

BACTERIÓFAGOS FECAIS EM ÁGUAS, VERDURAS CRUAS NÃO LAVADAS E OUTROS PRODUTOS ALIMENTÍCIOS: OBSERVAÇÕES QUANTO AO SEU ACHADO DURANTE SURTO DE HEPATITE INFECCIOSA E EM CONDIÇÃO NORMAL.*

Dílma Seala GELLI **
Aldo de SOUZA **

RIALA6/730

GELLI, D. S.; e col. - Bacteriófagos fecais em águas, verduras cruas não lavadas e outros produtos alimentícios: observações quanto ao seu achado durante surto de hepatite infecciosa e em condição normal. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*. 52 (1/2): 63-69, 1992.

RESUMO: Esse estudo relata resultados referentes à ocorrência de fagos (colifagos e shigelafagos) em 304 amostras de águas, nove de esgoto e 268 de verduras cruas não lavadas não relacionadas com ocorrência de infecções humanas por vírus entéricos e em 14 amostras de água, 8 de verduras cruas não lavadas e 41 outros produtos alimentícios (17 de leite cru, 17 de pós para o preparo de alimentos e 7 de alimentos prontos), coletadas em um município de São Paulo onde ocorria um surto de hepatite infecciosa. A porcentagem de positividade para fagos nas amostras coletadas no local onde ocorria o surto foi maior (20,63%) do que nas amostras controle (8,58% das amostras de verduras e 7,57% das amostras de água). Considerando-se somente as amostras de água de poço e nascente (não cloradas) e de verduras, verifica-se que a positividade foi de 50% nas amostras associadas ao surto e 8,58% nas amostras controle. Todas (100%) as amostras positivas do grupo controle revelaram presença de colifagos, enquanto os shigelafagos foram encontrados em 53,38% dessas amostras. Por outro lado, nas amostras associadas ao surto, a ocorrência de colifagos foi de 46,15% e de shigelafagos, 100%. O trabalho apresenta ainda considerações sobre esses achados, discutindo o papel dos bacteriófagos fecais como indicadores microbianos de contaminação fecal e como indicadores da presença de outros vírus entéricos, e seu valor na avaliação microbiana de produtos alimentícios, inclusive água.

DESCRITORES - Colifagos e shigelafagos. Indicadores virais de poluição fecal. Hepatite infecciosa e bacteriófagos.

INTRODUÇÃO

Os agentes de Doenças Veiculadas por Alimentos incluem vírus entéricos patogênicos ao homem, entre os quais estão os enterovírus, adenovírus, reovírus, o vírus da hepatite infecciosa e os que causam diarreias epidêmicas^{2,3,4,7,8,9,13,16}. No período de 1974 - 78 o "Centers for Disease Control" dos Estados Unidos relatou a ocorrência de 21 surtos de infecções entéricas por vírus, envolvendo 994 pessoas, veiculados comprovadamente por alimentos⁴. Na Inglaterra, Appleton e col.² sugeriram que diarreias de etiologia desconhecida são muito

provavelmente causadas por agentes virais veiculados por alimentos. Na Austrália, infecções pelo vírus Norwalk foram relacionadas ao consumo de ostras cruas⁷. Entretanto, o vírus que com maior frequência está associado ao consumo de alimentos, é o agente da hepatite infecciosa^{3,4}.

A determinação analítica de partículas virais patogênicas viáveis não é realizada rotineiramente na análise de produtos alimentícios. Esta determinação depende de instalações especiais de laboratório e de pessoal devidamente treinado, pois é atividade analítica complexa; mesmo em alimentos envolvi-

* Trabalho realizado na Seção de Microbiologia Alimentar do Instituto Adolfo Lutz.

** Da Seção de Microbiologia Alimentar do Instituto Adolfo Lutz.

dos epidemiologicamente na sua transmissão, esta determinação não é realizada — período de incubação relativamente longo, praticamente impedindo a análise pela ausência de restos alimentares disponíveis^{1,4,5,13}.

Os vírus são veiculados passivamente pelos alimentos, sem se multiplicarem, pois são parasitos intracelulares obrigatórios, dependentes de célula viva para se expressarem biologicamente. Entretanto, as partículas virais presentes nos produtos alimentícios sofrem a influência de fatores que podem interferir com sua viabilidade: temperaturas altas, secagem, ação de soluções desinfetantes e de aditivos químicos, antagonistas microbianos, processos de lavagem relacionados à capacidade de aderência física em superfícies, principalmente dos vegetais, entre outros^{3,8,10}.

A seleção dos microorganismos “índices” ou “indicadores” de contaminação de origem fecal é baseada em alguns parâmetros que incluem sua origem e procedência, presença constante na microbiota intestinal da população, não multiplicação e/ou dificuldade de adaptação e permanência no ambiente comum e determinação analítica simples, barata e relativamente rápida, de fácil interpretação e padronização. Neste contexto, *Escherichia coli*, coliformes de origem fecal e enterococos são os que apresentam maior importância, interesse, reprodutibilidade analítica e metodologia padronizada^{3,8}. Entretanto, outras características devem ser avaliadas para que os indicadores assinalados sejam considerados absolutos. A resistência química e física das formas biológicas, por exemplo, pode diferir quando se comparam as bactérias entre si, com as partículas virais e com os agentes de infecções parasitárias. Assim, os dados de presença/ausência de bactérias de origem fecal em um produto alimentício não estão inquestionavelmente relacionados com a presença/ausência de agentes de infecções entéricas virais e parasitários^{3,5,6,8}.

Os bacteriófagos de origem fecal estão associados a determinados grupos de bactérias entéricas. Suas características de resistência e permanência no meio ambiente e nos produtos alimentícios são mais próximas e semelhantes aos dos vírus entéricos. A determinação analítica dos bacteriófagos é simples, baseada na sua capacidade de infectar, se multiplicar e lisar células bacterianas hospedes específicas^{3,8,11,12,14}. Dentre os bacteriófagos usados como indicadores, os colifagos, hospedeiros da *Escherichia coli*, são considerados por muitos autores como indicadores de qualidade da água potável, representando uma contaminação de origem fecal e possível presença de outros vírus entéricos. Considera-se, para tanto, a presença de *E. coli* e de seus fagos no trato intestinal das diferentes espécies de animais de sangue quente^{3,6,8,11,12,17}. Outros fagos como os de *Shigella spp* e de *Samonella spp*, são também considerados de interesse^{9,14}. Na França, tanto a pesquisa de colifagos como de shigelafagos

são determinações analíticas para a certificação da qualidade microbiológica da água¹⁴.

O presente trabalho tem por objetivo avaliar a presença de bacteriófagos de origem fecal (colifagos e shigelafagos) em amostras de produtos alimentícios coletadas durante ocorrência de surto de hepatite infecciosa, comparando os resultados com os obtidos de amostras coletadas em condição de normalidade (controles).

MATERIAL E MÉTODOS

Amostras de água: 304 amostras de controle, sendo 233 de poços cavados, 36 de nascentes, 31 de rede de distribuição pública e quatro de recreação (piscinas), 14 amostras de águas de município onde ocorria surto de hepatite infecciosa, sendo dez da rede de distribuição pública, não clorada e quatro de rio e lagoa. O número total de amostras de água analisada foi de 318.

Amostras de esgoto: nove amostras, coletadas na região da cidade de São Paulo.

Amostras de verduras cruas não lavadas: 268 amostras de controle, procedentes do CEASA/CEAGESP, cultivadas em cerca de dez diferentes municípios do Estado e oito procedentes do município onde ocorria o surto, cultivadas em hortas comunitária e particular. O número total de amostras de verduras analisadas foi de 276. Amostras de produtos alimentícios: 41, procedentes do município onde ocorria o surto, sendo 17 de leite cru não pasteurizado, 7 de produtos prontos para o consumo (sorvete, iogurte, pastel e doces de confeitaria) e 17 de pós para o preparo de alimentos destinados à alimentação escolar da maioria dos municípios brasileiros, cuja indústria fabricante está situada no município em questão. As amostras positivas destes pós para o preparo de alimentos foram analisadas também após o preparo, que foi realizado seguindo as instruções contidas no rótulo do produto.

Cepas receptoras de fagos: *E. coli* IP 5530 e *Shigella sonnei* IP 6310, ambas originárias da Coleção de Culturas do Instituto Pasteur de Paris, França, e mantidas liofilizadas pela Seção de Coleção de Culturas do Instituto Adolfo Lutz Central.

Metodologia de análise: Para a determinação de presença de bacteriófagos fecais em água, utilizou-se a metodologia descrita por Serres e col.¹⁴. Para a determinação nos demais produtos, utilizou-se o mesmo método, com as adaptações pertinentes no que se refere ao preparo da amostra para análise: enxaguadura das amostras de verduras em 100 ml de água peptonada tamponada e homogeneização de 25 g de cada um dos demais produtos em 225 ml de água peptonada tamponada. Foram retiradas alíquotas de 10 ml tanto do líquido de enxaguadura como do homogeneizado, para a determinação dos fagos de *E. coli* e *S. sonnei*. As etapas da metodologia utilizada incluem enriquecimento do possível fago pre-

sente, em meio de cultura contendo a cepa receptora específica, filtragem em membrana para a retirada das bactérias presentes (ou inativação térmica das bactérias em forma vegetativa) e observação de lise sobre cultura da cepa receptora específica sobre superfície de agar em placa.

Leitura dos resultados: Foram consideradas positivas para a presença de colifagos e/ou shigelafagos, as amostras que apresentavam lise completa das cepas receptoras. Em caso de lise incompleta e portanto duvidosa, procedeu-se à análise por microscopia eletrônica para a confirmação da presença dos fagos - visualização das partículas virais e sua relação com as células da bactéria receptora.

RESULTADOS

Os resultados de presença/ausência de colifagos e shigelafagos encontrados estão expressos nas ta-

belas 1, 2 e 3. As tabelas 1 e 2 se referem às amostras - controle: verduras cruas não lavadas, procedentes do CEASA/CEAGESP (tabela 1) e amostras de água (tabela 2). A tabela 3 se refere aos resultados das amostras coletadas de município onde ocorria surto de hepatite infecciosa. Não constam de tabelas os resultados das duas amostras de pós para o preparo de alimento analisadas após preparo e cocção, que foram negativos, e os resultados das nove amostras de esgoto, que revelaram sete amostras positivas (77,78%) sendo que, das mesmas, todas revelaram a presença de colifagos (100%) e duas, a presença também de shigelafagos (28,57%). As figuras 1 e 2 são fotografias obtidas da confirmação positiva de resultados duvidosos em placas.

TABELA 1
Incidência de bacteriófagos fecais (colifagos e shigelafagos) em amostras-controle de verduras cruas sem lavagem (coletadas em condições normais).

Tipo	Total de amostras	Negativas (%)	Positivas (%)*		
			Total	Colifagos	Shigelafagos
Alface	119	106 (89,08)	13 (10,92)	13 (100)	3 (23,08)
Escarola	54	50 (92,59)	4 (7,41)	4 (100)	2 (50,00)
Almeirão	58	52 (89,66)	6 (10,34)	6 (100)	3 (50,00)
Agrião	23	23 (100)	0 (0)	-	-
Rúcula	10	10 (100)	0 (0)	-	-
Acelga	2	2 (100)	0 (0)	-	-
Couve e Brócoli	2	2 (100)	0 (0)	-	-
Total	268	245 (91,42)	23 (8,58)	23 (100)	8 (34,78)

* A porcentagem de colifagos e shigelafagos expressa se refere ao total das amostras positivas.

TABELA 2
Incidência de bacteriófagos fecais (colifagos e shigelafagos) em amostras- controle de águas (coletadas em condição normal)

Origem	Total de amostras	Negativas (%)	Positivas (%)*		
			Total	Colifagos	Shigelafagos
Poço	233	220 (94,42)	13 (5,58)	13 (100)	13 (100)
Nascente	36	26 (72,22)	10 (27,78)	10 (100)	0 (0)
Rede	31	31 (100)	0 (0)	-	-
Recreação	4	4 (100)	0 (0)	-	-
Total	304	281 (92,43)	23 (7,57)	23 (100)	13 (56,52)

* A porcentagem de colifagos e shigelafagos expressa se refere ao total das amostras positivas.

TABELA 3
Incidência de bacteriófagos fecais (colifagos e shigelafagos) em amostras coletadas de município durante surto epidêmico de hepatite infecciosa.

Tipo	Total de amostras	Negativas (%)	Positivas (%)*		
			Total	Colifagos	Shigelafagos
Água **	14	7 (50,00)	7 (50,00)	3 (42,86)	7 (100)
Verduras ***	8	4 (50,00)	4 (50,00)	2 (50,00)	4 (100)
Leite cru	17	17 (100)	0 (0)	-	-
Alimento pronto ****	7	7 (100)	0 (0)	-	-
Pó para preparo *****	17	15 (88,24)	2 (11,76)	1 (50,00)	2 (100)
Total	63	50 (79,37)	13 (20,63)	6 (46,15)	13 (100)

* A porcentagem de colifagos e shigelafagos expressa se refere ao total de amostras positivas.

** Inclui água de rede (10 amostras - 50 % positivas) e de rio e lagoa (4 amostras, 2 positivas).

*** Inclui alface (2 amostras) e 1 amostras de cada dos seguintes: brócoli, escarola, almeirão, repolho, espinafre e couve.

**** Inclui sorvete, iogurte, pastel e doces de confeitaria.

***** Produtos destinados à merenda escolar (pós para o preparo de sopa, mingau e molho). Após o preparo conforme instruções contidas no rótulo, as amostras foram negativas para os bacteriófagos pesquisados.

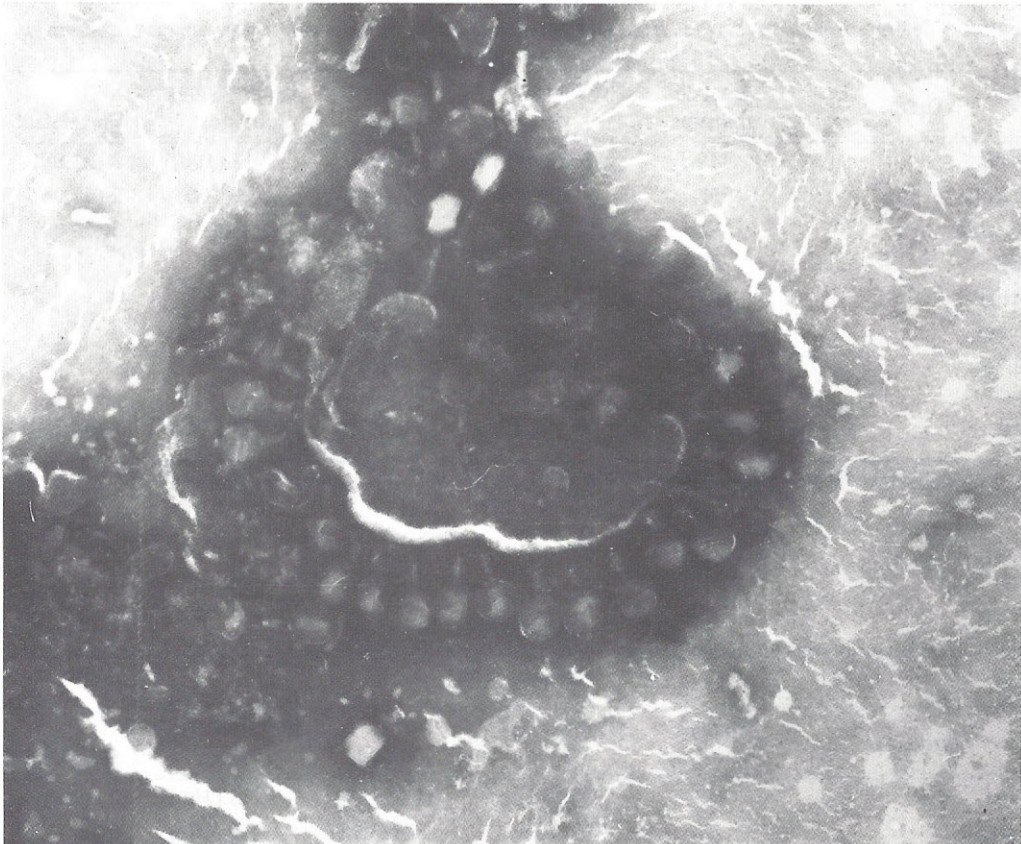


FIGURA 1

Microscopia eletrônica de shigelafagó

Técnica: impregnação pelo ácido fosfotungstico (coloração negativa).

Aumento: 12.000 vezes.

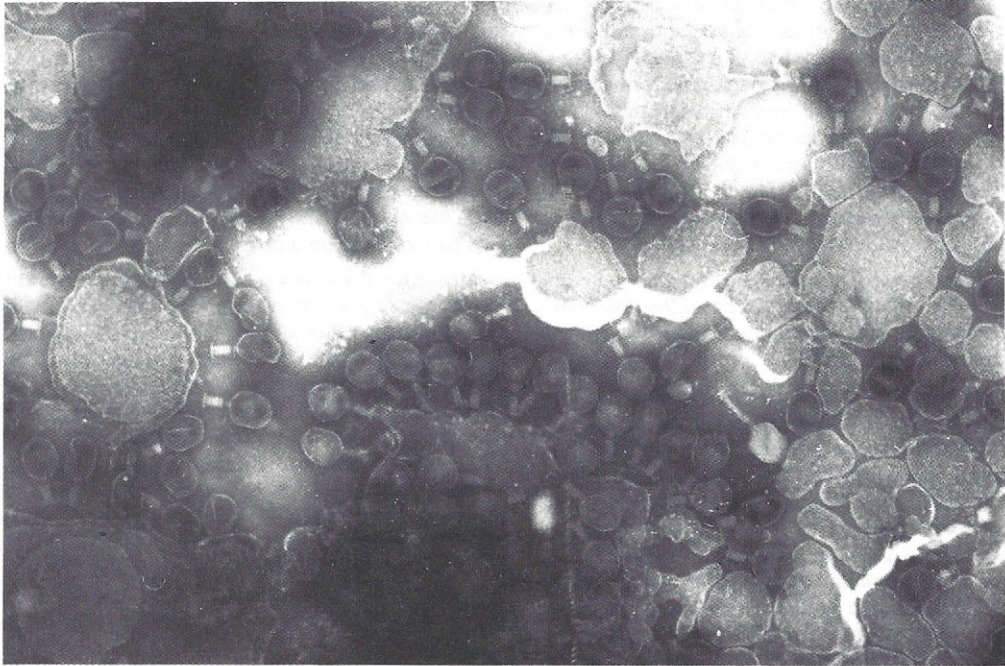


FIGURA 2

Microscopia eletrônica de colifagos.

Técnica: impregnação pelo ácido fosfotungstico (coloração negativa).

Aumento: 12.000 vezes.

Interpretação dos Resultados

A análise comparativa dos resultados expressos nas tabelas mostra diferença significativa entre a tabela 3 com as demais. A porcentagem da presença de fagos nas amostras coletadas em município que estava em situação epidêmica é maior (20,63%) do que nas amostras-controle respectivamente, 8,58% das verduras e 7,57% das águas). Se considerarmos somente as amostras de água de poço e nascente (não cloradas) e de verduras, contidas na tabela 3, esta diferença é ainda maior, ou seja, 50% das amostras procedentes do município em questão, são positivas para os fagos pesquisados. Os resultados destas determinações nos outros produtos alimentícios, contidos na tabela 3, não indicam veiculação significativa destes microorganismos.

É importante assinalar que as amostras de esgoto revelaram 77,78% de positividade, o que pode ser considerado uma condição de normalidade, pela origem e procedência fecal dos fagos.

No que se refere à incidência de colifagos e de shigela-fagos, os resultados também diferem. A incidência de colifagos considerando somente as amostras positivas de verduras-controle, é de 100%, assim como nas de águas-controle (tabelas 1 e 2) e nas amostras de esgoto, sendo menor a incidência de shigela-fagos - respectivamente 34,78%, 56,52% e 28,57%. Ao contrário, nas amostras coletadas no

município que se apresentava em situação epidêmica, a presença de colifagos é de 46,15%, enquanto os shigela-fagos são prevalentes (100% das positivas). A exceção se refere às amostras-controle de água de poço, que, apesar de revelar incidência baixa de positividade (5,58%), em todas foi constatada a presença concomitante de colifagos e de shigela-fagos, conforme tabela 2.

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

O papel dos fagos como indicadores de qualidade microbiológica é discutível. Alguns autores consideram que os mesmos são importantes, não só por sua origem fecal, mas sobretudo pela similaridade biológica com outros vírus entéricos patogênicos do homem. Assim, estes autores se referem principalmente à importância que os fagos podem ter na avaliação da qualidade e na indicação de risco à saúde pela água de consumo, incluindo a água mineral^{6,11,12,14,15,17}. As verduras, considerando a água de irrigação e a possível aderência da partícula viral em sua superfície, são também consideradas. O papel de indicador de qualidade e risco que os fagos podem ter na avaliação de outros produtos alimentícios, por outro lado, é tema pouco explorado,^{8,9} sendo que a maioria dos autores se referem especificamente aos vírus entéricos patogênicos e não a indicadores de sua presença,^{2,4,7,10,13,16}. A im-

portância da água e das verduras consumidas cruas nas infecções entéricas virais está relacionada com as observações e dados da epidemiologia destes agentes. Entretanto, considerando as dificuldades para a determinação analítica destes vírus na maioria dos laboratórios, a necessidade de agilizar as atividades de Vigilância Sanitária e Epidemiológica e de buscar uma simplificação analítica, os fagos são considerados especialmente interessantes como microrganismos indicadores da avaliação destes produtos^{3,4,12}.

Os dados obtidos no presente trabalho sugerem que os fagos fecais podem ser considerados como microrganismos indicadores importantes, conforme observações anteriores,¹².

Ainda, indicam que a determinação tanto dos colifagos como dos shigelafagos é de interesse. A *E. coli* é uma bactéria entérica presente no intestino dos animais de sangue quente, como microbiota normal, sendo que a mesma e seus fagos têm relação direta com contaminação de origem fecal por qualquer destas espécies animais, incluindo o homem. Esta associação é diferente para *Shigella sonnei* e seus fagos, uma vez que esta bactéria é um patógeno exclusivo do homem e que seus fagos devem estar presentes predominantemente no intestino da população humana¹². A prevalência dos shigelafagos nas amostras coletadas no município onde ocorria surto de hepatite infecciosa comparada à das amostras-controlé sugere que os mesmos têm importância na elucidação dos veículos de agentes virais humanos.

Os resultados obtidos das amostras de produtos alimentícios prontos para consumo são insuficientes

para concluir sobre a importância deste indicador microbiano para estes produtos. A presença de amostras positivas de pós para o preparo de alimentos assim como de verduras, atestam a distribuição dos fagos principalmente pela via hídrica, uma vez que a indústria e as hortas usavam água do município afetado. Entretanto, a ausência de surto de hepatite infecciosa em municípios que receberam produtos desta mesma indústria permite concluir que os mesmos não veicularam a doença.

Os dados disponíveis e os obtidos no presente trabalho levam à conclusão sobre a necessidade de levantamentos mais amplos e da complementação das observações aqui contidas, incluindo a determinação de fagos de outras bactérias entéricas patogênicas ao homem, como a *Salmonella spp.* A padronização metodológica para fins de comparação dos resultados entre os diferentes laboratórios, incluindo a definição dos receptores bacterianos específicos em função das características da lise das bactérias específicas é igualmente importante para o correto dimensionamento do significado dos bacteriófagos fecais para atividades de vigilância sanitária e epidemiológica de produtos alimentícios e água.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos aos funcionários da Seção de Meios de Cultura, da Seção de Coleção de Culturas e aos funcionários da Seção de Microscopia Eletrônica do Instituto Adolfo Lutz Central, pela colaboração prestada à realização deste trabalho.

GELLI, D. S. *et al.* - *Fecal bacteriophages in water, not washed and fresh green salads and other food products - Observation about its presence during infectious hepatitis outbreak and in normal condition.* *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 52 (1/2): 63-69, 1992.

ABSTRACT: This study shows results about phages occurrence (coliphages and shigellaphages) in 304 samples of drinking water, 9 of wastewater and 268 of not washed fresh green salads not related with viral human infections by enteric virus and in 41 samples of water, 8 of not washed green salad and 41 samples of others food products (17 raw milk, 17 powdered products and 7 ready-to-eat products), collected in a municipality of São Paulo during a infectious hepatitis outbreak. The percentage of phages positivity in the local where was occurring the outbreak was greater (20,63%) than the samples control (8,58% of green salad's samples and 7,57% of water's samples). Considering only well and spring water's samples (not chlorinated) and green salads, it is observed that the positivity is 50% among the outbreak's samples and 8,58% among the control samples. All (100%) of the control group positivies samples showed colophages and 53,38% shigellaphages. On the other hand, the samples related with the outbreak were 4615% positive for coliphages and 100% positives for shigellaphages. It is made some consideration about these results, discussing the role of fecal basteriophages as microbial indicator of fecal contamination and as indicator of others enteric virus' presence and its importance in the microbial evaluation of food products, including water.

DESCRIPTORS: *Coliphages and shigellaphages. Viral indicators of fecal contamination. Infectious hepatitis and bacteriophages.*

GELLI, D. S. & SOUZA, A. de - Bacteriófagos fecais em águas, verduras cruas não lavadas e outros produtos alimentícios: observações quanto ao seu achado durante surto de hepatite infecciosa e em condição normal. *Rev. Inst. Adolfo Lutz* 52 (1/2): 63-69, 1992.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 16th ed., Washington, Amer. Pub. Health A., 1985, p. 946 - 974.
2. APPLETON, H.; PALMER, S. R. & GILBERT, R. J. - Foodborne gastroenteritis of unknown aetiology: a virus infection? *Brit. Med. J.*, 282: 1801 - 1802, 1981.
3. BANWART, G. J. - *Basic Food Microbiology*, 2nd ed. New York, Van Nostrand Reinhold, 1989, p. 89 - 92 e 274 - 278.
4. CLIVER, D. O.; ELLENDER, R. D. & SOBSEY, M. D. - Foodborne virus. In: SPECK, M. L. ed. - *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. 2nd. ed. New York, Amer. Pub. Health A., 1984. c. 39.
5. CLIVER, D. O.; O'NEILL, P. E. & KITCHENS, J. F. - Surveillance methods for viruses in foods. *Milk Food Technol.*, 32: 421 - 425, 1969.
6. DUTKA, B. J.; EL-SHAARAWI, A.; MARTINS, M. T. & SANCHES, P. S. - North and south American studies on the potential of coliphages as a water quality indicator. *Water Res.*, 21: 1127 - 1134, 1987.
7. EYLES, M. J.; DAVEY, C. R. & HUNTLEY, E. J. - Demonstration of viral contamination of oysters responsible for an outbreak of viral gastroenteritis. *J. Food Protect.*, 44: 294 - 296, 1984.
8. HARTMAN, P. A.; PETZEL, J. P. & KASPAR, C. W. - New methods for indicator microorganisms. In: PIERSON, M. D. & STERN, N. J. - *Foodborne microorganisms and their toxins: developing methodology*. New York, Marcel Dekker, 1986, p. 200 - 201.
9. KENNEDY JR., J. E.; OBLINGER, J. L. & BITTON, G. - Recovery of coliphage from chicken, pork sausage and delicatessen meats. *J. Foods Protect.*, 47: 623 - 626, 1984.
10. KONOWALCHUK, J. & SPEIRS, J. I. - Survival of enteric viruses on fresh vegetables. *J. Milk Food Technol.*, 38: 469 - 472, 1975.
11. KOTT, Y.; ROSE, N.; SPERBER, S. & BETZER, B. - Bacteriophages as viral pollution indicators. *Water Res.*, 8: 165 - 171, 174.
12. PEDRO, N. V.; KUSSUMI, T. A.; GELLI, D.S.; KAWANO, M. & SOUZA, A. - Aspectos higiênico-sanitários de águas de poços cavados em diferentes áreas socio-econômicas de São Paulo. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 48: 21 - 27, 1988.
13. SANDERS, A. C.; BRYAN, F. L.; OLSON, J. C. & MADDEN, J. M. - Foodborne illness - suggested approaches for the analysis of foods and specimens obtained in outbreaks. In: SPECK, M. L. ed. *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*, 2nd. ed. New York, Amer. Pub. Health A., 1984. c. 38.
14. SERRES, L.; AMARIGLIO, A. & PETRANXIENNE, D. - *Contrôle de la Qualité des Produits Laitiers*. Analyse microbiologique et analyse sensorielle. 1er. Groupe P. Bacteriophages. Issy - les - Moulinaux, Ministère de l'Agriculture, 1973. Tome 2.
15. STETLER, R. E. - Coliphages as indicators of enteroviruses. *Appl. environ. Microbiol.*, 48: 668 - 670, 1984.
16. SULLIVAN, R.; PELLER, J. T.; TIERNEY, J. T. & LARKIN, E. P. - Examination of oysters for enteroviruses. In: *Bacteriological Analytical Manual*, 6th. ed. Association of Official Analytical Chemists, 1984. c. 20.
17. WENTSEL, R. S.; O'NEILL, P. E. & KITCHENS, J. F. - Evaluation of coliphage detection as a rapid indicator of water quality. *Appl. environ. Microbiol.*, 43: 430 - 434, 1982.

Recebido para publicação em 10 de agosto de 1991.

