

# **AVALIAÇÃO HIGIÊNICO SANITÁRIA DE UMA UNIDADE DE ALIMENTAÇÃO E NUTRIÇÃO DA CIDADE DE SOBRAL – CE.**

**Jayane Xavier de MELO (1); Katiane Arrais JALES (2); Jacqueline da Silva OLIVEIRA (1),  
Maria Tamires Marques SILVA (1).**

(1) Graduanda do Curso de Tecnologia de Alimentos do Instituto Federal de Educação, Ciências e Tecnologia do Ceará – IFCE – Campus Sobral, Av. Doutor Guarany, n.317, Betânia, CEP: 62040-730, Sobral - Ceará, e-mail: jayamello@hotmail.com, jacquinedasilva@hotmail.com, tami\_marques3@hotmail.com.

(2) Docente do Curso de Tecnologia de Alimentos do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará - IFCE - Campus Sobral/Departamento de Tecnologia de Alimentos, Av. Doutor Guarany, n.317, Betânia, CEP: 62040-730, Sobral - Ceará, e-mail: katiane@ifce.edu.br.

## **RESUMO**

Atualmente as dados epidemiológicos demonstram que as UAN, principalmente os restaurantes industriais, são umas das maiores fontes de surtos de doenças veiculadas por alimentos. O presente trabalho teve como objetivo avaliar as condições higiênico-sanitárias de uma Unidade de Alimentação e Nutrição (UAN) localizada na cidade de Sobral – Ce. O perfil microbiológico dos utensílios e mãos de manipuladores da UAN foi avaliado utilizando a técnica do *swab*. As análises microbiológicas realizadas foram contagem de microrganismos aeróbios mesófilos e determinação de coliformes fecais, em utensílios e mãos de manipuladores. O ar ambiente foi monitorado por contagem de microrganismos mesófilo por meio de exposição de uma placa na área de processamento pelo tempo de 15 minutos. A contagem de microrganismos aeróbios mesófilos na palma das mãos de manipuladores demonstraram que os valores obtidos para o refeitório 1 e 2 são inferiores ao estabelecido pela legislação. Para utensílios, a contagem de microrganismos aeróbios mesófilos para o refeitório 2 apresentou-se dentro dos padrões. No entanto, o refeitório 1 demonstrou valores incontáveis para ambos utensílios. Os dados obtidos para análise de coliformes fecais nos utensílios apresentaram-se em conformidade com a legislação. A contagem de microrganismos aeróbios mesófilos para o ar ambiente demonstrou 32 colônias (refeitório 1) e 2 colônias (refeitório 2). Sugere-se realizar avaliações microbiológicas periódicas nas linhas de processamento da UAN.

**Palavras-chave:** Técnica de *swab*, unidade de alimentação, microbiologia.

## **1 INTRODUÇÃO**

De acordo com dados epidemiológicos disponíveis, as unidades de alimentação e nutrição (UAN), entre elas os restaurantes industriais, são umas das maiores fontes de surtos de doenças veiculadas por alimentos. Com o aumento do número de empresas no setor de refeições coletivas, cujo crescimento é de cerca de 20% ao ano, aumentam também as perspectivas de ocorrências de toxinfecções alimentares. Atualmente, estima-se que aproximadamente dois bilhões de refeições são produzidas anualmente em cozinhas de grande porte, atendendo a cerca de 28% da população economicamente ativa (FREITAS, 1995).

Para atender à legislação em vigor (BRASIL, 2001) e não colocar em risco a saúde dos usuários, com a veiculação de microrganismos patogênicos, deve-se controlar a contaminação e multiplicação de microrganismos nos diversos ambientes de uma UAN a fim de disponibilizar alimentos microbiologicamente seguros. O presente trabalho teve como objetivo avaliar as condições higiênico-sanitárias de uma Unidade de Alimentação e Nutrição (UAN), localizada na cidade de Sobral – Ce.

## **2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA**

### **2.1 Higiene das superfícies de contato**

Todos os equipamentos, superfícies e utensílios utilizados na indústria alimentícia devem ser submetidos à higienização e sanitização diária.

Silva Junior (2002) afirma em sua tradução do CODEX ALIMENTARIUS que, todos os equipamentos e utensílios empregados na área de processamento que possam entrar em contato com os alimentos, devem ser fabricados com material que não transmita substâncias tóxicas, odores ou gosto, que não seja absorvente, que resista à corrosão e que entre os materiais mais apropriados estão o aço inoxidável, os materiais sintéticos e os derivados de borracha.

Segundo Hazelwood e McLean (1994) jamais devemos utilizar utensílios de madeira no preparo de alimentos, uma vez que este material é muito absorvente, promovendo o acúmulo de microrganismos, que podem rapidamente causar intoxicação e contaminação cruzada dos produtos alimentícios.

Equipamentos e utensílios com higienização deficiente têm sido responsáveis, isoladamente ou associados a outros fatores, por surtos de doenças de origem alimentar ou por alterações de alimentos processados (ANDRADE e MACÊDO, 1996). Há relatos de que utensílios e equipamentos contaminados participam do aparecimento de aproximadamente 16% dos surtos (FREITAS, 1995). Cortadores de frios, cortadores de legumes, bandejas, pratos, talheres, tabuleiros, amaciadores de carne, entre outros, devem passar constantemente por uma avaliação microbiológica para controle da eficiência do procedimento de higienização, evitando-se a contaminação dos alimentos produzidos (ANDRADE e MACÊDO, 1996).

A higienização adequada dos equipamentos e utensílios bem como a do próprio manipulador é um dos fatores mais importantes para o controle da qualidade do produto.

### **2.2 Higiene dos manipuladores de alimentos**

De acordo com dados da Organização Mundial de Saúde (OMS), os manipuladores são responsáveis direto ou indiretamente por até 26% dos surtos de enfermidades bacterianas veiculadas por alimentos (FREITAS, 1995). Em várias pesquisas, tem-se demonstrado a relação existente entre manipuladores de alimentos e doenças bacterianas de origem alimentar. Podem ser manipuladores doentes, portadores assintomáticos ou que apresentem hábitos de higiene pessoal inadequados, ou ainda que usem métodos anti-higiênicos na preparação de alimentos (CARDOSO *et al.*, 1996). Mesmo os manipuladores sadios abrigam bactérias que podem contaminar os alimentos pela boca, nariz, garganta e trato intestinal.

Para Silva Junior (2001), resultados satisfatórios para higiene das mãos é ausência de coliformes termotolerantes, *Staphylococcus* coagulase e outros. Ainda segundo o autor para que as mãos de manipuladores sejam consideradas limpas, essas devem ser higienizadas a cada uma hora.

A higiene do ambiente e as condições do local da cozinha podem contribuir decisivamente para manutenção da qualidade original dos alimentos, podendo atuar como fonte de contaminantes e/ou condições ambientais que agem como coadjuvantes no processo de contaminação e deterioração dos alimentos.

### **2.3 Indicadores de contaminação de alimentos**

Microrganismos indicadores constituem grupos ou espécies de microrganismos que, quando presentes em um alimento, fornecem informações sobre as condições higiênico-sanitárias do produto analisado, no tocante à contaminação de origem fecal, a provável presença de patógenos ou a deterioração potencial do alimento (FRAZIER e WESTHOFF, 1993).

Os principais grupos de microrganismos indicadores são: psicrotróficos, mesófilos, termófilos, bactérias anaeróbias, indicadores de contaminação fecal, que incluem coliformes totais, coliformes termotolerantes, *Escherichia coli*, família *Enterobacteriaceae*, enterococos e *Clostridium perfringens*; ainda são indicadores

*Staphylococcus aureus*, bactérias mesófilas produtoras de esporos, clostrídios sulfito redutores, bolores e leveduras, microrganismos halófilos, proteolíticos, lipolíticos e osmofílicos (SILVA JÚNIOR, 2002). O grupo a ser escolhido dependerá das características do alimento, já que a pesquisa de todos os indicadores se tornaria onerosa e demorada.

O grupo de coliformes totais é composto por mais de vinte espécies pertencentes à família *Enterobacteriaceae*, capazes de fermentar a lactose com produção de gás, quando incubados a 35-37°C por 48 horas. São bacilos gram-negativos e não formadores de esporos.

A presença de coliformes totais nos alimentos não indica, necessariamente, contaminação fecal recente ou ocorrência de enteropatógenos (APHA, 2001). No entanto, a presença de coliformes totais em alimentos processados é considerada uma indicação útil de contaminação pós-sanitização ou pós-tratamento térmico, indicando falhas higiênicas ao longo do processamento e armazenamento do produto ou deficiência do tratamento térmico, já que não são organismos esporulados. As bactérias pertencentes ao grupo dos coliformes termotolerantes apresentam a capacidade de continuar fermentando a lactose com produção de gás, quando incubadas à temperatura de  $45 \pm 0,2^\circ\text{C}$ . Nessas condições, aproximadamente 95% das culturas são positivas para *E. coli*. A pesquisa de coliformes termotolerantes e de *Escherichia coli* nos alimentos fornece com maior segurança informações sobre as condições sanitárias do produto e melhor indicação da eventual presença de enteropatógenos (APHA, 2001). Atualmente, sabe-se, que o grupo dos coliformes inclui pelo menos três gêneros: *Escherichia*, *Enterobacter* e *Klebsiella*, dos quais incluem cepas de origem não fecal (água, solo, vegetais). Por esse motivo, a presença de coliformes termotolerantes é menos representativa, como indicação de contaminação fecal, do que a enumeração de *Escherichia coli*, porém muito mais significativa do que a presença de coliformes totais, dada a alta incidência de *Escherichia coli* dentro do grupo fecal. Embora a *Escherichia coli* possa ser introduzida nos alimentos a partir de fontes não fecais, é o melhor indicador de contaminação fecal conhecido até o momento (SILVA *et al.*, 2001).

### 3 MATERIAL E METODOS

#### 3.1 Coleta de amostras

O perfil microbiológico dos utensílios e mãos de manipuladores da UAN foi avaliado utilizando a técnica do *swab*. A avaliação microbiológica foi realizada na palma das mãos de dois manipuladores, o primeiro ficava responsável pelo processamento de saladas cruas e o segundo pela preparação a quente dos alimentos (cozinheiro). Após a coleta as amostras foram transportadas em caixa isotérmica com gelo reciclável do tipo *blue ice*, em temperatura inferior a 10°C (Figura 1 e 2) até o Laboratório de Microbiologia de Alimentos do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia – IFCE – Campus Sobral. Os ensaios foram realizados no período de maio a junho de 2010, em dois lotes. No lote I foram realizadas análises de *swab* no refeitório 1 e no lote II análises microbiológicas no refeitório 2. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

#### 3.2 Análises microbiológicas

As análises microbiológicas envolveram a contagem de microrganismos aeróbios mesófilos e determinação de coliformes fecais (NMP/cm<sup>2</sup>), utilizando a técnica do *swab*, em utensílios (previamente higienizados) e mãos de manipuladores, durante o processamento de alimentos. O ar ambiente foi monitorado por contagem de microrganismos mesófilos (UFC/cm<sup>2</sup>) por meio de exposição de uma placa na área de processamento por um tempo de 15 minutos. Essas análises foram realizadas conforme metodologia descrita no Manual de Métodos de Análises Microbiológicas de Alimentos (SILVA *et al.*, 2001) e no "Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods" (APHA, 2001).

##### 3.2.1 Técnica do Swab

Na técnica do *swab* uma *zaragatoa* (chumaço de algodão esterilizado, montado em estilete de madeira), previamente umedecida em tubo contendo 4 mL de água peptonada a 0,1%, colheu-se o material das mãos dos manipuladores, mergulhando novamente a *zaragatoa* no tubo. Terminado a coleta, este material foi transportado sob refrigeração para o laboratório, e lá foram preparadas as diluições 10<sup>-1</sup>, 10<sup>-2</sup> e 10<sup>-3</sup> a partir do tubo contendo a *zaragatoa*, fez-se a distribuição de 1 mL de cada diluição no centro das placas Petri estéreis, em seguida, adicionando-se cerca de 15 mL de Agar Padrão para contagem total fundido e resfriado a  $45^\circ \pm 1^\circ\text{C}$  em superfície plana, submetendo a placa a duas séries alternadas de cinco movimentos rotativos, deixando solidificar. As placas foram incubadas invertidas a  $37^\circ \pm 1^\circ\text{C}$  por 48 horas.

### 3.2.2 Contagem de microrganismos aeróbios mesófilos

A população de microrganismos aeróbios mesófilos foi quantificada pelo método de plaqueamento em profundidade em ágar para contagem padrão. As placas foram incubadas a 35°C por 48 horas e o resultado expresso em unidades formadoras de colônia por grama do produto (UFC/cm<sup>2</sup>).

A determinação de microrganismos aeróbios mesófilos pela técnica do *swab* foi realizada em dois utensílios, nas mãos de dois manipuladores de alimento e no ar ambiente da linha de processamento da UAN.

### 3.2.3 Coliformes fecais

A determinação do número mais provável de coliformes fecais (NMP/cm<sup>2</sup>) foi realizada por meio de teste presuntivo em caldo lactosado incubado a 35°C por 48 horas. As culturas com produção de gás foram reinoculadas em caldo de *Escherichia coli* (EC), incubadas em banho-maria á 45°C por 24 horas.

A determinação de coliformes fecais pela técnica do *swab* foi realizada em dois utensílios (Figuras 1) e nas mãos de dois manipuladores de alimento (Figuras 2).



Figura 1: Coleta de *swab* em utensílio do refeitório.



Figura 2: Coleta de *swab* das mãos de manipuladores

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.

Os resultados das análises microbiológicas de mãos de manipuladores, utensílios e ar ambiente estão expressos na Tabela 1.

**TABELA 1: Valores médios da população de microrganismos presentes nas mãos de manipuladores, utensílios e no ar ambiente durante a produção de alimentos da UAN.**

Amostras	Microrganismos aeróbios mesófilos (UFC/mão, UFC/cm <sup>2</sup> )		Coliformes fecais (NMP/mão e NMP/cm <sup>2</sup> )	
	Refeitório 1	Refeitório 2	Refeitório 1	Refeitório 2
Manipulador 1	$7,6 \times 10^{-2}$	$4,1 \times 10^{-2}$	<3	<3
Manipulador 2	$3,8 \times 10^{-2}$	$2,1 \times 10^{-2}$	<3	<0
Utensílio 1	Incontável	$3,5 \times 10^{-2}$	<3	3
Utensílio 2	Incontável	$1,0 \times 10^{-2}$	3	14
Ar ambiente	32	2	-	-

Para a contagem de microrganismos aeróbios mesófilos na palma das mãos de manipuladores os valores obtidos para o refeitório 1 e 2 são inferiores ao estabelecido pela legislação ( $10 \times 10^{-2}$  UFC/mão) indicando condições higiênico-sanitárias satisfatórias para os manipuladores da área de processamento de alimentos (APHA, 1992).

Aguiar *et. al.*, (2006), em pesquisas de *swab* de mão de manipuladores de alimentos de uma creche do município de São Paulo, relata a ausência desses microrganismos, o que segundo o autor é um indicativo de condições higiênico sanitárias satisfatórias.

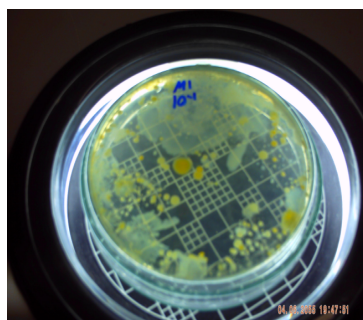
Os resultados obtidos para coliformes fecais das mãos de manipuladores revelaram que as amostras (100%) encontram-se de acordo com o padrão federal vigente, para o refeitório 1 e 2, sendo consideradas, portanto, pela legislação em condições sanitárias satisfatórias (APHA, 1992).

Para Silva Junior (2001), resultados satisfatórios para higiene das mãos é ausência de coliformes termotolerantes, *Staphylococcus* coagulase e outros. Ainda segundo o autor para que as mãos de manipuladores sejam consideradas limpas, essas devem ser higienizadas a cada uma hora.

Para utensílios, a análise de contagem de microrganismos aeróbios mesófilos para o refeitório 2 apresentou-se dentro dos padrões estabelecidos pela legislação ( $10 \times 10^{-2}$  UFC/cm<sup>2</sup>). No entanto, para o refeitório 1 o resultado foi incontável para ambos utensílios deste refeitório, indicando uma microbiota muito elevada, que possivelmente ocorre em virtude dos utensílios permanecerem expostos na área de atendimento, bem como, sua manipulação por vários funcionários. Tais resultados indicam que estes utensílios constituem-se em veículo na transferência de microrganismos para os alimentos.

Os dados obtidos para coliformes fecais dos utensílios apresentaram-se acordo com a legislação, tanto para o refeitório 1 como para o refeitório 2.

A contagem de microrganismos aeróbios mesófilos para o ar ambiente demonstrou 32 colônias para o refeitório 1, enquanto que o refeitório apresentou duas colônias. Segundo o Apha (1992) os ambientes estão adequados ao processamento de alimentos quando apresentarem contagem de microrganismos aeróbios mesófilos de até  $3,0 \times 10^1$  UFC/cm<sup>2</sup>/semana. Fundamentado nessa legislação o refeitório 2 apresenta boas condições higiênico sanitárias ao processamento de alimentos.



**Figura 3: Contagem de bactérias aeróbias mesófilas do refeitório 1.**

Muitas vezes, essa recomendação americana da APHA pode ser considerada rígida para os restaurantes brasileiros, em razão principalmente das condições de temperatura ambiental, portanto, admite-se, por exemplo, contagens de até  $1,0 \times 10^2$  UFC/cm<sup>2</sup>/semana, para o ar ambiente de restaurantes.

A metodologia analítica usada, que consiste na contagem de partículas (microrganismos) viáveis em uma determinada área por um definido período de tempo, sem dúvida, apresenta várias limitações e, na realidade, indica um nível aproximado de contaminação do ambiente avaliado. É uma técnica classificada como classe D pela APHA, ou seja, uma metodologia que já foi considerada padrão, mas que está sendo substituída por técnicas mais eficientes. Além disso, a técnica de sedimentação simples não recupera alguns tipos de microrganismos presentes no ar. No entanto, é uma técnica recomendada por um órgão reconhecido internacionalmente e, por isso, é útil na avaliação de ambientes nos restaurantes industriais. Deve-se frisar, porém, que as técnicas que avaliam volumes de ar fornece resultados mais confiáveis. Dentre essas últimas, incluem-se as técnicas da membrana filtrante, precipitador eletrostático e impressão em ágar (SVEUM *et al.*, 1992; SALUSTIANO *et al.*, 2001).

Segundo Andrade *et al.*, (2003), em avaliação das condições microbiológicas em unidade de alimentação e nutrição obteve 77 UFC/cm<sup>2</sup>/semana para ambientes refrigerados e 212 UFC/cm<sup>2</sup>/semana para ambientes não refrigerados. Valores que se encontram muito acima da contagem obtida no presente estudo.

Kochanski *et al.*, (2009), em avaliação das condições microbiológicas de uma unidade de alimentação demonstrou contagem de bolores e leveduras na coleta 1 valor máximo de  $7,7 \times 10^3$  UFC/cm<sup>2</sup>/semana, para coleta 2 valores variando de  $6,6 \times 10^3$  a  $1,0 \times 10^4$  UFC/cm<sup>2</sup>/semana e para a coleta 3 contagem máxima de  $5,2 \times 10^2$  UFC/cm<sup>2</sup>/semana. Valores estes bem superiores aos encontrados no presente estudo.

Faz-se necessário a definição especificações ou de recomendações mais adequadas às condições brasileiras para o controle microbiológico de ambientes.

## 5. CONCLUSÃO

- A contagem de microrganismos aeróbios mesófilos e coliformes fecais das mãos dos manipuladores demonstrou condições higiênico-sanitárias satisfatórias;
- Para utensílios, a análise de contagem de microrganismos aeróbios mesófilos para o refeitório 2 apresentou-se dentro dos padrões estabelecidos pela legislação enquanto que o refeitório 1 não atendeu às recomendações da APHA;
- O ar ambiente do refeitório 1 demonstrou contagem de aeróbios mesófilos em desacordo com a legislação da APHA;
- Em virtude dos utensílios do refeitório 1 demonstrarem contaminação (incontável) e no ar ambiente do refeitório 2 ter-se constatado contagem de colônias acima de  $3,0 \times 10^2$  UFC/cm<sup>2</sup>/semana, sugere-se realização de avaliações microbiológicas periódicas nas linhas de processamento da unidade de alimentação e nutrição;
- Além disso, há necessidade de definição de padrões ou recomendações mais adequados às condições brasileiras para o controle microbiológico nas unidades de alimentação e nutrição.

## REFERÊNCIAS

AGUIAR, C. de, PEREIRA, L., MAZZONETTO, C., SIMONY, R.F., GINEFRA, I., MARÇAL, T. **Implementação de boas práticas de manipulação em uma creche do município de São Paulo**. Cadernos. Centro Universitário S. Camilo, São Paulo, v.12, n.1, p.47-57, jan./mar.2006.

ANDRADE, N. J.; MACÊDO, J. A. B. **Higiene na indústria de alimentos**. São Paulo: Varela, p.189p. 1996.

ANDRADE, N. J.de, SILVA, R. M. M.da, BRABES, K.C.S. **Avaliação das condições microbiológicas em unidades de alimentação e nutrição**. Ciênc. agrotec., Lavras. V.27, n.3, p.590-596, maio/jun., 2003

APHA. **Compendium of methods for the examination of foods**. American Public Health Association. 3rd ed., Washington: 1992. 121p.



APHA – AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. Committee on Microbiological for Foods. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4.ed. Washington: American Public Health Association, 2001. 676p.

BRASIL. **Resolução – RDC n. 12, 2 de janeiro de 2001**. Estabelece padrões microbiológicos de alimentos. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Ministério da Saúde, 2001.

CARDOSO, R. C. V.; CHAVES, J. B. P.; ANDRADE, N. J.; TEIXEIRA, M. A. Avaliação da eficiência de agentes sanitizantes para mãos de manipuladores de alimentos em serviços de refeição coletiva. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 10, n. 41, p. 17-22, jan./fev. 1996.

FRANZIER, W. C.; WESTHOFF, D. C. **Food Microbiology**. New York: Mc Graw Hill, 1988.

FREITAS, L. H. **Sistemas especialista para diagnostico de toxinfecções de origem bacteriana**. 1995. 97p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa.

HAZELWOOD, D.; McLEAN, A. C. **Manual de higiene para manipuladores de alimentos**. São Paulo: Livraria Varela, 1994.

KOCHANSKI, S., PIEROZAN, M.K., MOSSI, A.J., TREICHEL, H., CANSIAN, R.L., GHISLENI, C.P., TONIAZZO, G. **Avaliação das condições microbiológicas de uma Unidade de Alimentação e Nutrição**. Alim. Nutr., Araraquara v.20, n.4, out./dez. 2009

MASSAUT, K.B.; DECOL, L.T.; MOURA, T.M. de; ORTIZ, A.S.; ALEIXO, J.A. **Validação de procedimentos de higienização de uma unidade de alimentação e nutrição da cidade de Pelotas/RS**. XVII Congresso de Iniciação Científica e X Encontro de Pós-graduação, 2008.

SALUSTIANO, V. C.; BRABES, K. C. S.; ANDRADE, N. J. **Ar de ambientes de processamento de um abatedouro: avaliação e controle por agentes químicos sanitizantes**. Revista Nacional da Carne, São Paulo, v. 25, n. 293, p. 154-152, 2001. SENAC. Manual de elementos de apoio para o Sistema APPCC. Rio de Janeiro: SENAC/DN, 2001.282 P. (Qualidade e Segurança Alimentar).

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos**. 2ª ed. Livraria Varela. São Paulo, 2001. 229 p.

SILVA JUNIOR, Enio Alves da. **Manual de Controle Higiênico Sanitário em serviços de alimentação**. São Paulo, Editora Varela, 6ª edição, 2001.

SILVA JUNIOR, E. A. **Manual de Controle Higiênico-Sanitário em Alimentos**. 5 ed. São Paulo, Livraria Varela, 2002. 479p.

SVEUM, W. H.; MOBERG, L. J.; RUDE, R. A.; FRANK, J. F. **Microbiological monitoring of the food processing environment**. In: VANDERZANT, C.; SPLITTSTOESSER, D. F.; SPECK, M. L. (Eds.). Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 3. ed. Washington: APHA, 1992. cap. 3, p. 51-74