



VI-099 - OCORRÊNCIA DE INDICADORES DE POLUIÇÃO FECAL BACTERIANOS (COLIFORMES TOTAIS E *E. COLI*) E VIRAL (ADENOVÍRUS) NA ÁGUA E EM MARISCOS DE ÁREA DE MANGUEZAL CONTAMINADA COM ESGOTO SANITÁRIO

Juliana de Freitas Justino⁽¹⁾

Bióloga pela Universidade Federal do Espírito Santo (UFES). Mestranda em Engenharia Ambiental pela UFES. Bióloga da UFES.

Regina de Pinho Keller

Bióloga pela Universidade Estadual do Rio de Janeiro, mestrado em Bioquímica pela Universidade Federal do Rio de Janeiro, doutorado em Microbiologia - Université Paris VII - Institut Pasteur e pós-doutorado em Microbiologia Ambiental pela University of Ottawa. Professora Adjunta do Departamento de Engenharia Ambiental da UFES.

Sérvio Túlio A. Cassini

Biólogo pela Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Mestrado em Microbiologia Agrícola pela Universidade de São Paulo e Doutorado em Microbiologia Ambiental - North Carolina State University NCSU. Professor Associado do Departamento de Engenharia Ambiental CT-UFES.

Caroline Lence Barbosa

Bióloga pela UFES.

Endereço⁽¹⁾: Av. Marechal Campos, 1468, Departamento de Biologia – Maruípe – Vitória- ES - CEP: 29040-090 - País - Tel: +55 (27) 3335-7256 - Fax: +55 (27) 3335-7254 - e-mail: jubioufes@yahoo.com.br

RESUMO

A emergência de novos agentes etiológicos em surtos de veiculação hídrica, tais como os vírus entéricos, vem causando impacto na saúde pública, tornando necessário o desenvolvimento de tecnologias para a detecção desses agentes. Os vírus entéricos podem ser encontrados em diversos ambientes, sobreviver por longos períodos, podendo causar diversas doenças. O local de estudo deste trabalho, sistema estuarino da Baía de Vitória, é fonte de subsistência para a população de bairros adjacentes, porém este ambiente vem sendo degradado principalmente pelo despejo de esgoto sanitário. Assim, buscou-se avaliar a contaminação em 3 pontos de coleta de água do estuário e do marisco: sururu do mangue (*Mytella guyanensis*), por meio de indicadores bacterianos (coliformes totais e *E. coli*) e viral (adenovírus), e a variação de parâmetros físico-químicos (pH, turbidez, condutividade elétrica e Sólidos Dissolvidos Totais - SDT) ao longo dos 14 meses de monitoramento (fevereiro/2008 a março/2009). Os resultados das análises físico-químicas mostraram variação dos parâmetros conforme precipitação pluviométrica anterior à data da coleta, obtendo valores máximos de turbidez e mínimos de condutividade e SDT nos meses mais chuvosos, especialmente para o ponto mais próximo ao rio (P1). Os resultados das análises microbiológicas revelaram elevada contaminação do sururu e do ponto mais próximo ao bairro (P3). Valores mais elevados também foram obtidos em meses mais chuvosos. Os adenovírus foram detectados em 78,6% das amostras de P1 e P2, em 71,6% das amostras de P3 e em 100% das amostras de sururu, evidenciando sua capacidade de concentrar partículas do meio circundante. Mesmo em meses em que a concentração de bactérias estava abaixo do limite recomendado pela legislação, partículas virais foram detectadas, indicando que indicadores bacterianos podem não ser adequados para avaliar a contaminação viral. A metodologia utilizada foi eficiente na detecção de partículas virais nas amostras analisadas.

PALAVRAS-CHAVE: Vírus Entéricos, Surtos de doenças, Água de Estuário, Marisco, Contaminação Microbiológica.

INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, bactérias, vírus, protozoários e helmintos têm sido associados com diversos surtos de origem hídrica e alimentar causando um grande impacto na saúde pública em termos de morbidade, mortalidade e custos econômicos. Os protozoários e os vírus têm substituído as bactérias patogênicas como agentes de maior preocupação na transmissão de doenças de veiculação hídrica e, de modo geral, são mais infecciosos do que os agentes bacterianos.



Os estudos na área da Microbiologia Ambiental ainda são incipientes, pois exigem a análise de amostras volumosas, necessitam da aplicação de métodos de concentração eficientes e de métodos de detecção sensíveis, muitas vezes onerosos e de complexa implantação. No Brasil, há poucos estudos que avaliem metodologias para a detecção de alguns microorganismos em amostras ambientais, e a emergência de novos agentes etiológicos de veiculação hídrica, bem como o agravamento de antigas epidemias relacionadas com a água e até então sob controle, resultam no atual incremento das investigações sobre a prevalência de vírus, protozoários, helmintos e bactérias em corpos d'água, em sistemas de abastecimento de água e em sistemas de esgotamento sanitário.

Vírus patogênicos para humanos e animais podem estar presentes em águas para abastecimento público, águas marinhas, rios, córregos. Grandes números de partículas virais são excretados nas fezes e na urina por indivíduos infectados, podendo vir a causar doenças, se ingeridas com a água e alimentos. Os vírus apresentam sobrevivência similar ou um pouco superior à das bactérias no meio ambiente, sendo, no entanto, mais resistentes aos processos de tratamento. As águas utilizadas para consumo, recreação e para cultivo de moluscos podem ser contaminadas por mais de 140 tipos de vírus entéricos, todos considerados patogênicos para o homem e muitos desses, com habilidade para sobreviver por meses na água e no solo (OMS, 2006).

A área de estudo, região da Grande São Pedro, localizada na parte noroeste da ilha de Vitória/ES – abriga uma extensa área de manguezal que se constitui em uma fonte importante de subsistência para os pescadores da região que se dedicam principalmente à coleta de frutos do mar (ostras, sururu de mangue, caranguejo, siri), abundantes no mangue. A população é na sua maioria de baixa renda. A descarga de várias redes de esgoto contribui para o aumento nos níveis de poluição orgânica, inorgânica e biológica, em torno da ilha de Vitória, comprometendo não apenas o meio ambiente, mas também a saúde da população.

Os estudos realizados nos mariscos e o alto número de casos de gastroenterite notificados anualmente na região sugerem uma possível associação entre o consumo ou manuseio destes alimentos e o desenvolvimento de doenças do trato gastrointestinal. O primeiro passo para se avaliar esta hipótese deveria basear-se em uma avaliação da prevalência de enteropatógenos bacterianos e virais na água e nos alimentos manipulados. A determinação da prevalência destes organismos no meio ambiente poderá ser utilizada para avaliar o impacto da destinação inadequada do esgoto neste ecossistema e posteriormente as consequências sobre a saúde da população que utiliza a água e os alimentos contaminados.

Assim, este trabalho tem como objetivo avaliar a qualidade microbiológica de 3 pontos do sistema estuarino da Baía de Vitória e marisco ali coletado, através da detecção de indicadores de contaminação bacterianos e viral durante 14 meses de monitoramento.

MATERIAIS E MÉTODOS

A pesquisa foi realizada no sistema estuarino da Baía de Vitória, próximo ao bairro Ilha das Caieiras, região de Grande São Pedro, em Vitória/ES. As coletas de água no estuário foram realizadas em 3 pontos georreferenciados com GPS Map Garmin 76S (Tabela 1; Figura 1). Estes pontos foram selecionados de acordo com resultados de estudos anteriores desenvolvidos na região e com a ajuda da população local.

Tabela 1: Pontos de amostragem

Ponto	Descrição	Coordenadas
1	manguezal próximo à foz do rio Santa Maria da Vitória	S 20°15'641 W 40°19'960
2	Próximo ao manguezal de ilha onde é coletado o sururu	S 20°16'262 W40°20'632
3	cais da Ilha das Caieiras	S 20°16'597 W 40°20'217



Figura 1: Mapa do sistema estuarino da Baía de Vitória com os pontos de amostragem deste trabalho.

As coletas de água, nos pontos 1, 2 e 3 (P1, P2 e P3 respectivamente), e do marisco (sururu do mangue – *Mytella guyanensis*), no mangue próximo ao ponto 2, foram realizadas no período de Fevereiro/2008 a Março/2009, com frequência mensal.

Em cada ponto foi coletado 1,5 litro de amostra de água estuarina, aproximadamente 15 cm abaixo da superfície, no período matutino.

As amostras de água e de marisco foram armazenadas em isopor com gelo logo após sua coleta, e assim foram transportadas para posterior análise. As amostras que não foram processadas no momento em que chegaram no laboratório, foram mantidas em refrigerador a 4°C, por no máximo 2 horas.

As análises físico-químicas (pH, turbidez, condutividade e Sólidos Dissolvidos Totais - SDT), microbiológicas (Coliformes totais e *Escherichia coli*) foram realizadas no Laboratório de Saneamento (LABSAN) do Departamento de Engenharia Ambiental (DEA) da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), conforme Standard Methods for Water and Wastewater Examination 19º Ed (APHA, 1995), para as amostras de água e conforme recomendações do Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods (APHA, 1992), para as amostras de marisco. Os testes para detecção e quantificação de Coliformes Totais e *Escherichia coli* foram realizados através do sistema de cartelas, embasado no Número Mais Provável (NMP).

Um litro de amostra de água foi concentrado utilizando a técnica de adsorção-eluição em membrana eletronegativa, conforme metodologia proposta por Katayama, Shimasaki e Ohgaki (2002), utilizando recipiente de pressão para dispensação (Millipore) na filtração. Cerca de 15mL resultaram desta primeira etapa de concentração. Uma segunda etapa de concentração foi realizada centrifugando o volume obtido na primeira etapa em tubos Amicon Ultra-15 (Millipore) a 6700xg a 4°C até que a amostra fosse concentrada a um volume de 400µL. A amostra permaneceu em freezer a -80°C até a extração de ácidos nucleicos.

A amostra de marisco foi processada iniciando-se com a lavagem da parte externa dos mexilhões em água corrente. Posteriormente, as valvas foram abertas com auxílio de faca estéril, e a porção gastrointestinal do marisco, removida. A metodologia utilizada consiste em modificações das propostas por Traore et al. (1998) e Croci et al. (1999).



Para extração de ácidos nucleicos, foi utilizado o método de Boom e colaboradores (1990). O DNA das amostras foi submetido à PCR e nested-PCR para pesquisa de Adenovírus das amostras ambientais conforme Allard et al. (2001), utilizando o aparelho termociclador PTC-100, versão 7.0, MJ Research. Os produtos da nested-PCR foram submetidos à eletroforese em gel de agarose 1,8% contendo brometo de etídio a 0,5 µg/ml e os produtos amplificados no gel foram visualizados em transiluminador (UV). O resultado foi registrado com foto em máquina digital. O resultado positivo para adenovírus foi confirmado com a presença de uma banda de 173pb.

RESULTADOS

ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

Os resultados dos parâmetros físico-químicos (pH, turbidez, condutividade e sólidos dissolvidos totais) podem ser visualizados na tabela 2. A variação de turbidez, condutividade e SDT ao longo do monitoramento podem ser comparados com o volume de chuva acumulado nos 5 dias anteriores à data da coleta de cada mês, nas figuras 2-5. Os dados de precipitação pluviométrica foram obtidos pelo Instituto de Meteorologia (INMET), para a estação automática do município de Vitória/ES.

Tabela 2: Estatística descritiva dos parâmetros físico-químicos analisados (n=14).

Parâmetro	Ponto de coleta	Mediana	Mínimo	Máximo
pH	P1	7,51	6,90	8,28
	P2	7,56	7,12	8,07
	P3	7,55	7,02	7,55
Turbidez (UNT)	P1	8,67	0,68	225,76
	P2	5,61	0,00	52,36
	P3	4,93	1,02	65,96
Condutividade (mS/cm)	P1	28,5	2,7	60,9
	P2	44,2	8,0	64,2
	P3	45,0	9,0	63,0
SDT (mg/L)	P1	14.846	193	45.086
	P2	24.846	2.898	51.358
	P3	22.561	4.999	66.636

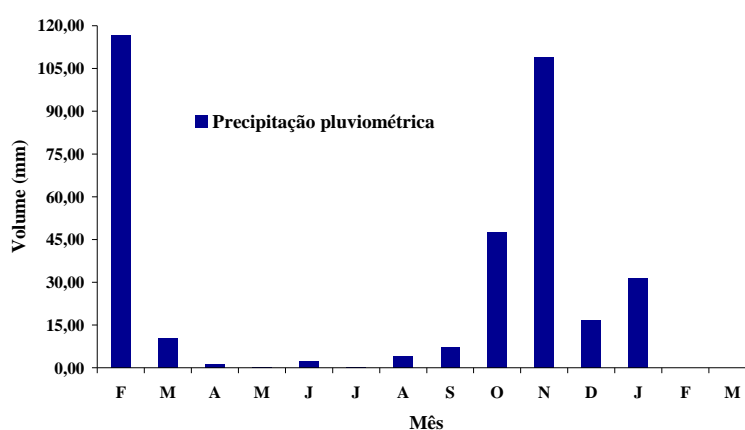


Figura 2: Precipitação pluviométrica (mm) acumulada para os 5 dias anteriores ao dia de coleta

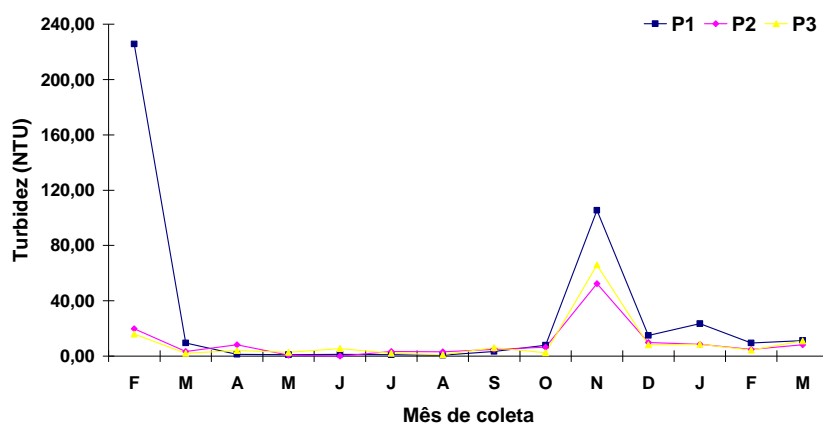


Figura 3: Série histórica referente ao parâmetro Turbidez para o período de monitoramento (fevereiro/2008 a março/2009)

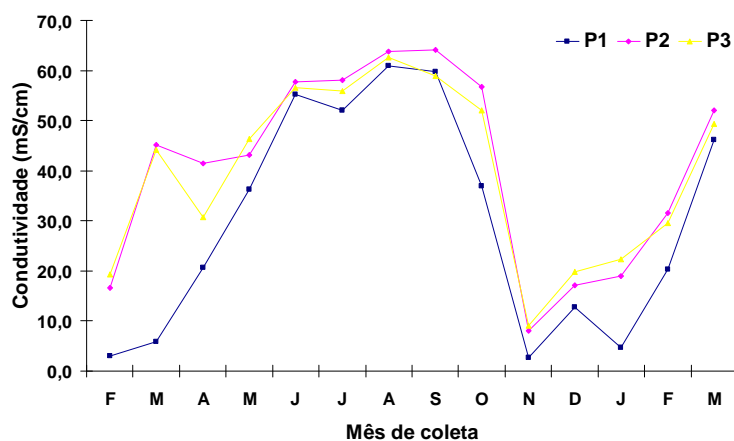


Figura 4: Série histórica referente ao parâmetro condutividade para o período de monitoramento (fevereiro/2008 a março/2009)

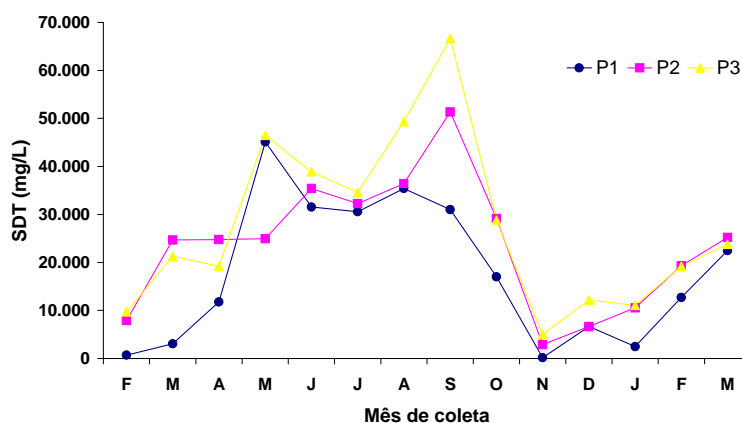


Figura 5: Série histórica referente ao parâmetro Sólidos Dissolvidos Totais (SDT) para o período de monitoramento (fevereiro/2008 a março/2009)

Analisando os resultados obtidos verifica-se que há uma grande variação entre valores máximos e mínimos na maioria dos parâmetros analisados o que se deve a variação na precipitação. Os maiores valores de turbidez e os menores valores de condutividade e SDT ocorreram em fevereiro e novembro/2008, meses em que ocorreram as maiores precipitações do período de monitoramento. Nos dias anteriores a esta coleta, ocorreram fortes chuvas na região, e com isso houve um grande aporte de água doce e turva proveniente do rio. Este fato explica os dados extremos obtidos para turbidez, condutividade elétrica e dissolvidos. Observam-se valores maiores de turbidez e menores de condutividade e SDT no ponto 1, que é ponto mais próximo ao rio e por isso sofre maior influência deste. A maior parcela dos sólidos dissolvidos é devido aos sais presentes neste sistema salobro, por isso, quanto maior a parcela de água doce no sistema, menor será o valor de sólidos dissolvidos e de condutividade.

Devido à presença constante de barcos na região, foi possível visualizar manchas de óleo sobre a água. Além disso, foram encontrados resíduos sólidos nas margens do manguezal e das casas. Conforme resolução CONAMA 357/05, em água salobra classe 1, óleos e graxas e materiais flutuantes devem ser virtualmente ausentes. O pH deve permanecer entre 6,5 - 8,5, o que ocorreu nos pontos analisados

ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

Os resultados microbiológicos do monitoramento dos 3 pontos de coletas e do sururu do mangue podem ser visualizados na tabela 3.

Tabela 3: Estatística descritiva para os resultados de Coliformes Totais e *Escherichia coli*

		Água (NMP/100mL)			Sururu do mangue (NMP/25g)
		P1	P2	P3	
CT	N	14	13	14	14
	Média geométrica	$6,15 \times 10^2$	$4,41 \times 10^2$	$1,82 \times 10^4$	$1,89 \times 10^5$
	Mediana	$6,77 \times 10^2$	$1,70 \times 10^2$	$1,11 \times 10^4$	$1,54 \times 10^5$
	Mínimo	$3,1 \times 10^1$	$8,40 \times 10^1$	$9,70 \times 10^2$	$2,00 \times 10^4$
	Máximo	$8,05 \times 10^3$	$1,14 \times 10^4$	$5,52 \times 10^5$	$4,87 \times 10^6$
<i>E. coli</i>	N	10	11	13	11
	Média geométrica	$1,58 \times 10^2$	$7,20 \times 10^1$	$2,37 \times 10^3$	$1,86 \times 10^4$
	Mediana	$1,49 \times 10^2$	$3,74 \times 10^1$	$2,00 \times 10^3$	$1,48 \times 10^4$
	Mínimo	<10	<10	$2,00 \times 10^2$	$1,00 \times 10^3$
	Máximo	$2,14 \times 10^3$	$1,05 \times 10^3$	$4,94 \times 10^4$	$4,10 \times 10^5$

A maior densidade de coliformes totais e *E. coli* foi encontrada no ponto 3 e no sururu. Em geral, não são visualizadas diferenças na densidade de coliformes totais (CT) e *E. coli* para os pontos 1 e 2, com ambas as densidades na mesma faixa logarítmica.

Os maiores valores de densidade bacteriana detectados em P3 sugerem que a contaminação proveniente do bairro Ilha das Caieiras, e provavelmente também dos outros bairros adjacentes, é um dos principais contribuintes para a contaminação do estuário. Neste ponto, pôde-se perceber visualmente diversos pontos de recebimento de efluentes, provenientes das edificações, sendo lançadas no estuário.

Quanto aos resultados de sururu, foram obtidas elevadas concentrações de bactérias ao longo do monitoramento, especialmente no período chuvoso. Comparando-se a densidade bacteriana obtida para o sururu com a encontrada no ponto 2, pode-se afirmar que o sururu foi capaz de concentrar partículas presentes na água, pois possuía em 25g de sua carne, cerca de 100 a 1000 vezes a quantidade média de bactérias presentes em 100mL da água circundante. Apesar de normalmente o sururu ser cozido antes do consumo, outros mariscos tais como ostras, são consumidas cruas, e acarretam elevado risco em seu consumo, assim como os mexilhões que são mal cozidos.

Densidades elevadas de bactérias na região já foram relatadas anteriormente. Jesus et al. (2006) detectaram elevadas concentrações de coliformes totais (até 3×10^5 NMP/25g) e *E. coli* (até $5,5 \times 10^3$ NMP/25g) na carne do



sururu analisado. No presente trabalho foi possível detectar até $4,87 \times 10^6$ NMP/25g de coliformes totais e até $4,1 \times 10^5$ NMP/25g de *E. coli* no sururu. Na água, detectaram até 10^4 NMP/100mL de *E. coli* na água, o mesmo obtido no presente trabalho.

A maior densidade de coliformes observadas nos 3 pontos de coleta ocorreu no mês de fevereiro/2008, coincidindo com o maior valor de precipitação acumulada ocorrido ao longo do monitoramento (figura 2). Os valores mais elevados obtidos para coliformes totais e *E. coli* no período chuvoso podem estar relacionados a um maior influxo de água do rio no estuário e de água de escoamento proveniente dos bairros adjacentes. Em eventos chuvosos, o escoamento superficial (*runoff*) pode contribuir para o aumento da concentração de contaminantes. Jordão e Pessoa (1995) relatam que em áreas de carência de infra-estrutura, há muito esgoto sanitário ligado à drenagem pluvial e por isso a lavagem das ruas nessas áreas constitui uma contribuição equivalente ao de esgotos domésticos primários. Von Sperling (2005) também afirma que as águas pluviais urbanas são fontes de organismos patogênicos.

A contaminação detectada no local de estudo é preocupante, pois o estuário próximo ao bairro Ilha das Caieiras é local de intensa atividade pesqueira e também de atividades recreativas. Por isso é importante que seja verificada se essa contaminação é elevada, comparando com o limite estabelecido em legislação. Para comparação com legislação foi utilizada a média geométrica de *E. coli* durante todo o monitoramento. Conforme CONAMA 274/2000, com finalidade de balneabilidade, o ponto 3 pôde ser considerado impróprio para recreação de contato primário, com média geométrica acima de 2000 *E. coli* /100mL. Os pontos 2 e 3 mantiveram-se dentro do limite permitido para água própria satisfatória, com médias geométricas inferiores (tabela 6) a 800 NMP/100mL de *E. coli*. Conforme resolução CONAMA 357/2005, para água salobra classe 1, o limite de 1000 NMP/100mL também foi ultrapassado para o ponto 3. O limite estabelecido também por esta resolução, com a finalidade de cultivo de moluscos também foi ultrapassado para os 3 pontos analisados.

Quanto ao sururu, não houve legislação nacional que poderiam ser comparadas aos resultados obtidos. Conforme norma européia (Diretiva 91/492/CE), o valor mínimo obtido para o sururu foi mais de 17 vezes acima do limite estabelecido para mexilhão para consumo direto, sem processo de depuração.

ANÁLISES VIROLÓGICAS

Os resultados da detecção de adenovírus (AdV) em cada mês do monitoramento dos pontos de coleta de água, podem ser visualizados na tabela 4.

Tabela 4: Detecção de AdV (+) nos três pontos de coleta durante os 14 meses de monitoramento (Fev/08 a Mar/09)

Data	a Mai/05)			
	P1	P2	P3	
2008	N=14			Sururu
Fev		+	+	N=13
Mar	+			+
Abr		+		+
Mai		+		+
Jun	+	+	+	+
Jul	+	+	+	+
Ago	+	+	+	+
Set	+	+	+	+
Out	+	+	+	+
Nov	+	+	+	+
Dez	+	+	+	+
2009				
Jan	+	+	+	+
Fev	+		+	+
Mar	+			+
Total amostras +	11	11	10	13
%	78.6	78.6	71.4	100

Nota-se que em todos os meses, este vírus foi encontrado nos mariscos, indicando uma concentração deste vírus em seu tecido. O adenovírus foi detectado em 78,6% das amostras dos pontos 1 e 2 e em 71,4% das amostras do ponto 3. Considerando o total de 42 amostras de água, referentes aos 3 pontos do sistema estuarino da Baía de Vitória, foram obtidas 32 amostras positivas para adenovírus (76,7%). Resultados positivos em gel de agarose podem ser visualizados na figura 5.

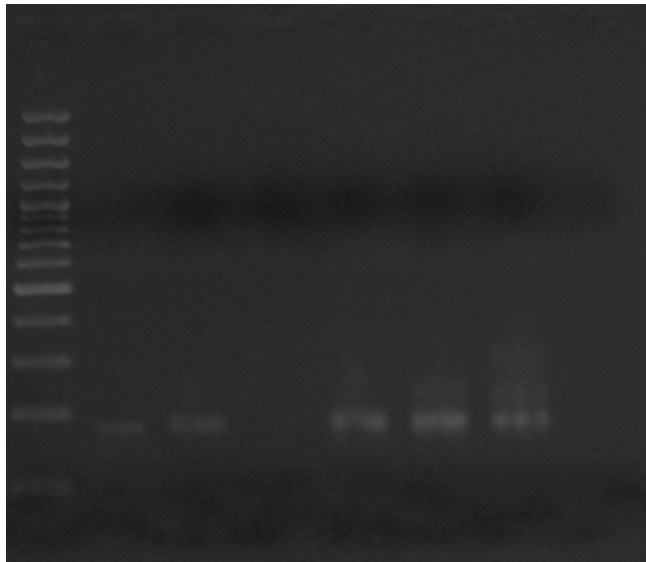


Figura 6: Resultado para Adenovírus. Visualização em gel de agarose 1,8% do produto de nested-PCR. M: Marcador de peso molecular de 100pb; Linha 1: Banda referente a amostra de sururu do mês de Janeiro/2008, Linhas 2-4: Bandas referentes às amostras P1, P2, P3 e sururu, de fevereiro/2009, respectivamente. As amostras foram positivas (banda de 173pb) exceto para P1; Linha 5: Controle positivo; Linha 6: Controle negativo

O adenovírus já foi sugerido como indicador de contaminação viral em amostras ambientais (PINA et al., 1998) devido sua maior estabilidade em diversos ambientes, presença em praticamente todas as amostras de esgoto e maior resistência a alguns tratamentos de desinfecção (UV, cloro) do que outros vírus (GERBA et al. 2003; THURSON-ENRIQUEZ et al., 2003).

A detecção de partículas virais pela técnica PCR pode exceder a persistência da infectividade viral (HERNROTH; ALLARD, 2007). Porém, devido ao influxo constante de água contaminada com material fecal, evidenciado pela presença de *E. coli*, e elevada capacidade de concentração dos mexilhões, também há possibilidade de constante reinfecção do sururu com partículas virais.

No presente trabalho foram detectadas amostras de água positivas mesmo em meses em que os níveis de coliformes da água estavam abaixo do limite estabelecido em legislação, indicando que limites bacterianos podem não ser seguros para avaliar a qualidade viral.

A avaliação da ocorrência de indicadores adequados no meio ambiente e alimentos contaminados, é indicada para ajudar a avaliar o real impacto da destinação inadequada de esgoto sobre a saúde da população.

CONCLUSÕES

Os valores elevados de coliformes e a presença de adenovírus no marisco, em todos os meses avaliados, são preocupantes, já que esse é comercializado e consumido pela população.

A contaminação da água com bactérias indicadores de contaminação fecal também limita o seu uso para recreação de contato primário, conforme legislação CONAMA 274/00. Além disso, organismos patogênicos (adenovírus) foram detectados em elevada prevalência nas amostras de água.



Períodos de chuvas podem diminuir a qualidade da água e dos mariscos, devido elevado carregamento de sólidos suspensos (turbidez) para o estuário e também de esgotos (valores máximos de indicadores bacterianos).

A metodologia utilizada para detecção de adenovírus de amostras de água estuarina e do sururu do mangue, foi eficiente para as amostras analisadas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALLARD, A.; ALBINSSON, B.; WADELL, G. Rapid Typing of Human Adenoviruses by a General PCR Combined with Restriction Endonuclease Analysis, *Journal of Clinical Microbiology*, v. 39, n. 2, p. 498-505, 2001.
2. APHA; AWWA; WEF. Standard Methods for Examination of Water and Wastewater. Ed.19, 1995.
3. BOOM, R.; SOL, C. J.; SALIMANS, M. M.; JANSSEN, C. L.; WERTHEIM-VAN DILLEN P. M.; VAN DER NOORDAA, J. Rapid and simple method for purification of nucleic acids. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 28, n. 3, p. 495-503, 1990.
4. BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional de Meio Ambiente. Resolução 274 de 29 de Novembro de 2000.
5. BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional de Meio Ambiente. Resolução 375 de 17 de Março de 2005.
6. CEC (Council for the European Communities), Council Directive of 15 July 1991 laying down the health conditions for the production and the placing on the market of live bivalve molluscs (91/492/EEC). *Official Journal of the European Communities*, N. L268, p.1-14.
7. CROCI, L.; DE MEDICI, D.; SCALFARO, C.; FIORE, A.; DIVIZIA, M.; DONIA, D.; COSENTINO, A.M.; MORETT, P.; COSTANTINI, G. Determination of enteroviruses, hepatitis A virus, bacteriophages and *Escherichia coli* in Adriatic Sea mussels. *Journal of Applied Microbiology*, v. 88, p. 293-298, 2000.
8. GERBA, C.P.; ROSE, J.B.; HAAS, C.N.; CRABTREE, K.D. Waterborne rotavirus: a risk assessment. *Water Research*, v.30, p.2929-2940, 1996.
9. HERNROTH, B.; ALLARD, A. The persistence of infectious adenovirus (type 35) in mussels (*Mytilus edulis*) and oysters (*Ostrea edulis*). *International Journal of Food Microbiology*, v.113, p. 296-302, 2007.
10. JESUS, H.C.; AMORIM, N.R.; ALONSO, M.K. Investigação da poluição da baía de Vitória-ES através da análise de metais, colimetria e agrotóxicos em sururu de mangue (*Mytella guyanensis*). XLVI Congresso Brasileiro de Química, 2006.
11. JORDÃO, E. P.; PESSOA, C. A. Tratamento de esgotos domésticos. 3. ed - Rio de Janeiro: ABES, 1995.
12. KATAYAMA, H.; SHIMASAKI, A.; OHGAKI, S. Development of a Virus Concentration Method and Its Application to Detection of Enterovirus and Norwalk Virus from Coastal Seawater. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 68, n.3, p. 1033-1039, 2002.
13. OMS – Organização Mundial da Saúde (*WHO – World Health Organization*). Guidelines for drinking water quality, 3 ed. Genebra, 2006.
14. PINA, S.; MONTERRAT, P.; LUCENA, F.; JOFRE, J. GIRONES, R. Viral Pollution in the environment and in Shellfish: Human Adenovirus detection by PCR as an Index of Human viruses. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 64, n. 9, p. 3376-3382, 1998.
15. THURSTON-ENRIQUEZ, J. A.; HAAS, C. N.; JACANGELO, J.; GERBA, C. B. Chlorine Inactivation of Adenovirus Type 40 and Feline Calicivirus. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 69, n. 7, p. 3979-3985, 2003.
16. TRAORE, O.; ARNAL, C.; MIGNOTTE, B.; MAUL, A.; LAVERAN, H.; BILLAUDEL, S.; SCHWARTZBROD, L. Reverse Transcriptase PCR Detection of Astrovirus, Hepatitis A Virus, and Poliovirus in Experimentally Contaminated Mussels: Comparison of Several Extraction and Concentration Methods. *Applied and Environmental Microbiology*, v.64, n.8 p. 3118-3122, 1998.
17. VON SPERLING, M. Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos, 2.ed, BH, Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, UFMG, 1996.