

ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DA ÁGUA PARA VERIFICAÇÃO DA PRESENÇA DE COLIFORMES TOTAIS E *ESCHERICHIA COLI*

BAUMHARDT, Juliana Belles¹
julianabellesb@hotmail.com

D'avila, Leonardo Ritta¹
davila-leonardo@hotmail.com

GUL, Giovanna Budó¹
gbudogul@gmail.com

MUNHOZ, Adão Jesus Ruas¹
ruasmunhoz@gmail.com

ZANANDREA, Gustavo Calderam¹
gustavoczanandrea@hotmail.com

CORADINI, Marcia Goulart Lopes²
marciacoradini@uol.com.br

SANTOS, Amanda de Souza²
amandass_vet@hotmail.com

TOSCAN, Gustavo²
gugatoscan@hotmail.com

¹ Discentes do Curso Medicina Veterinária, Nível 3 2017/1- Faculdade IDEAU – Bagé/RS.

² Docentes do Curso Medicina Veterinária, Nível 3 2017/1 - Faculdade IDEAU – Bagé/RS.

RESUMO: A água quando não tratada corretamente se torna uma importante fonte de transmissão de doenças, principalmente as doenças que afetam o trato intestinal, sendo capaz de agir como meio de cultura para microrganismos patogênicos e assim causar doenças aqueles que a ingerem.

Com base nisto, o presente trabalho teve como objetivo analisar a presença de Coliformes Totais e *E. Coli* em diferentes amostras de água. A presença destes microrganismos foram analisada através da técnica de Placas de Petrifilm que é um dos métodos mais rápidos utilizados atualmente, com esta técnica podemos observar nas amostras de água se há ou não a presença da bactéria *E. coli* e Coliformes totais. Coliformes totais são os microrganismos mais abundantes e contaminantes ambientais, este grupo formados por um número de bactérias que inclui os gêneros: *Klebsiella*, *Escherichia*, *Serratia*, *Erwenia* e Enterobactéria. É um grupo de bactérias que habitam normalmente o intestino humano e de alguns animais.

Obteve-se resultado positivo para presença de Coliformes totais e *E.coli* em três das cinco amostras analisadas, sendo estes resultados superiores ao padrão de potabilidade de água disponibilizada pelo Ministério da saúde, sendo assim impróprias para consumo. Concluiu-se a eficácia da técnica das placas de petrifilm em relação a análise da presença de coliformes totais e *E. coli*. A técnica se mostrou rápida e de fácil reprodução.

Palavras-chave: Microrganismos, Contaminação, Petrifilm

ABSTRACT: Water when untreated correctly becomes an important source of disease transmission, especially diseases affecting the intestinal tract, being able to act as a culture medium for pathogenic microorganisms and thus causing diseases to those who ingest it.

Based on this, the present work had as objective to analyze the presence of Coliformes Tottais and *E. Coli* in different water samples. The presence of these microorganisms were analyzed using the Petrifilm Plates technique, which is one of the fastest methods currently used, with this technique we can observe in the water samples whether there is or is not the presence of *E. coli* bacteria and total Coliforms. Total coliforms are the most abundant microorganisms and environmental contaminants, this group formed by a number of bacteria that includes the genera: *Klebsiella*, *Escherichia*, *Serratia*, *Erwenia* and *Enterobacterium*. It is a group of bacteria that normally inhabit the human intestine and some animals.

A positive result was obtained for the presence of total Coliforms and *E. coli* in three of the five samples analyzed, being these results superior to the water potability standard provided by the Ministry of Health, and therefore unfit for consumption. The efficacy of the petrifilm plaques technique was determined in relation to the analysis of the presence of total coliforms and *E. coli*. The technique proved to be quick and easy to reproduce.

Keywords: Microorganisms, Contamination, Petrifilm

1 INTRODUÇÃO

A água é fonte da vida. Não importa quem somos, o que fazemos, onde vivemos, nós dependemos dela para viver. No entanto, por maior que seja a importância da água, as pessoas continuam poluindo rios e destruindo as nascentes, esquecendo o quanto ela é essencial para nossas vidas (BRASIL DAS ÁGUAS, 2003).

A água quando não tratada corretamente se torna uma importante fonte de transmissão de doenças, principalmente as doenças que afetam o trato intestinal, sendo capaz de agir como meio de cultura para microrganismos patogênicos e assim causar doenças àqueles que a ingerem (COPASAD, 1995).

A água é um recurso natural essencial, seja como componente bioquímico de seres vivos, como meio de vida de várias espécies vegetais e animais, como elemento representativo de valores sociais e culturais e até como fator de produção de vários bens de consumo final e intermediário (BRASIL DAS ÁGUAS, 2003).

A função das estações de tratamento consiste, em última instância, em tornar a água potável, ou seja, adequar suas características ao padrão de consumo segundo a legislação de potabilidade (ÁGUA BRASIL, 2010).

No Brasil cerca de 30% da população abastece-se de água proveniente de fontes inseguras, sendo que boa parte daqueles atendidos por rede pública nem sempre recebe água com qualidade adequada e em quantidade suficiente (COPASAD, 1995).

Os tipos de tratamento da água podem ser compreendidos em convencional que seria o tratamento da água bruta pelos processos de floculação, decantação, filtração, correção de pH,

desinfecção (cloração) e fluoretação. E o não convencional, tratamento da água bruta por clarificador de contato, estações de tratamento de água compactas, pressurizadas ou não, filtragem rápida, etc (ÁGUA BRASIL, 2010).

Fontes alternativas de água (tais como bicas e poços rasos) são utilizados frequentemente pela população de grandes centros urbanos por acreditar que, por não serem manipuladas, a qualidade dessas águas seja superior às servidas pelas companhias de saneamento responsáveis pela distribuição da água tratada nas residências (SILVA et al., 2013).

O grupo de bactérias determinado coliformes totais são aquelas que não causam doenças, visto que, habitam o intestino de animais mamíferos inclusive o homem. As bactérias do grupo coliforme são consideradas os principais indicadores de contaminação fecal (DARWIN FUTURO, 2009).

Os coliformes totais e fecais são os microrganismos mais abundantes como contaminantes ambientais e possuem várias técnicas de identificação e meios de cultura seletivos e diferenciais (PORTAL EDUCAÇÃO, 2012).

O grupo coliforme é formado por um número de bactérias que inclui os gêneros *Klebsiella*, *Escherichia*, *Serratia*, *Erwenia* e *Enterobactéria*. Todas as bactérias coliformes são gram-negativas manchadas, de hastes não esporuladas que estão associadas com as fezes de animais de sangue quente e com o solo (DARWIN FUTURO, 2009).

Coliformes fecais ou coliformes termo tolerantes são bactérias capazes de desenvolver e/ou fermentar a lactose com produção de gás a 44°C em 24 horas. A principal espécie dentro desse grupo é a *Escherichia coli*. Essa avaliação microbiológica da água tem um papel destacado, em visto da grande variedade de microrganismos patogênicos, em sua maioria de origem fecal, que pode estar presente na água (BETTEGA, 2006).

Os organismos patogênicos, ao serem eliminados pelas fezes, atingem o ambiente aquático, podendo vir a contaminar as pessoas e animais que se abastecem de forma inadequada dessa água (ÁGUA BRASIL, 2010).

A determinação da concentração dos coliformes assume importância como parâmetro indicador da possibilidade da existência de microrganismos patogênicos, responsáveis pela transmissão de doenças de veiculação hídrica, tais como febre tifoide, febre paratifoide, desenteria bacilar e cólera (DARWIN FUTURO, 2009).

Durante milênios as águas insalubres propagaram epidemias que dizimaram populações. O índice de mortes por doenças diarreicas é enorme, a maioria sendo criança de até cinco anos (NIKAIDO et al., 2004).

A *Escherichia coli* (*E. Coli*) é um grupo de bactérias que habitam normalmente no intestino humano e de alguns animais. As doenças de veiculação hídrica são causadas, principalmente, por microrganismos patogênicos de origem entérica, animal ou humana, transmitidos quando são excretados nas fezes de indivíduos infectados e ingeridos na forma de água ou alimento contaminado por água poluída com fezes (NIKAIDO et al., 2004; FRAZÃO, 2016).

A *Escherichia coli* é uma bactéria anaeróbia facultativa. Possui formato de bastonete, vários flagelos em volta da célula e possuem adesinas que facilitam sua fixação, impedindo saírem do corpo através da urina ou fezes. Entram no corpo através do consumo de água e alimentos contaminados (DONNEMBERG, 2017; ARAGUAIA, 2017).

A *E. Coli*, quando presente no intestino humano não causam problemas de saúde, mas quando outros tipos desta bactéria entram no organismo, elas podem gerar doenças, neste caso ela poderá causar gastroenterite. Mas nas mulheres, a infecção urinária pode ser causada pela *E. Coli*, pois elas migram do ânus para a uretra devido à sua proximidade (FRAZÃO, 2016).

Alguns exemplos de doenças que podem ser causadas pela contaminação com a *E. Coli* são: Gastroenterite, Infecção urinária, Pielonefrite, Apendicite, Peritonite, Meningite e Septcemia (FRAZÃO, 2016)

É considerada um indicador de qualidade de água e alimentos através da análise de coliformes fecais: nome dado a um grupo de bactérias que habita o intestino dos referidos animais (ARAGUAIA, 2017).

Objetivou-se com o presente trabalho analisar a presença de Coliformes totais e *E. Coli* em diferentes amostras de água.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

Métodos analíticos microbiológicos são imprescindíveis para a verificação da presença de micro-organismos patogênicos em alimentos. Neste sentido, métodos convencionais são aplicados, porém tais métodos apresentam desvantagens que podem levar à liberação de lotes de alimentos contaminados devido a amostras falso-negativas. Desse modo, métodos rápidos

alternativos estão sendo desenvolvidos e empregados como potenciais substitutos aos métodos clássicos ou como complementares a estes (RODRIGUES et al., 2011).

Os métodos rápidos têm sido desenvolvidos para encurtar o tempo entre a coleta da amostra e a obtenção do resultado. O sistema Petrifilm é um dos métodos rápidos mais utilizados atualmente. Sendo um método mais rápido que método de plaqueamento convencional. O sistema utiliza uma mistura desidratada de nutrientes (ágar vermelho violeta bile) e agente geleificante (solúvel em água fria). A análise microbiológica é reduzida a três etapas simples e rápidas, fornecendo resultados consistentes e de fácil leitura dos resultados obtidos, reduzindo assim as chances de erros, comuns nos mais variados métodos convencionais de plaqueamento (3M, 2009; FORSYTHE, 2002).

As principais vantagens das placas Petrifilm™ em relação aos métodos convencionais são os mais simples de se utilizar por seu tamanho pequeno, longa vida de prateleira e facilitam a leitura dos resultados (FUNG, 2002).

Petrifilm normalmente são prontas para uso, sempre eliminando as etapas de preparação de meios de cultura e vidrarias necessários, também ocupam menos espaço em incubadoras, geladeiras, armários, autoclaves, tendo um descarte mais fácil por não quebrar, derramar e pode ser congeladas para possíveis reanálises ou contagem posteriores (FRANCO; BELOTI, 1990).

A amostra utilizada, diluída ou não, é inoculada na superfície do filme base e o filme superior é sobreposto a ela. Utilizando um difusor plástico para auxiliar, a amostra é espalhada em uma área determinada. Após a solidificação da substância geleificante, o conjunto é incubado na temperatura e tempo indicados pelo fabricante. Após a incubação, as colônias visíveis são enumeradas e o resultado é expresso em UFC / ml (NERO et al., 2000).

Os benefícios dos métodos rápidos passam por uma execução da análise mais simplificada, reduzindo o trabalho laboratorial e redução no tempo de resposta. Tendo processamento de maior número de amostras em menor período de tempo (FRAQUEZA, 2002).

Além das vantagens de facilitar o trabalho do microbiologista, os sistemas comerciais produzidos por empresas idôneas são submetidos a rigorosos testes de controle de qualidade, o que garante sua confiabilidade e reprodutividade. Em alguns desses sistemas, o número de testes bioquímicos para um único microrganismo é grande, o que permite a obtenção de resultados mais corretos e precisos. Outras vantagens são também importantes: facilidade de

estocagem, uso e descarte. A interpretação de resultados é também mais fácil e rápido (FRANCO, 2005)

Os métodos rápidos, como o Petrifilm™ apresentam a conveniência de produzirem resultados mais rápidos, sensíveis e específicos, se comparados às técnicas convencionais. Tais métodos também podem oferecer economia de espaço e materiais aumentando a produtividade laboratorial (SILVA, 1996).

Colônias de *E. Coli* são azuis ou vermelho-azulada com gás (95% das colônias formam gás) associado próximo às colônias. Colônias de coliformes são vermelhas com gás associados próximos as colônias (3M, 2009).

Ainda de acordo com 3M, (2009) colônias de coliformes que crescem na Placa Petrifilm CC ou na Placa Petrifilm EC produzem ácido, fazendo com que o indicador de pH torne a cor do gel vermelho mais escuro. O gás retido ao redor das colônias vermelhas de coliformes indica coliformes confirmados.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizados cinco amostras coletadas de distintos locais: Fonte primitiva em Candiota-RS, Rio Camaquã em Lavras do Sul -RS, Bebedouro na Faculdade IDEAU em Bagé-RS, Bairro em Bagé-RS e Centro em Bagé-RS. Para as coletas foram utilizados cinco recipientes esterilizados antes das coletas. As amostrar foram coletadas com o auxílio de uma chama de fogo, depois eram colocadas nos recipientes e posteriormente tampados. O método utilizado para avaliação microbiológica foi placas Petrifilm para a contagem de *E. Coli* e Coliformes totais, sendo 1 placa para cada amostra, totalizando 5 placas para contagem de *E. Coli* e 5 para contagem de Coliformes totais.

Dentro da câmara de fluxo laminar e com o auxílio de pipetas esterilizadas (totalizando 5) foi transferida a quantidade de 1 ml da água de cada amostra dos recipientes para as referidas placas, sempre esterilizando a ponta das pipetas volumétricas com um chama de um bico de Bunsen. Após isso as placas foram identificadas e colocadas na estufa a 35°C por 48 horas. Posteriormente, a essas 48 horas as placas foram retiradas da estufa e foram para o contador de colônias. Cada amostra de água foi utilizada para duas verificações, tanto para a presença de Coliformes totais como para presença de *E. coli*.

Locais de coleta de água:



Imagem 1: Fonte primitiva em Candiota-RS - Foto: D'ávila, L.R., 2017. Candiota-RS.

Imagem 2: Rio Camaquã em Lavras do Sul-RS. Foto: Ilustrativa, 2017.

Imagem 3: Torneira em bairro de Bagé-RS. Foto: Baumhardt, J.B., 2017. Bagé- RS

Imagem 4: Bebedouro da Faculdade IDEAU em Bagé-RS. Foto: Ilustrativa, 2017.

Imagem 5: Torneira em centro de Bagé-RS. Foto: Gul, G.B., 2017. Bagé-RS

Materiais utilizados:

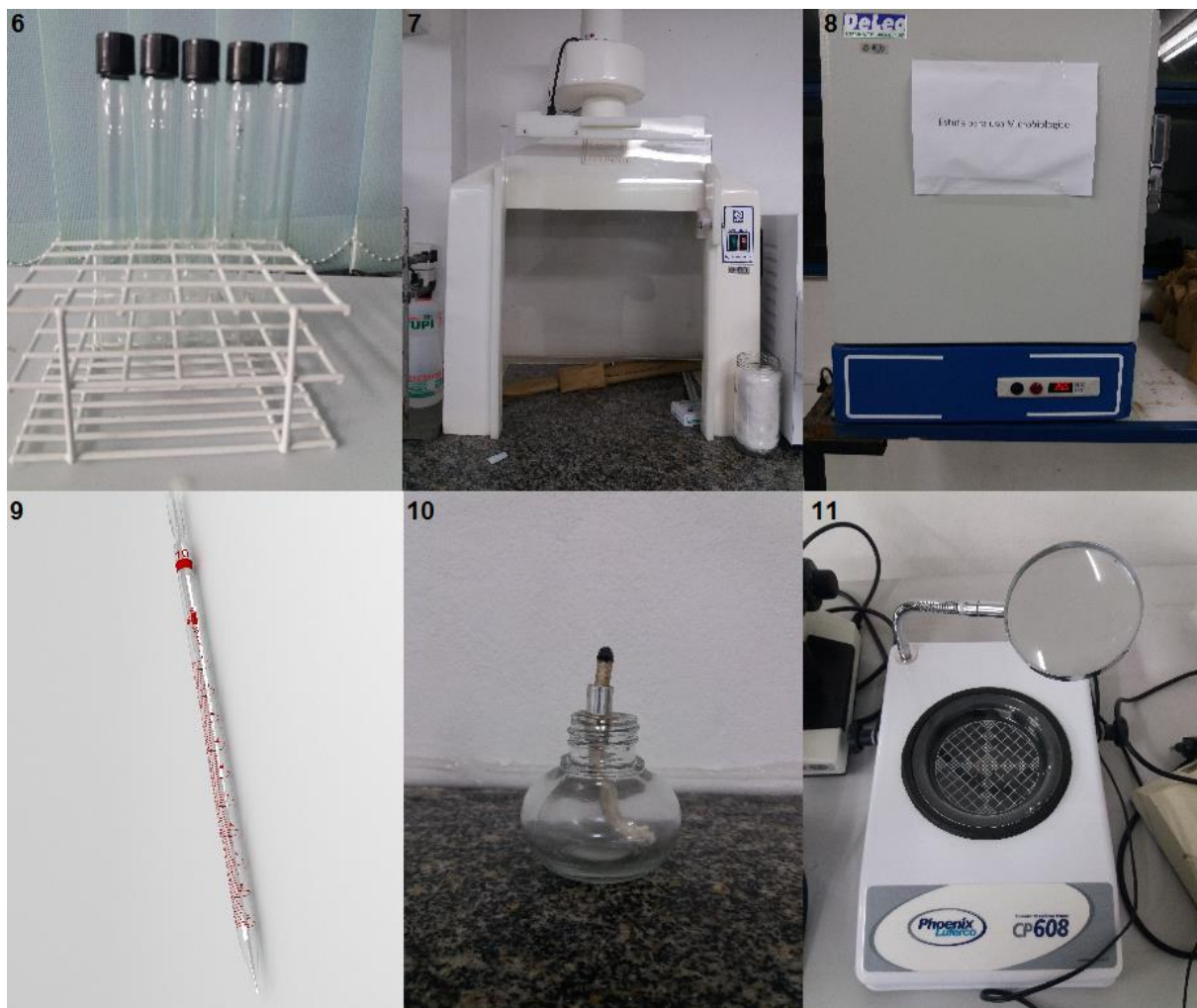


Imagem 6: Recipientes de vidro esterilizados - Foto: Baumhardt. J.B., 2017. Faculdade IDEAU, Bagé,RS.

Imagem 7: Câmara de fluxo laminar - Foto: Baumhardt. J.B., 2017. Faculdade IDEAU, Bagé,RS.

Imagem 8: Estufa microbiológica - Foto: Baumhardt. J.B., 2017. Faculdade IDEAU, Bagé,RS.

Imagem 9: Pipeta volumétrica - Foto: Baumhardt. J.B., 2017. Faculdade IDEAU, Bagé,RS.

Imagem 10: Bico de Bunsen - Foto: Baumhardt. J.B., 2017. Faculdade IDEAU, Bagé,RS.

Imagem 11: Contador de colônias - Foto: Baumhardt. J.B., 2017. Faculdade IDEAU, Bagé,RS..

4 RESULTADOS E ANÁLISE

Os resultados adquiridos da análise microbiológica da água da fonte primitiva de Candiota-RS em um quadrado de 1x1 foi de 40 colônias (40 colônias na placa 4x10 UFC/cm² ou ml) de coliformes totais e 20 colônias de *E. Coli* (1 x 20: 20 colônias na placa -2x 10 UFC/cm² ou ml).

Na análise da água do Rio Camaquã em Lavras do Sul -RS os resultados foram de 40 colônias (2x 20 : 40 = 4x10 ufc /cm²ou ml) de coliformes totais e 80 colônias de *E. Coli* (4x 20 : 80 = 8x10 ufc/cm²ou ml).

Na amostra da água do bebedouro da Faculdade IDEAU- Bagé-RS obteve-se resultados de: 80 colônias (4x20: 80= 8x10 ufc/cm²ou ml) de coliformes totais e 20 colônias (1x20: 20=2x10 ufc/cm² ou ml) de *E.Coli*.

Já nos resultados das águas de Bairro em Bagé-RS e Centro em Bagé-RS não foi encontrado nenhuma colônia tanto de coliformes totais como de *E.Coli*.

Lembrando que na contagem de colônias de *E.Coli* são contadas apenas colônias com gás ao redor.

Quadro 1: Resultados obtidos das amostras verificadas.

Localidade	Presença de Coliformes Totais	Presença de Escherichia coli
Fonte primitiva em Candiota - RS	40 UFC/ ml	20 UFC/ml
Rio Camaquã em Lavras do Sul - RS	40 UFC/ ml	80 UFC/ml
Bebedouro da Faculdade IDEAU em Bagé -RS	80 UFC/ ml	20 UFC/ml
Bairro em Bagé - RS	0 UFC/ ml	0 UFC/ml
Centro em Bagé - RS	0 UFC/ ml	0UFC/ml

UFC= Unidade formadora de colônia

Para melhor comparar os resultados deste trabalho com a tabela disponibilizada pelo Ministério da Saúde foi multiplicado os valores obtidos por 100, já que as análises deste trabalho foram feitas com 1 ml das amostras e a análise da tabela disponibilizada foi feita com 100ml.

Quadro 2: Resultados obtidos das amostras verificadas multiplicados por 100.

Localidade	Presença de Coliformes Totais	Presença de Escherichia coli
Fonte primitiva em Candiota - RS	400 UFC/100 ml	200 UFC/100ml
Rio Camaquã em Lavras do Sul - RS	400 UFC/100ml	800 UFC/100ml
Bebedouro da Faculdade IDEAU em Bagé -RS	800 UFC/100ml	200 UFC/100ml
Bairro em Bagé - RS	0 UFC/100ml	0 UFC/100ml
Centro em Bagé - RS	0 UFC/100ml	0UFC/100ml

UFC= Unidade formadora de colônia

Tabela disponibilizada pelo Ministério da saúde:

TABELAS DA NORMA DE QUALIDADE DA ÁGUA PARA CONSUMO HUMANO

(Portaria 1469, de 29/12/2000)

Art.12. A água potável deve estar em conformidade com o padrão microbiológico conforme Tabela I, a seguir:

Tabela I
Padrão microbiológico de potabilidade da água para consumo humano

PARÂMETRO	VMP ⁽¹⁾
Água para consumo humano⁽²⁾	
Escherichia coli ou coliformes termotolerantes ⁽³⁾	Ausência em 100ml
Água na saída do tratamento	
Coliformes totais	Ausência em 100ml
Água tratada no sistema de distribuição (reservatórios e rede)	
Escherichia coli ou coliformes termotolerantes ⁽³⁾	Ausência em 100ml
Coliformes totais	Sistemas que analisam 40 ou mais amostras por mês: Ausência em 100ml em 95% das amostras examinadas no

VPM= Valores máximo permitidos

As águas da Fonte primitiva em Candiota-RS, Rio Camaquã em Lavras do Sul -RS, Bebedouro na Faculdade IDEAU em Bagé-RS não são próprias para consumo, já a água dos Bairro em Bagé-RS e Centro em Bagé-RS estão livres de contaminação.

Souza et al. (2011) ao analisar a qualidade microbiológica da água, ao longo da cadeia produtiva de tilápia no Nilo (*Oreochromis niloticus*), na região norte do estado do Paraná obteve os seguintes resultados da presença de coliformes totais: Na estação A encontrou-se 41.000 UFC/100 ml, nas estações B e D foram observadas 1.600 UFC/100 ml, na estação C um total de 4.800 UFC/100 ml e na estação E de 7.200 UFC/100 ml.

Liuron (2003) relata que a quantificação dos CT serve como indicativo da qualidade higiênica e informa sobre o grau de poluição microbiana a que estão expostos os peixes ao longo da cadeia produtiva de tilápia.

Seco et al (2012), por outro lado, ao avaliar 20 amostras de águas dos bebedouros do campus da Universidade Estadual de Londrina – PR, não obteve nenhum resultado positivo, tanto para Coliformes totais como para *E. Coli*.

Segundo a Portaria nº. 2914/2011, o sistema de abastecimento de água para consumo humano é composto por instalações providas de conjuntos de obras civis, materiais e equipamentos destinados à produção e a distribuição canalizada de água potável para populações, sob a responsabilidade do poder público, mesmo que administrada em regime de concessão ou permissão. A água potável deve apresentar ausência de coliformes termo tolerantes ou *E. coli* em 100 mL de amostra e ausência de bactéria do grupo coliformes totais em 100 mL. De acordo com essa portaria, entende-se por água potável, a água de consumo humano cujos parâmetros microbiológicos, físicos, químicos e radioativos atendam ao padrão de potabilidade que não ofereça riscos à saúde (BRASIL, 2011).

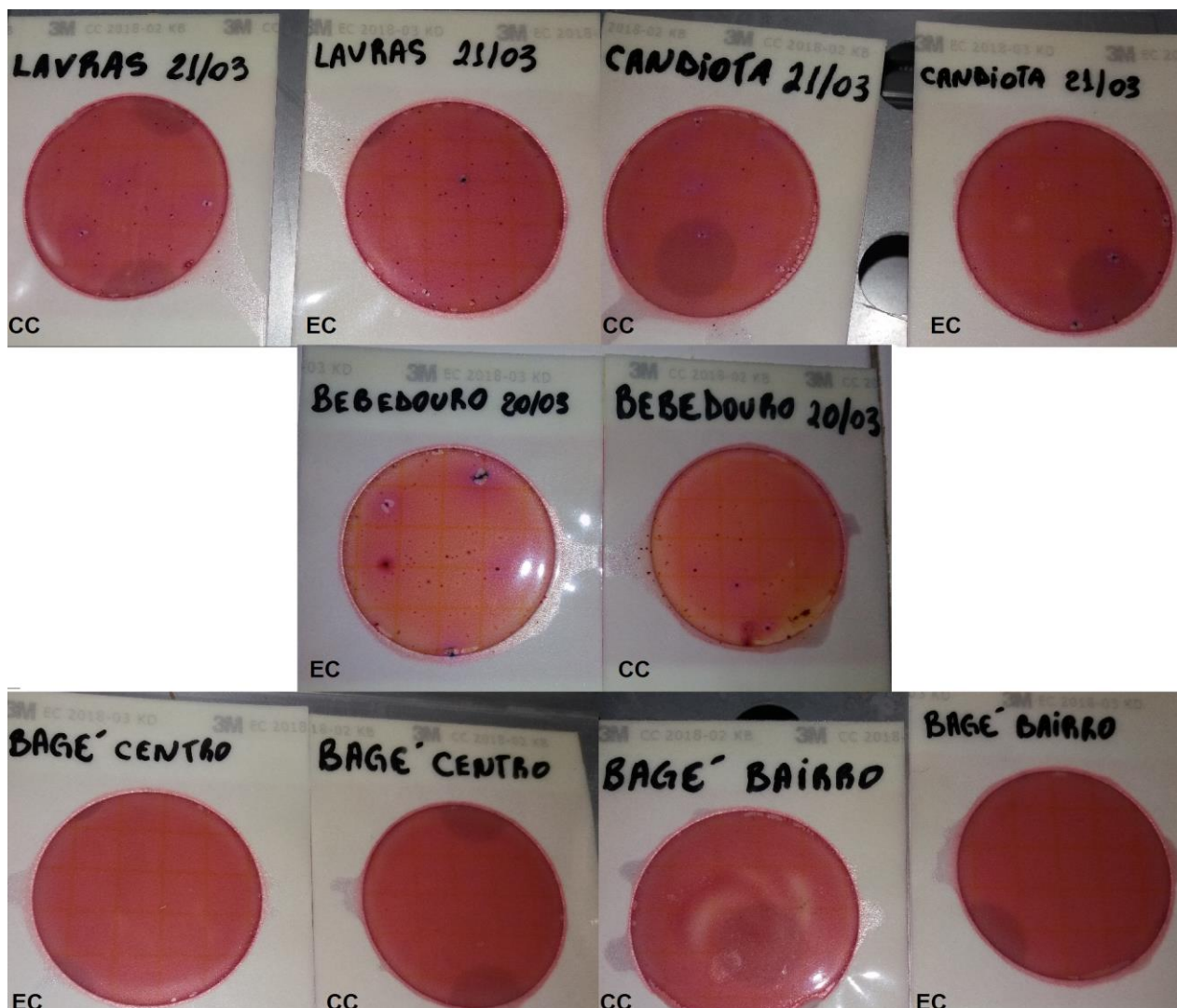


Imagem 12: Amostras após 24 horas de incubação a 35°C -Foto: Baumhardt, J.B., 2017.

Faculdade IDEAU, Bagé-RS.

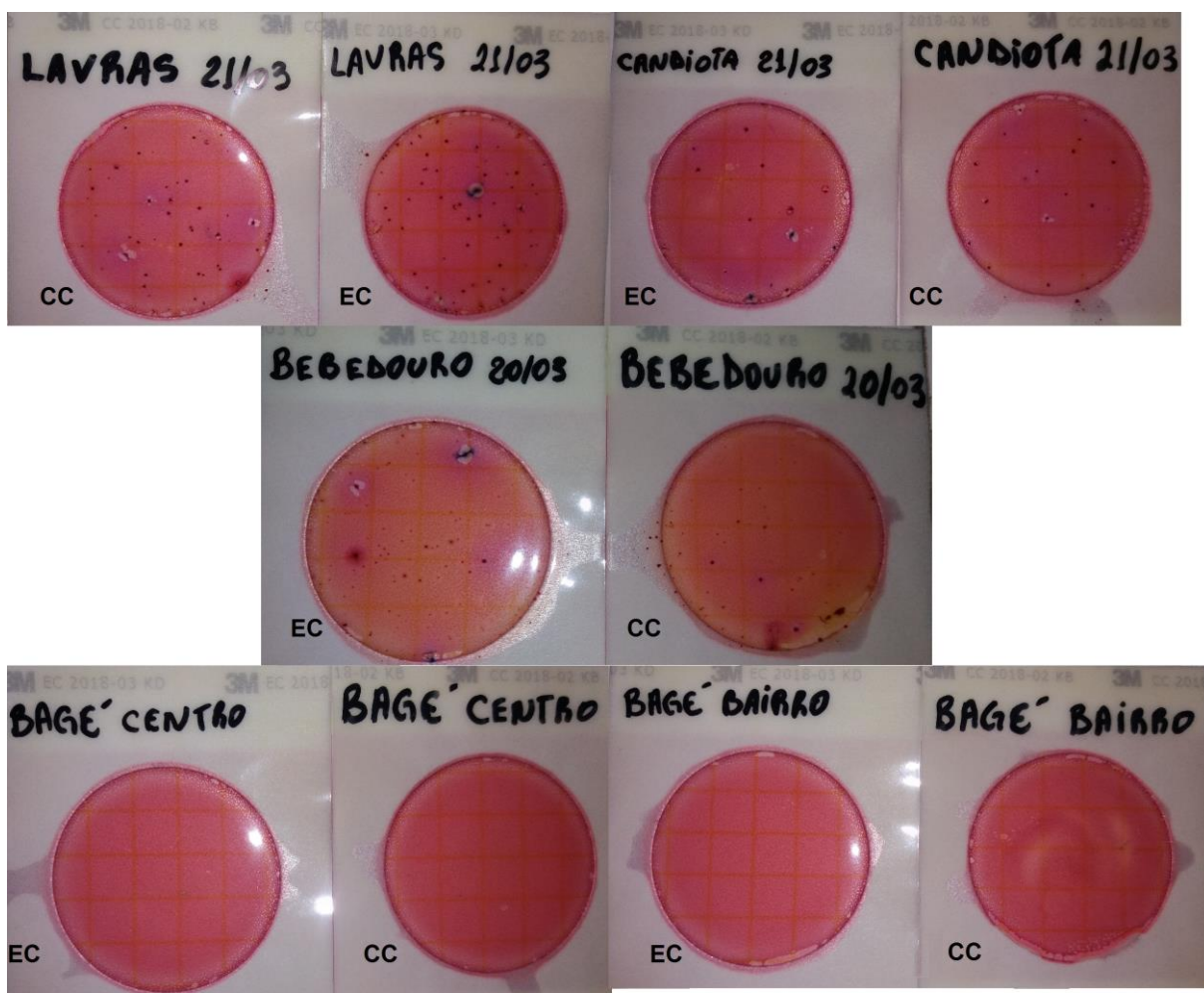


Imagem 13: Amostras após 48 horas de incubação á 35°C - Foto: Baumhardt, J.B., 2017.
Faculdade IDEAU. Bagé-RS

5 CONCLUSÃO

Em comparação aos padrões disponibilizados pelo Ministério da Saúde, foi concluído que as águas das amostras da fonte primitiva em Candiota-RS, Rio Camaquã em Lavras do Sul -RS e bebedouro na Faculdade IDEAU em Bagé-RS são impróprias para o consumo pois apresentaram números superiores de colônias de Coliformes totais e *E.coli* do que o permitido e as águas do Bairro em Bagé-RS e Centro em Bagé-RS não apresentaram nenhum risco para saúde, pois o valor total de colônia tanto de Coliformes totais como de *E. Coli* foram zero.

Foi concluído também a eficácia da técnica das placas de petrifilm em relação a análise da presença de coliformes totais e *E. coli*. A técnica se mostrou rápida e de fácil reprodução.

6 REFERÊNCIAS

1. 3M DO BRASIL LTDA. PETRIFILM™ - **Guia de interpretação para contagem de E coli e Coliformes**, USA, 2009. Disponível em:
<multimedia.3m.com/mws/media/.../guia-interpr-petrifilm-ecoli-e-coliformes.pdf>. Acesso em: 03 de maio de 2017.
2. AGUA BRASIL, **Glossário Saneamento e Meio Ambiente**. (Fundação Oswaldo Cruz) Disponível em:
<<https://www.aguabrasil.icict.fiocruz.br/index.php?pag=sane>> Acesso em: 08 de abril de 2017.
3. ARAGUAIA, M. "*Escherichia coli*"; **Brasil Escola**. Disponível em:
<<http://brasilecola.uol.com.br/biologia/escherichia-coli.htm>>. Acesso em: 06 de abril de 2017
4. BETTEGA, J. M. P. R. et al. Métodos analíticos no controle microbiológico de água para consumo humano. **Cienc. Agrotec.** Disponível em:
<<http://www.scielo.br/pdf/cagro/v30n5/v30n5a19.pdf>> Acesso em: 07 de abril de 2017.
5. BRASIL. **Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária**. Portaria nº. 2914 de 12 de Dezembro de 2011. Diário Oficial da União, Brasília, 2011. Disponível em:
<<http://www.uel.br/revistas/uel/index.php/seminabio/article/download/10546/12166>>

6. BRASIL DAS ÁGUAS, **A Importância da Água**. 2003 Disponível em:
<<http://brasildasaguas.com.br/educacional/a-importancia-da-agua/>> Acesso em: 08 de abril de 2017.
7. COPASAD, **Pesquisa de coliformes totais e fecais em amostras de água coletadas no bairro zona sete, na cidade de Maringá-PR**. 1995 Disponível em:
<[http://cesumar.br/prppge/pesquisa/epcc2011/anais/bianca_altrao_ratti%20\(1\).pdf](http://cesumar.br/prppge/pesquisa/epcc2011/anais/bianca_altrao_ratti%20(1).pdf)> Acesso em: 02 de abril de 2017.
8. DARWIN FUTURO, **Coliformes Totais**. 2009 Disponível em:
<http://darwin.futuro.usp.br/site/ecologia/quadroteorico/c_coliformes.htm> Acesso em: 01 de abril de 2017.
9. DONNEMBERG, M. **Escherichia Coli**. Disponível em:
<http://www.todabiologia.com/microbiologia/escherichia_coli.htm>. Acesso em 06 de abril de 2017
10. FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da segurança alimentar**. Trad. Maria Carolina Minardi Guimarães e Cristina Leonhardt – Porto Alegre: Artmed, 2002.
11. FRANCO, B. D. G. M.; BELOTTI, V. **Repetibilidade e reprodutibilidade: importantes vantagens das placas PetrifilmR de contagem de microrganismos em alimentos**. 1990 Disponível em:
<http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612002000100011> Acesso em: 01 de abril de 2017.
12. FRANCO, B. D. G. M; LANDGRAF, M., M. T. D. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo, Ed. Atheneu, 2005.p27-171. Disponível em:
<http://www.pg.utfpr.edu.br/ppgep/anais/artigos/eng_tec_alimentos/12%20ANALISE%20DE%20COLIFORMES%20TOT%20FECA%20UM%20COMPAR%20TEC%20OFIC%20VRBA%20PE.pdf>. Acesso em: 03 de maio de 2017.
13. FRAQUEZA, M. J. Rapid methods applied to microbial food control. **Proceedings of the Veterinary Sciences Congress**, p. 279-278, 2002. Disponível em:
<<http://www.fmv.ulisboa.pt/spcv/edicao/congresso/40.pdf>> Acesso em: 10 de abril de 17.
14. FRAZÃO, A. **Doenças Infeciosas > Escherichia Coli**. 2016 Disponível em:
<<https://www.tuasaude.com/escherichia-coli/>> Acesso em: 07 de abril de 2017.
15. FUNG, D.Y.C **Rapid methods automations in Microbiology Comprehensive reviews in food safety**. Institute of Food Technologists, Kansas State University, 2002. Disponível em:
<http://repositorio.unb.br/bitstream/10482/13093/1/2013_LoianeMayraJacoSouza.pdf>. Acesso em: 03 de maio de 2017.

16. LIUSON, E. **Pesquisa de coliformes totais, fecais e Salmonella spp em tilápias de pesqueiros da região metropolitana de São Paulo**. 2003. 94f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – USP – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, São Paulo-SP, 2003.
17. NERO, L A.; BELOTI, V.; BARROS, M. A.F. Métodos rápidos e automatizados para enumeração de microrganismos indicadores em leite –Utilização no Brasil. **Semina: Ci. Agrárias**, v. 21, n.1, p. 115-126. Londrina, 2000. Disponível em: <<http://www2.ufersa.edu.br/portal/view/uploads/setores/126/Resumo%20MO%20indicadores.%20Heider,%20Hiagos,%20Thiago.pdf>>. Acesso em: 07 de abril de 2017.
18. NIKAIDO, O. A. S., TREVILATO TMB & SEGURA-MUÑOZ SI. 2004. Análise da qualidade da água do córrego Monte Alegre e afluentes, Ribeirão Preto-SP; enfoque para coliformes fecais e metais pesados. **O mundo da saúde**.
19. PORTAL EDUCAÇÃO. **Técnica de Análise de Coliformes Totais e Fecais**. Disponível em: <<https://www.portaleducacao.com.br/conteudo/artigos/biologia/tecnica-de-analise-de-coliformes-totais-e-fecais/15561>>. Acesso em 06 de abril de 2017
20. PORTARIA Nº 2.914. **Ministério da Saúde**. Disponível em: <<http://www.precisionlabs.com.br/images/NOVA-PORTARIA-DEZEMBRO-2011.pdf>>
21. RODRIGUES, M. X.; BITTENCOURT, J. V. M.; MATOS, E. A. S. A.; REIS, D. R. Inovação em métodos analíticos microbiológicos na indústria alimentícia. **Latin American journal of business management**. Disponível em: <www.lajbm.net/index.php/journal/article/viewFile/31/32>. Acesso em: 01 de abril de 17.
22. SECO, B. **Avaliação bacteriológica das águas de bebedouros do campus da Universidade Estadual de Londrina – PR**. Disponível em: <<http://www.uel.br/revistas/uel/index.php/seminabio/article/download/10546/12166>>
23. SILVA, C.A.; STRAPAÇÃO, S.; YAMANAKA, E.H.U.; BALLAO, C.; MONTEIRO, C.S. (2013) Potabilidade da água de poços rasos em uma comunidade tradicional, Curitiba – PR. **Revista Biociências**. Disponível em: <http://www.abes-rs.org.br/centraldeeventos/_arqTrabalhos/trab_20160928173928000000902.pdf>. Acesso em: 01 de abril de 17.
24. SILVA, N. Novos métodos de análise microbiológica de alimentos. **Coletânea do ITAL**. v. 25, n.1, p.1-13, jan-jun. 1996.
25. SOUZA, G. et al. **Análise da qualidade microbiológica da água, ao longo da cadeia produtiva de Tilápia do Nilo (Oreochromis niloticus), na região norte do estado**

do Paraná. 2011 Disponível: <

http://www.cesumar.br/prppge/pesquisa/epcc2011/anais/gabriel_marcos_domingues_souza.pdf>