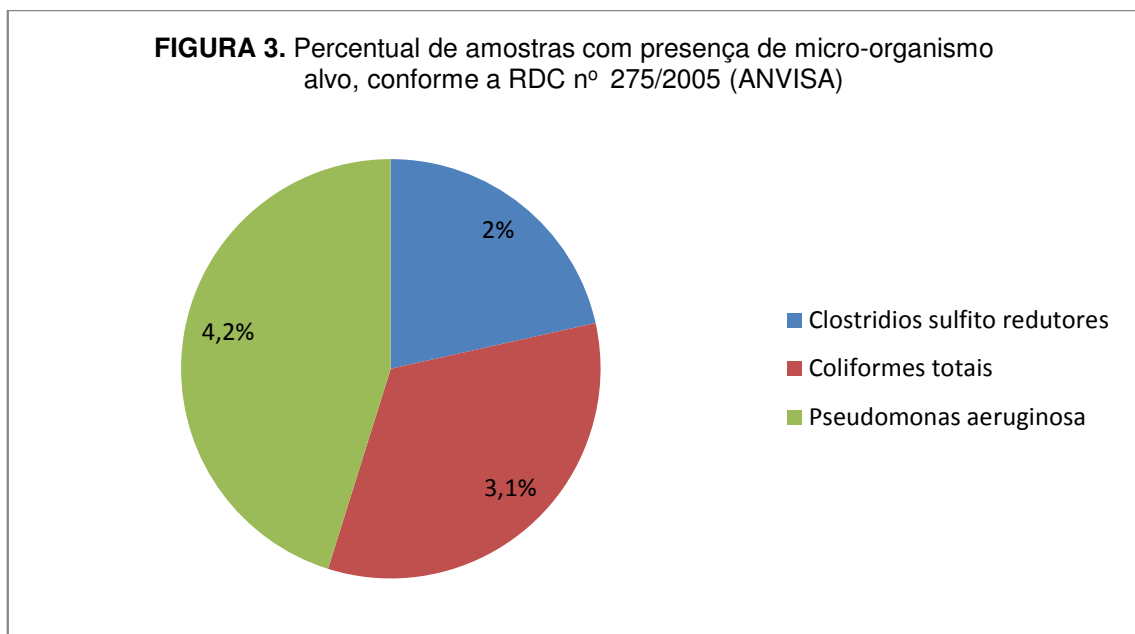
A Norma atual que estabelece os padrões microbiológicos para água mineral é a Resolução RDC nº 275 de 22 de setembro de 2005, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BRASIL, 2005b) que determina a ausência de *Pseudomonas aeruginosa*, enterococos, clostrídios sulfito redutores, coliformes totais e *Escherichia coli* em 100mL de água mineral e água natural.



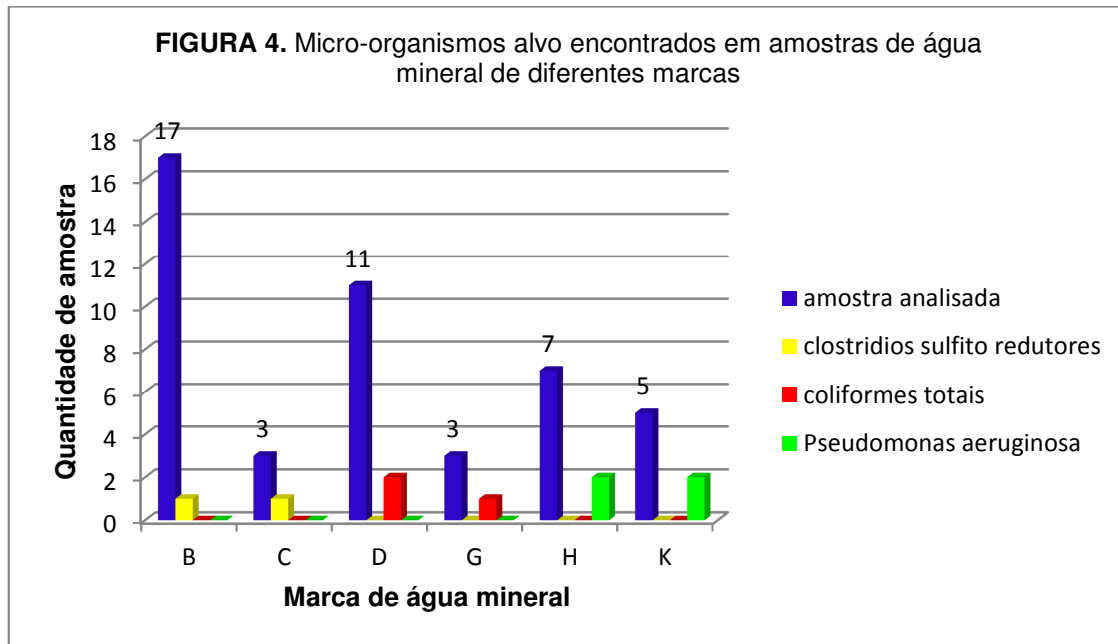
De acordo com os resultados obtidos no presente estudo (Figura 2), verificou-se que, de um total de 95 amostras analisadas, nove (9,5%) estavam em desacordo com os padrões estabelecidos pela legislação vigente.



Duas (2%) amostras apresentaram (em 100mL) clostrídios sulfito redutores e em três (3,1%) amostras foram evidenciadas bactérias do grupo coliformes totais (em 100mL) (Figura 3). A *Pseudomonas aeruginosa* foi detectada em 100mL de quatro (4,2%) amostras. A presença de enterococos (em 100mL) não foi evidenciada em nenhuma amostra analisada.



Dentre as 11 marcas de água mineral avaliadas, seis (54,5%) apresentaram pelo menos uma amostra em desacordo com os padrões microbiológicos estabelecidos pela Resolução RDC nº 275/2005, da ANVISA (Figura 4).



As marcas B e C apresentaram cada uma, 1 amostra contaminada por clostrídios sulfito redutores, em embalagens de 300mL (marca B) e 1,5L (marca C). Os relatos de pesquisa de clostrídios sulfito redutores em águas minerais são muito escassos, uma vez que poucos os autores realizaram esse tipo de trabalho. Diferentemente dos resultados obtidos no presente trabalho, SANT´ANA *et al.* (2003) não encontraram clostrídios sulfito redutores em nenhuma das 44 amostras de água mineral, de diferentes marcas comercializadas no município de Vassoura (RJ).

A presença das bactérias do grupo coliformes totais foi verificada em duas amostras de água mineral da marca D (galões de 5 e 20L) e em uma amostra da marca G (galão de 10L). Essas bactérias também foram confirmadas por ROSA *et al.* (2008), em sete (7%) amostras de água mineral (de um total de 100) comercializadas no município de Porto Alegre, RS. Resultado semelhante também foi obtido por Resende & Prado (2008) durante a avaliação do perfil microbiológico da água mineral comercializada no Distrito Federal. Nesse trabalho, os autores evidenciaram presença de coliformes totais em uma marca, no total de 10 avaliadas.





**11º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2017**  
**02 a 04 de agosto de 2017 – Campinas, São Paulo**  
**ISBN 978-85-7029-141-7**

Com relação à pesquisa de *Pseudomonas aeruginosa* neste presente trabalho, verificou-se que duas amostras de água mineral da marca H (galões de 10L e 20L) e mais duas outras da marca K (garrafas PET de 1,5L) estavam contaminadas por essa bactéria. Resultados semelhantes foram obtidos por SANTOS *et al.* (2012) ao avaliarem 15 amostras de água mineral comercializadas no município de Alfenas, MG. Nesse estudo os autores determinaram 3 amostras (20%) contaminadas por *Pseudomonas aeruginosa* e portanto, consideradas impróprias para o consumo humano. SABIONI & SILVA (2006) também evidenciaram a presença dessa bactéria em 14% de um total de 50 amostras de água mineral analisadas e comercializadas no município de Ouro Preto, corroborando portanto, na premissa de que nem sempre o consumo de água mineral natural representa uma segurança à saúde pública, visto que a *Pseudomonas aeruginosa* se multiplica em águas com poucos nutrientes, e é considerada uma bactéria oportunista sendo capaz de causar infecções em indivíduos imunocomprometidos.

## **CONCLUSÃO**

Os resultados obtidos no presente trabalho permitiram concluir que, de um total de 95 amostras de água mineral analisadas, 2,1%, 3,1% e 4,2% estavam respectivamente, contaminadas por clostrídios sulfito, coliformes totais e *Pseudomonas aeruginosa*.

A presença desses micro-organismos revelou a necessidade de aplicação efetiva das boas práticas nas indústrias de envasamento de água mineral, visando o atendimento aos padrões microbiológicos estabelecidos pela legislação vigente.

## **AGRADECIMENTOS**

Ao CNPq, pela bolsa PIBIC concedida.



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALESSIO, C. E.; PINTO, F. G. S.; MOURA, A. C. Avaliação Microbiológica das Águas das Principais Fontes de Praças e Parques de Cascavel, Paraná. **UNOPAR Científica. Ciências biológicas e da saúde**, v. 11, n. 2, p. 41-44, 2009.
2. AOAC Official Method 991.15 (Colilert In: LATIMER JR., G.W. (ed.), Official Methods of Analysis of AOAC International, 19th edition. Gaithersburg, Maryland: AOAC International, 2012. Chapter 17, p.41.
3. ASSIRATI, D.M. Sumário Mineral 2014. DNPM.
4. BRASIL, Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC N° 275, de 22 de setembro de 2005 (b). Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Água Mineral e Água Natural.
5. CASTRO, L.R.S.; CARVALHO, J.S.; VALE, V.L.C. Avaliação microbiológica de diferentes marcas de água mineral. *Revista Baiana de Saúde Pública*, v.34, n.4, p.835-844, 2010.
6. COELHO, D.L.; PIMENTEL, I.C.; BEUX, M.R. Uso do método do substrato cromogênico para quantificação do número mais provável de bactérias do grupo coliforme em águas minerais envasadas. *Boletim CEPPA, Curitiba*, v. 16, n. 1, p. 45-54, 1998.
7. DANTAS, A. K. D.; SOUZA, C.; FERREIRA, M. S.; ANDRADE, M. A.; ANDRADE, D.; WATANABE, E. Qualidade microbiológica da água de bebedouros destinada ao consumo humano. **Revista Biociências UNITAU**, v. 16, n. 2, p. 132-138, 2010.
8. FORTUNA, J. L.; RODRIGUES, M. T.; SOUZA, S. L.; SOUZA, L. Análise microbiológica da água dos bebedouros do campus da Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF): coliformes totais e termotolerantes. **Higiene Alimentar**, v. 21, n. 153, p.102-105, 2007
9. GOMES, I. S.; BASTOS, J.; LEITE, C. C. Perfil microbiológico de água de bebedouros de unidades de ensino da Universidade Federal da Bahia, campus Ondina. **Higiene Alimentar**, v. 22, n. 1, p.68-71, 2008.
10. HUNT, M.E. (ed.). Microbiological examination. In: RICE, E.W., BAIRD, R.B., EATON, A.D. & CLESCERI, L.S. (eds.). Standard Methods for the Examination of Water & Wastewater. 22<sup>nd</sup> edition. Washington, American Public Health Association (APHA), American Water Works Association (AWWA) & Water Environment Federation (WEF), 2012. Part 9000.



**11º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2017**  
**02 a 04 de agosto de 2017 – Campinas, São Paulo**  
**ISBN 978-85-7029-141-7**

11. ISO 6461-1. Water quality – Detection and enumeration of the spores of sulfite-reducing anaerobes (clostridia) – Part 1: Method by enrichment in liquid medium, 1<sup>st</sup> ed. International Organization for Standardization, 1986.
12. **ISO 7899-2:2000. Water quality - Detection and enumeration of intestinal enterococci - Part 2: Membrane filtration method.** International Organization for Standardization, 2000.
13. PONGELUPPE, A.T.; OLIVEIRA, D. B.; SILVA, E. A.; AGUILEIRA, K. K.; ZITEI, V.; BASTOS, M. F. Avaliação de coliformes totais, fecais em bebedouros localizados em uma instituição de ensino de Guarulhos. **Revista Saúde**, v. 3, n. 2, p. 5-9, 2009.
14. PORTO, M. A. L.; OLIVEIRA, A. M.; FAI, A. E. C.; STAMFORD, T. L. M. Coliformes em água de abastecimento de lojas *fast-food* da Região Metropolitana de Recife (PE, Brasil). **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 16, n. 5, p. 2653-2658, 2011.
15. RESENDE, A. & PRADO, C.N. Perfil microbiológico da água mineral comercializada no Distrito Federal. *Rev. Saúde e Biol.*, v.3, n.2, p.16-22, jul-dez 2008.
16. ROSA, S.P.; SILVA, S.R.P.; MANN, M.B.; CORÇÃO, G. Avaliação da presença de coliformes totais e fecais em amostras de água mineral comercializadas em Porto Alegre, RS. *Higiene Alimentar*, v. 22, p.94-99, 2008.
17. SABIONI, J.G. & SILVA, I.T. Qualidade microbiológica de águas minerais comercializadas em Ouro Preto, MG. *Higiene Alimentar*, v. 20, n.143, p.72-78, 2006.
18. SANT´ANA, A.S.; SILVA, S.C.F.L.; FARANI, I.O.J.; AMARAL, C.H.R.; MACEDO, V.F. Qualidade microbiológica de águas minerais. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v.23, p.190-194, 2003.
19. SANTOS, M.G.; ALVES, M.; VEIGA, S.M.O.M. Pesquisa de *Pseudomonas aeruginosa* em água mineral comercializada em Alfenas-MG. *Higiene Alimentar*, v. 26, n.210/211, p.97-99, 2012.
20. SEBRAE. PANORAMA DO MERCADO DE ÁGUA MINERAL. <http://www.sebraemercados.com.br/panorama-do-mercado-de-agua-mineral/> Acesso em 11/05/2016.
21. SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N. F.A.; TANIWAKI, M. H.; GOMES, R. A. R.; OKAZAKI, M.M. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água.** 5 ed. São Paulo: Blucher, 2017.
22. VIEIRA, J.M.M; LIMA, R.; RUFINO, L.R.A.; FIORINI, J.E.; OLIVEIRA, N. M.S. Análise microbiológica da água de bebedouros de escolas municipais da cidade de Alfenas. **Higiene Alimentar**, v. 25, n. 196/197, p.115-118, 2011.