DETERMINAÇÃO DO NMP (NÚMERO MAIS PROVÁVEL) DE BACTÉRIAS COLIFORMES E DE COLIFORMES FECAIS EM ÁGUAS USADAS NA DESSEDENTAÇÃO DE ANIMAIS EM PROPRIEDADES DA REGIÃO DE BOTUCATU, ESTADO DE SÃO PAULO, 1974/75

LUIZ CARLOS DE SOUZA

Dissertação de Mestrado apresentada à Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, Departamento de Prática de Saúde Pública, para obtenção do título de Mestre em Saúde Pública.

Orientador: Prof. Dr. Gil Vianna Paim

SÃO PAULO
1978

E R R A T A

Localização	Onde se lê	Leia-se
Pág. 4 3º § 2a. linha	águas artezinas ou semi-artezianas	águas artesianas ou semi-artesianas
Pág. 5 3º § 7a. linha	vírus echo	vírus ECHO
Pág. 5 4º § 3a. linha	vibrio comma	vibrio cholerae
Pág. 15 1º § 4a. e 5a. linhas	em um tubo de caldo lactosado com tubo de Durham, à temperatura de 35°C ± 0,5°C por 24 horas ± 2 horas	em um tubo de caldo lactosado com tubo de Durham, e um tubo de agar simples inclinado à temperatura de 35°C ± 0,5°C por 24-48 horas ± 2 horas os primeiros e a 35°C ± 0,5°C por 24 horas ± 2 horas os segundos
Pág. 15 4º § 6a. linha	44,5°C ± 0,5°C	44,5°C ± 0,2°C
Pág. 18 Tabela 1 Município de Itatinga - propriedade nº 20		20 M1 230 4,5 B1 230 11 B2 950 91
Pág. 33 Referência Bibliográfica 19 - 2a. linha	en um municipio	en un municipio

A meus pais, pelo carinho,
estímulo e compreensão.

A minhas filhas
Ligia e Lidia

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Gil Vianna Paim, pela orientação deste trabalho e apoio constante.

Ao Prof. Dr. Sebastião Timo Iaria, pela sua dedicação e sugestões apresentadas.

Ao Prof. Dr. Gilberti Moreno, pela cessão dos laboratórios do Departamento de Microbiologia do Campus de Botucatu, para a realização da parte experimental do trabalho.

Ao Prof. Dr. Carlos Alberto Magalhães Lopes, pelo pronto auxílio quando da realização da parte experimental.

Aos funcionários Antonio Horácio Conceição, Antônio Corrêa e Celso Paven, pelo auxílio dispensado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelos subsídios concedidos através de Bolsa de Estudo, mediante a qual, foi possível a realização dos Cursos de Saúde Pública para Graduados e de Pós-Graduação em Saúde Pública, a nível de Mestrado, na Faculdade de Saúde Pública, U.S.P.

À bibliotecária Daisy Pires Noronha, pela orientação e sugestões nas referências bibliográficas.

A todos que direta ou indiretamente contribuiram para a realização deste trabalho.

I N D I C E

pág.

1. INTRODUÇÃO 1

2. MATERIAL E METODOS 11

2.1. Procedência das amostras 11

2.2. Colheita das amostras 11

2.3. Informações obtidas nos estabelecimentos de criação de animais 12

2.4. Exame bacteriológico 13

2.4.1. Determinação dos NMP de coliformes por 100 ml de amostra 13

2.4.2. Determinação dos NMP de coliformes de origem fecal por 100 ml de amostra 15

3. RESULTADOS 16

4. DISCUSSÃO 25

5. CONCLUSÕES 29

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 31

RESUMO

O objetivo deste trabalho é fornecer informações a respeito da qualidade sanitária das águas utilizadas na dessedentação de animais na região de Botucatu, Estado de São Paulo, 1974/75.

Utilizaram-se 105 amostras de água, sendo 44 de mananciais e 61 de bebedouros, a partir das quais foram feitas as determinações dos NMP de bactérias coliformes e de coliformes de origem fecal, de acordo com a 13a. edição do "Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater", da Associação Americana de Saúde Pública.

De acordo com a Portaria GM/0013/15/Jan/1976 da Secretaria Especial do Meio Ambiente do Ministério do Interior, os 44 mananciais revelaram-se dentro dos parâmetros estabelecidos. Embora não haja referência para bebedouros, aplicando-se os valores estabelecidos para os mananciais, das 61 amostras estudadas somente 6 não poderiam ser usadas para a dessedentação dos animais.

Das 105 amostras examinadas verificou-se que as condições sanitárias revelaram-se de boa qualidade, exceto 6 amostras de bebedouros com relação a coliformes fecais sendo 3 delas também em relação a coliformes totais.

SUMMARY

The objective of the present experiment was get information on sanitary quality of water to quench the thirst of animals in Botucatu region, State of Sao Paulo, 1974/75.

From 105 water samples, of which 44 were from fountains and 61 from watering troughs, determinations of NMP of coliform bacteria and fecal coliform bacteria were made, according the 13th edition of "Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater", of the American Public Health Association.

According to the government directive (Interior Ministry), the 44 fountains showed to be in accordance with the established parameters. As this government directive does not make reference to watering troughs, applying the some values established for fountains, we observed that from 61 of the samples examined only 6 proved to be outside the parameters.

Of the 105 samples examined all showed good sanitary conditions, except 6 samples of the watering troughs in relation to fecal coliforms. Of these 6 samples 3 showed bad sanitary conditions too, but only regarding total coliforms.

1. INTRODUÇÃO

Como a água constitui um elemento imprescindível à vida, tanto animal quanto vegetal, é necessário que se adotem medidas para garantir, tanto quanto possível, suas características, tornando-a própria ao consumo.

Por outro lado, quanto às necessidades dos animais relativamente ao consumo de água, é sabido que as mesmas variam, entre outros fatores, com a espécie, tipo de criação, alojamento, condições do ambiente e natureza da dieta. Assim, animais que consomem rações secas, como por exemplo feno e alfafa, necessitam mais água do que os que se alimentam de forragens verdes. Os alimentos secos, como as tortas de semente de soja, estimulam os animais a beber mais água. Aves poedeiras consomem mais água do que as não poedeiras. Vacas em fase de produção leiteira têm necessidade de beber maior quantidade de água do que quando estão secas. Em épocas quentes do ano os animais consomem mais água do que nas épocas frias. Segundo DYKSTRA (1970)[12], MANUAL MERCK (1970)[17] e TEMPLETON (1968)[23], pode-se considerar o seguinte consumo médio diário de água para algumas espécies animais:

Pintos e frangos - de 1 dia a 2 semanas de idade - 4 litros/dia/100 aves

Galinhas poedeiras - 30 litros/dia/100 aves

Bezerros - 24 a 32 litros/dia/animal

Gado de corte - Inverno - 10 litros/dia/animal
Verão - até 48 litros/dia/animal

Gado leiteiro - 60 litros/dia/animal

Touros - cerca de 40 litros/dia/animal

Suínos - Inverno - 120 litros/dia/20 suínos
Verão - 200 litros/dia/20 suínos
Confinamento - 400 litros/dia/20 suínos

Equinos - 20 a 48 litros/dia/20 suínos

Ovinos - Inverno - 4 litros/dia/animal
Ovelha amamentando - 6 litros/dia/animal
Carneiros em engorda - 2 litros/dia/animal

Cães - 50 ml/quilo de peso/dia

Gatos - Jovens - 60-80 ml/quilo de peso/dia
Adultos - 40-60 ml/quilo de peso/dia

Coelhos - Fêmea com média de 7 filhotes - 3,8 litros/dia

Pelos dados expostos, verifica-se que a água constitui um importante fator na dieta alimentar diária dos animais.

Deve-se ainda levar em conta que ao se eleger um tipo de exploração agropecuária, além de serem estudadas as possibilidades de eliminação de águas residuárias e excretas, deverá ser estabelecido também se o abastecimento de água é suficiente em quantidade e/ou qualidade. Nas granjas de gado leiteiro com produção em escala industrial deve-se ter em conta, por exemplo, que uma vaca precisa de 3 litros de água para produzir um litro de leite. Deduz-se disto que, em caso de escassez de água, a produção de leite em estabelecimento deste tipo, pode diminuir em milhares de litros por dia. Por outro lado, uma exploração deste tipo deve contar com meios de prevenção contra as enfermidades infecciosas; para tal, o abastecimento deve ser feito com água potável. A ausência de controle de qualidade da água deve conduzir fatalmente, a curto ou a longo prazo, a infecções e intoxicações, que podem ter consequências imprevisíveis para o desenvolvimento do estabelecimento de criação (VON DER AA, 1971).[26]

A água destinada ao consumo humano e animal deve ser isenta de contaminantes químicos ou biológicos, além de apresentar certos requisitos de ordem estética. Entre os contaminantes químicos, estão compreendidos as substâncias

tóxicas, inclusive as de origem orgânica. Entre os contaminantes biológicos são citados organismos patogênicos, compreendendo vírus, bactérias, protozoários e helmintos que, veiculados pela água podem, através da sua ingestão, parasitar o organismo humano ou animal (BRANCO, 1974).[5]

As doenças infecciosas e parasitárias que ocorrem nos animais domésticos, principalmente em bovinos, suínos e aves, representam fatores importantes para a economia e a saúde pública, pois podem acarretar prejuízos econômicos, às vezes, elevados e, muitos dos seus agentes causais podem ser transmitidos ao homem.

Nessas doenças, a água usada na dessedentação dos animais é de grande importância, pois muitos agentes podem ser veiculados por ela. Assim, a água que é um alimento, transforma-se numa importante e perigosa fonte de infecções e infestações quando não são tomados os devidos cuidados com relação à sua obtenção, armazenamento e distribuição.

Foi a partir da publicação de John Snow sobre uma epidemia de cólera que atingiu um bairro de Londres, em 1849, causando em 10 dias 521 mortes, que se tomou conhecimento do papel desempenhado pela água de bebida, na transmissão de agentes causais de doenças infecciosas. O autor inglês pesquisando com método epidemiológico comprovou, em um excelente estudo, o papel da água do poço da Broad Street na disseminação da doença (CHRISTOVÃO, 1974).[6]

Posteriormente, a descoberta dos agentes de doenças infecciosas e intestinais, como por exemplo: Entamoeba histolytica em 1875, Salmonella typhi em 1880, Shigella dysenteriae em 1898, Salmonella paratyphi em 1900, e de sua eliminação pelas fezes, forneceu as informações necessárias para a compreensão do papel da água na transmissão de doenças infecciosas e parasitárias. Assim, a partir destas datas, maiores cuidados têm sido tomados com relação à proteção das águas, passando as mesmas a serem submetidas a exames de natureza

variada e de maneira contínua, visando-se a defesa das populações abastecidas (CHRISTOVÃO, 1974).[6]

Segundo DIESCH (1970)[11], tem aumentado o interesse pela reavaliação do papel desempenhado pela água na transmissão de agentes causais de zoonoses, dado que isto não tem sido considerado adequadamente. Segundo este autor, tal fato deve-se à escassez de estudos epidemiológicos em casos de zoonoses, com a finalidade de determinar a fonte de infecção. Entretanto, há casos registrados de doenças infecciosas de origem animal no homem e nos animais, relacionados à transmissão pela água e, principalmente, associados a agentes bacterianos. Por outro lado, é pouco conhecido o papel da água como veículo de transmissão ao homem, de virus e outros agentes provenientes do animal.

DYKSTRA (1970)[12] refere que microrganismos causadores de muitas enfermidades dos animais, podem viver na água durante muito tempo e serem por ela transmitidos. Isto ocorre, por exemplo, com o Bacillus anthracis e Salmonella sp, e também com o vírus da febre aftosa, peste suína, cinomose, etc. Menciona ainda que o maior perigo está representado por águas contaminadas por fezes, não só pelos microrganismos que podem arrastar, como também pela possibilidade de veicular ovos de helmintos que atingindo o organismo de animais suscetíveis, podem produzir casos de verminoses. Continuando, esse autor refere que como norma geral, pode-se afirmar que as águas dos rios não são muito adequadas para o consumo dos animais, sobretudo quando as correntes passam por zonas com intensa exploração pecuária. Por outro lado, se os rios correm entre arvoredos ou em campo aberto, por zonas com pequeno número de animais de criação, as suas águas podem ser aproveitadas sem inconvenientes.

De outra parte, BLOOD & HENDERSON (1969)[3] relatam que as águas artezianas ou semi-artezianas têm com frequência grande teor de flúor; que águas de poços superfici-

sis em terrenos com abundante matéria orgânica podem conter excesso de nitratos; que águas de lagos comumente mostram-se cobertas por algas as quais podem produzir neurotoxinas ou agentes hepatotóxicos; que riachos de água corrente, em determinados casos, levam em solução produtos residuais de zonas industriais vizinhas.

Segundo HIPÓLITO & FREITAS (1963)[16] as seguintes doenças, entre outras, podem ser transmitidas pela água: eimeriose das galinhas, leptospirose, carbúnculo hemático, brucelose, necrobacilose, paratifo dos bezerros, tifo aviário, curso branco dos bezerros, peste aviária e cinomose.

BLOOD & HENDERSON (1969)[3] consideram as seguintes doenças como podendo ser veiculadas pela água: coccidiose, leptospirose, disenteria invernal dos bovinos, carbúnculo hemático, botulismo, tuberculose, paratuberculose, salmonelose, febre suína africana e febre aftosa.

VERONESI (1969)[24] cita vários pesquisadores que mencionam doenças como sendo transmitidas pela água: oxiuríase, hidatidose, cisticercose, teniases, ascaridiose, ancilostomose, amebiase, giardiase, isosporose, leptospirose, toxoplasmose, colibacilose, shigelose, febre tifóide, cólera, brucelose, febre hemorrágica, psitacose-ornitose, hepatite a vírus, vírus coxsachie, vírus echo, poliomielite e febre aftosa.

LERCHANT & PACKER (1970)[18] relata os seguintes microrganismos como podendo ser transmitidos pela água: *Vibrio comma*, *Brucella* sp, *Bacillus anthracis*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Erysipelothrix insidiosa*, *Leptospira* sp, *Escherichia coli*, *Salmonella* sp, *Shigella* sp, vírus da: peste aviária, peste bovina, peste suína, febre aftosa, panleucopenia felina e anemia infecciosa equina.

SCHWABE (1969)[22] cita que pelo menos 70 tipos de vírus foram identificados de excreta humano e também um

grande número de fezes de animais inferiores; e que os métodos de tratamento de água podem não destruir todos os vírus.

Alguns estudos relativos à frequência de isolamentos, por exemplo, de salmonelas a partir de animais domésticos, já realizados em nosso meio, mostram a importância desses agentes para a saúde pública. PESTANA & RUGAI (1943)[20] isolaram salmonelas de 15% dos animais examinados, abatidos no Matadouro Municipal de São Paulo. ASSUMPÇÃO (1946)[2] examinando carne e produtos derivados, obteve isolamento de salmonelas em 10,6% e 19% respectivamente, dos materiais de origem bovina e suína, em 153 exames realizados. Recentemente GIORGI (1972)[15] trabalhando com amostras de fezes de animais domésticos, obteve positividade para salmonelas de 24,5% a partir de suínos, 8,7% de equinos, 2,6% de aves e 1,8% de bovinos.

Estudo realizado no município de São Paulo, por CHRISTOVÃO e col. (1967)[7] revelou que águas de irrigação de hortas apresentaram-se com intensidade considerável de poluição fecal - através da determinação do NMP de coliformes e de E. coli-; em outro estudo os mesmos autores isolaram dessas mesmas amostras de água, vírus entéricos.[8]

Do exposto, pode-se verificar a importância da água na veiculação de agentes patogênicos às populações humanas e animais, exigindo assim, cuidados constantes, incluindo análises de laboratório, a fim de que este alimento seja fornecido em condições sanitárias satisfatórias.

No controle sanitário das águas, os exames laboratoriais podem ser: físicos, químicos, microscópicos e bacteriológicos. De todos, o de maior valor imediato, relativamente ao problema de se decidir se uma água está ou não livre de contaminação fecal, é realmente o exame bacteriológico. A análise química da água é de grande sensibilidade, porém, oferece maior vantagem quando se pretende sa-

ber se uma água teve poluição remota. O exame químico fornece mais informações que os bacteriológicos sobre o passado da água. Por outro lado, os éxames bacteriológicos não revelam tão bem este aspecto, mas em se tratando de condições atuais, que são realmente as de maior importância, dispõe de métodos muito mais sensíveis que os químicos. Uma água quimicamente declarada com poluição remota, bacteriologicamente poderá acusar essa poluição ou não. Ao contrário, uma água que, no momento atual revela-se ao exame químico como potável, bacteriologicamente poderá vir a ser declarada muito impura. Assim, o exame bacteriológico tem sensibilidade muito maior na determinação das condições atuais (CHRISTOVÃO, 1974).[6]

Tem-se então que, todo o risco de infecção ligado a água se prende, praticamente à presença nela de microrganismos patogênicos provenientes das fezes e, eventualmente, da urina de indivíduos doentes ou portadores destes agentes. Verificou-se que, as fezes têm um número enorme de bactérias aeróbias e número maior ainda de anaeróbias, representando esses microrganismos 1/4 a 1/3 do peso total das fezes, embora mortas na sua maioria (CHRISTOVÃO, 1974).[6]

Devido às dificuldades envolvidas na identificação de organismos patogênicos em águas de abastecimento, dá-se preferência, geralmente, a métodos que permitam a identificação e avaliação quantitativa de bactérias que, por serem habitantes normais do intestino de homens e animais, existam, obrigatoriamente, em águas que recebam poluição por matéria fecal. As bactérias mais frequentemente utilizadas com essa finalidade são as do chamado "grupo coliforme", microrganismos estes de identificação relativamente simples e que existem normalmente no intestino humano e animal, sendo eliminados juntamente com as fezes. Há, assim, uma perfeita identidade entre tais bactérias e a matéria fecal que, eventualmente poderá conter microrganismos patogênicos (BRANCO, 1974).[4]

O grupo coliforme merece consideração como um indicador de poluição fecal porque, estas bactérias estão sempre presentes no trato intestinal do homem e dos animais de sangue quente e, são eliminados em grande número pelas fezes. As bactérias coliformes incluem um grupo heterogêneo de bactérias que são identificadas como bacilos Gram-negativos, aeróbios ou facultativamente anaeróbios, não formadores de esporos e fermentadores da lactose com formação de gás dentro de 48 horas a 35°C. Desde que tais bactérias são eliminadas em grande número, pelas fezes, elas têm sido o instrumento tradicional da medida da ocorrência e intensidade da poluição de origem fecal. Assim, a ausência de coliformes totais em uma água potável é evidência de segurança no que diz respeito ao nível bacteriológico (GELDREICH, 1974).[13, 14]

Consideram-se as bactérias coliformes compreendidas fundamentalmente nos gêneros Escherichia e Enterobacter, e mais comumente, são referidas as espécies Escherichia coli, Escherichia freundii, Escherichia intermedia, Aerobacter aerogenes e Aerobacter cloacae (CHRISTOVÃO, 1974).[6] Estas bactérias são atualmente denominadas respectivamente: Escherichia coli, Citrobacter freundii, Citrobacter intermedius, Enterobacter aerogenes e Enterobacter cloacae (COWAN, 1974).[9]

Das bactérias coliformes, a mais importante é a Escherichia coli. De todos os estudos realizados ficou estabelecido que as fezes de homens e animais, principalmente os de sangue quente, são riquíssimos em coliformes e que estas bactérias não existem em águas não poluidas, a não ser em número muito reduzido (CHRISTOVÃO, 1974).[6]

O sub-grupo coliformes intermediários - Enterobacter aerogenes, Enterobacter cloacae pode ser encontrado nas fezes, mas geralmente em número menor que o de Escherichia coli, que é caracteristicamente o coliforme predomi

nante no intestino dos animais de sangue quente (GELDREICH, 1974).[14]

Os coliformes, além do seu elevado número nas fezes, apresentam outras vantagens: são facilmente isolados a partir da água e identificados; as técnicas bacteriológicas para revelá-las são simples, rápidas e econômicas e o seu decréscimo em uma água com o tempo, é praticamente igual ao das bactérias patogênicas intestinais. Esta última característica é muito importante, pois não seriam bons indicadores de poluição fecal se morressem mais rápido ou mais lentamente que as bactérias patogênicas intestinais.

Do exposto, pode-se depreender que o encontro de bactérias coliformes numa água é indício de possibilidade muito grande de existir, nessa água, microrganismos patogênicos intestinais, tais como: Salmonella sp, Shigella sp, Escherichia coli patogênica ou vírus (CHRISTOVÃO, 1974).[6]

As bactérias coliformes têm sido úteis para medir ocorrência e intensidade de poluição fecal por aproximadamente 70 anos. Durante este tempo uma grande quantidade de dados tem sido acumulada permitindo uma avaliação completa da sensibilidade e especificidade de tal indicador bacteriano de poluição fecal (GELDREICH, 1974).[13]

Os coliformes de origem fecal, um sub-grupo dos coliformes, dá uma correlação direta com a poluição por fezes de animais de sangue quente. A principal característica bioquímica usada para identificar os coliformes fecais é a sua capacidade de fermentar a lactose com produção de gás na temperatura de 44,5°C. O exame de fezes de animais de sangue quente incluindo bovinos, suínos, ovinos, aves domésticas, gatos, cães e roedores, indicam que os coliformes fecais contribuem com 93,0% a 98,7% do total de coliformes (GELDREICH, 1974).[13]

Verificou-se também que podem estar presentes outras bactérias nas fezes, as quais praticamente não exis

tem em vida livre na natureza, como os enterococos e, dentro de limites, certos clostrídios como, por exemplo, o Clostridium perfringens. Das bactérias mencionadas, a experiência acumulada revelou que os melhores indicadores de poluição fecal nas águas são os coliformes (CHRISTOVÃO, 1974).[6]

A experiência tem mostrado que quando se trata de quantificar as bactérias, a melhor média a se adotar é a média geométrica e não a aritmética, pois esta sofre influência de valores extremos e, dependendo destes, é bastante alterada não revelando, muitas vezes, as frequências mais comuns. A média geométrica, por outro lado, já não sofre tanto a influência de valores extremos e esta é uma das razões pelas quais, em se tratando de número de bactérias em geral, deve ser a preferida, apesar de ser mais baixa que a aritmética (CHRISTOVÃO, 1974).[6]

No tocante a este tipo de pesquisa, notou-se que na literatura específica consultada, existe um número muito reduzido de trabalhos, e estes relacionam-se a nascentes, poços, córregos, rios e lagoas, porém não há referências quanto a águas de bebedouros. Um dos trabalhos mostra as condições sanitárias das águas utilizadas em granjas leiteiras em Santa Maria, Rio Grande do Sul, por MOREIRA e col. (1971)[19], o qual se refere a amostras de água provenientes de mananciais e de poços. Num outro estudo realizado em granjas avícolas no Estado de Minas Gerais, VIANA e col. (1973)[25] examinando 80 amostras de água provenientes de poços, nascentes, córregos, rios e lagos, mostraram resultados desfavoráveis quanto às condições sanitárias.

Em vista disso, resolvemos realizar a presente pesquisa levando em consideração não só os mananciais como também os bebedouros, para se ter uma idéia geral das condições das águas utilizadas na dessedentação dos animais na região de Botucatu, bem como comparar os valores encontrados com os estabelecidos nos padrões nacionais existentes.[10,21]

2. MATERIAL E MÉTODOS

Foram coletadas amostras de água de mananciais e de bebedouros, utilizada na dessedentação de animais em propriedades de criação instaladas na região de Botucatu, Estado de São Paulo.

A colheita das amostras de água assim como o exame bacteriológico foram feitos de acordo com as técnicas padrão da Associação Americana de Saúde Pública (1971).[1]

2.1. PROCEDÊNCIA DAS AMOSTRAS

As amostras de água, de um total de 74 propriedades da região, e que foram sorteadas por processo de amostragem probabilística simples, provieram de 25 propriedades, localizadas nos municípios de Botucatu (13 propriedades), Pardinho (7 propriedades) e Itatinga (5 propriedades).

Foram colhidas amostras de 44 mananciais (M) e de 61 bebedouros (B), sendo:

Botucatu - 18 mananciais
29 bebedouros

Pardinho - 16 mananciais
19 bebedouros

Itatinga - 10 mananciais
13 bebedouros

2.2. COLHEITA DAS AMOSTRAS

As amostras de água foram colhidas no período

de dois de julho de 1974 a dezessete de fevereiro de 1975. De cada um dos mananciais e bebedouros das propriedades pesquisadas foram colhidas 100 ml de água em frascos de vidro com tampa esmerilhada com capacidade de 250 ml, adequadamente lavados e esterilizados (autoclave a 117°C por 20 minutos).

Relativamente aos mananciais as amostras de água foram colhidas no local da nascente e as amostras de bebedouros foram colhidas diretamente do local onde os animais utilizavam a água como bebida.

Após a colheita e identificação das amostras, os frascos foram transportados ao laboratório em caixas isotérmicas (isopor) contendo gelo picado e, aí mantidas até o início dos exames. O período de tempo entre a colheita e o início do exame bacteriológico no laboratório foi, no máximo, de quatro horas.

2.3. INFORMAÇÕES OBTIDAS NOS ESTABELECIMENTOS DE CRIAÇÃO DE ANIMAIS

Antes da colheita das amostras foram obtidas algumas informações, através de entrevista, com o responsável pelo estabelecimento e/ou da observação sobre:

a. Origem da água usada na dessedentação dos animais

Neste ítem obtinha-se informação se a água usada na dessedentação provinha de nascente ou não, e em que local estava situada.

b. Fornecimento de água aos animais

Aqui, através da entrevista e/ou observação constatava-se se o fornecimento era realizado por bebedouros e qual o tipo, ou se diretamente do manancial.

c. Tipo de bebedouro empregado

Pela observação "in situ" verificou-se qual o tipo de bebedouro empregado na dessedentação dos animais.

d. Proteção do bebedouro

Considerava-se, após observação do local, como bebedouro protegido aquele que se encontrava a uma certa altura do solo, de modo que sua contaminação não se processasse com facilidade.

e. Número de animais abastecidos

A quantidade de animais que utilizavam água para dessedentação foi, em cada município, respectivamente de:

Botucatu - 1481 bovinos
23 equínos

Pardinho - 1770 bovinos
12 suínos

Itatinga - 1710 bovinos

2.4. EXAME BACTERIOLÓGICO

A partir de cada uma das 105 amostras de água, de mananciais e bebedouros, foram determinados os NMP - Número Mais Provável - de bactérias do grupo coliforme e de coliformes de origem fecal empregando-se técnicas dos métodos padrões adotados pela Associação Americana de Saúde Pública (1971).[1]

2.4.1. DETERMINAÇÃO DOS NMP DE COLIFORMES POR 100 ML DE AMOSTRA

Prova Presuntiva - Após homogeneização da a-

mostra invertendo-se o frasco 25 vezes, foram feitas diluições decimais da mesma, de 10^{-1} a 10^{-4} empregando-se como diluente água fosfatada pH 7,2 estéril. A seguir, na prova presuntiva, foram inoculados com 10 ml e 1 ml de água não diluída, respectivamente, 5 tubos contendo caldo lactosado com tubo de Durham invertido.

Das diluições 10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3} e 10^{-4}, foram também inoculados, com 1 ml cada um, respectivamente 5 tubos de caldo lactosado (DIFCO) com tubo de Durham invertido.

Estes tubos foram incubados a 35°C ± 0,5°C, em estufa. A primeira leitura realizava-se após 24 horas ± 2 horas, verificando se havia produção de gás no tubo de Durham. Os tubos apresentando produção de gás foram considerados, presuntivamente, positivos para coliformes. Os tubos com prova presuntiva negativa após 24 horas, retornavam à estufa para uma incubação adicional de mais 24 horas. Se houvesse produção de gás nestes tubos a prova era considerada positiva e estas culturas eram também submetidas à prova confirmatória. Quando não havia produção de gás a prova era considerada negativa para a respectiva porção de água inoculada.

Prova Confirmatória - De cada tubo com prova presuntiva positiva, fez-se passagem em placa de agar eosina azul de metileno (EAM), transferindo-se um volume de cultura, colhido com uma alça de níquel-cromo com aproximadamente 3 mm de diâmetro, a fim de se proceder à prova de confirmação; estas placas eram posteriormente incubadas a 35°C ± 0,5°C por 24 horas ± 2 horas.

Após a incubação era procedida a leitura das placas e considerava-se a prova de confirmação positiva, quando se desenvolviam colônias típicas de bactérias coliformes, ou seja, secas, achatadas e totalmente negras com brilho metálico ou, convexas, mucóides, claras com centro negro.

Prova Completa - De cada uma das placas positivas, na prova de confirmação, isolava-se uma colônia com as características das de coliformes e a mesma era semeada em um tubo de caldo lactosado com tubo de Durham, à temperatura de 35°C ± 0,5°C por 24 horas ± 2 horas.

A prova completa era considerada positiva, quando havia produção de gás nos tubos de caldo lactosado e multiplicação de bacilos gram-negativos no agar inclinado.

A seguir verificava-se quantas porções revelavam-se positivas para coliformes em cada volume examinado e era então calculado o NMP de coliformes por 100 ml de amostra, empregando-se para tal a tabela de Hoskins (AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION, 1971).[1]

2.4.2. DETERMINAÇÃO DO NMP DE COLIFORMES DE ORIGEM FECAL POR 100 ML DE AMOSTRA

A partir dos tubos de caldo lactosado apresentando gás na prova presuntiva, empregando-se alça de níquel-cromo com diâmetro aproximado de 3 mm, eram feitas passagens em tubos contendo caldo EC (DIFCO) com tubo de Durham, os quais eram a seguir incubados em banho maria a 44,5°C ± 0,5°C durante 24 horas ± 2 horas.

Consideravam-se como positivos para coliformes fecais, os tubos de caldo EC que revelavam produção de gás após incubação. A partir das porções positivas calculava-se o NMP de coliformes de origem fecal por 100 ml de amostra, empregando-se para tal a tabela de Hoskins (AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION, 1971).[1]

3. RESULTADOS

Dos exames laboratoriais das 105 amostras de água e referentes às 25 propriedades de criação pesquisadas, tem-se os resultados que se seguem:

Na tabela 1 estão distribuídos os resultados relativos à determinação do NMP de coliformes e de coliformes de origem fecal (E. coli) por 100 ml de água; onde das 105 amostras examinadas em relação aos coliformes totais 3 amostras de bebedouros apresentaram-se com NMP acima de 20.000 - propriedades 6, 15 e 23 - e, em relação aos coliformes de origem fecal 6 amostras de bebedouros apresentaram-se com NMP acima de 4.000 - propriedades 6, 15, 18, 23 e 24.

A tabela 2, mostra, em relação aos mananciais, a amplitude de variação do NMP para coliformes e E. coli nos municípios considerados.

A tabela 3, mostra, em relação aos bebedouros, a amplitude de variação do NMP para coliformes e E. coli nos municípios considerados.

A tabela 4, mostra, em relação aos mananciais e bebedouros, a amplitude de variação do NMP dos coliformes e E. coli nos municípios considerados.

Na tabela 5, encontram-se a distribuição das médias aritmética e geométrica, em relação ao NMP dos mananciais e bebedouros, nos municípios considerados.

A tabela 6, mostra a distribuição do tipo e quantidade de mananciais nos diferentes municípios - 43 eram do tipo nascente (97,73%) e 1 era do tipo arteziano (2,27%).

A tabela 7, mostra a distribuição do tipo e quantidade de bebedouros nos diferentes municípios: córrego - 22 (36,07%); represamento - 17 (27,87%); caixa de á-

gua - 9 (14,75%); banheira - 9 (14,75%); lago - 3 (4,92%) e reservatório - 1 (1,64%).

A tabela 8, mostra a distribuição dos mananciais nos municípios segundo a proteção, onde: Botucatu - com proteção 1 (5,56%) e sem proteção 17 (94,44%); Itatinga, todos sem proteção 10 (100%) e Pardinho, todos sem proteção 16 (100%).

Na tabela 9, encontram-se a distribuição dos bebedouros nos municípios segundo a proteção, onde: Botucatu - todos sem proteção 29 (100%); Itatinga - com proteção 3 (23,08%) e sem proteção 10 (76,92%) e Pardinho com proteção 4 (21,05%) e sem proteção 15 (78,95%).

Na tabela 10 estão distribuídas as medianas e amplitudes de variação do NMP de coliformes e E. coli em relação a mananciais e bebedouros nos diferentes municípios, onde para mananciais a amplitude de variação vai de < 2 a 3300 e a mediana vai de 10,1 a 34; e para bebedouros a amplitude de variação vai de < 2 a 170000 e a mediana vai de 79 a 170.

Tabela 1 - NMP, por 100 ml, de coliformes e de *E. coli* em águas de desmedentação de animais em propriedades de criação da região de Botucatu.

Município	Propriedades	Amostras	NMP/ 100 ml Coliformes	NMP/ 100 ml *E. coli*
BOTUCATU	1	M1	2	<2
		B1	2	<2
		B2	<2	<2
	2	M1	<2	<2
		B1	3300	3300
		M2	<2	<2
		B2	72	28
	3	M1	4,5	4,5
		B1	1,8	<2
		B2	1300	490
	4	M1	<2	<2
		B1	4900	3300
		B2	330	230
		B3	170	130
	5	M1	1100	140
		B1	49	49
		B2	170	130
	6	M1	230	230
		B1	130	130
		B2	49000	49000
	7	M1	27	27
		B1	11	11
		B2	170	170
	8	M1	70	49
		B1	33	33
		B2	230	130
	15	M1	210	170
		B1	33000	7900
		B2	13000	13000
		M2	2	2
		B3	<2	<2
		M3	<2	<2
		B4	<2	<2
	22	M1	220	170
		B1	33	33
		M2	330	170
		B2	330	130
	23	M1	14	14
		B1	49	33
		B2	790	490
		M2	95	70
		B3	170000	170000
	24	M1	790	790
		B1	9500	2100
		B2	7900	4900
	25	M1	13	13
		B1	79	79
PARDINHO	9	M1	3300	3300
		B1	700	700
		B2	1100	1100
	10	M1	220	110
		B1	790	110
		B2	49	49
		M2	490	330
		B3	33	33
		B4	330	130
	11	M1	23	23
		B1	3500	2800
		M2	33	33
		B2	79	79
	12	M1	79	79
		B1	49	49
		M2	130	130
		B2	170	170
	13	M1	170	170
		B1	1100	1100
	14	M1	14	11
		B1	33	33
		M2	13	<2
		B2	140	49
		M3	<2	<2
		B3	<2	<2
		M4	21	17
		B4	11	23
		M5	14	2
		B5	11	8
	16	M1	14	8
		B1	210	110
		M2	140	140
		B2	700	490
		M3	11	8
		B3	11	8
ITATINGA	17	M1	210	<2
		B1	17	17
		B2	110	110
	18	M1	17	11
		B1	470	220
		M2	110	110
		B2	4900	4900
		B3	460	460
		M3	170	130
		B4	95	95
	19	M1	2	2
		B1	120	95
		M2	2	2
		B2	700	490
		M3	22	22
		B3	49	33
	21	M1	9,3	9,3
		B1	130	130
		M2	46	46
		B2	22	22

Tabela 2 - Amplitude de variação, para mananciais, do NMP de coliformes de *E. coli* segundo os municípios.

Município	NMP/ 100 ml Amplitude de variação	
	Coliformes	*E. coli*
Botucatu	<2 a 1100	<2 a 790
Pardinho	<2 a 3300	<2 a 3300
Itatinga	2 a 230	<2 a 130

Tabela 3 - Amplitude de variação, para bebedouros, do NMP de coliformes e de *E. coli* segundo os municípios.

Município	NMP/ 100 ml Amplitude de variação	
	Coliformes	*E. coli*
Botucatu	< 2 a 170000	< 2 a 170000
Pardinho	< 2 a 3500	< 2 a 2800
Itatinga	17 a 4900	11 a 4900

Tabela 4 - Amplitude de variação, para mananciais e bebedouros, do NMP de coliformes e de *E. coli* em todos os municípios.

Origem da amostra	NMP/ 100 ml Amplitude de variação	
	Coliformes	*E. coli*
Manancial	< 2 a 3300	< 2 a 3300
Bebedouro	< 2 a 170000	< 2 a 170000

Tabela 5 - Médias aritmética e geométrica dos NMP de coliformes e *E. coli*, em relação a mananciais e bebedouros, segundo os municípios.

Município	Tipo de média	Procedência da amostra	NMP/ 100 ml Coliformes	*E. coli*
Botucatu	aritmética	mananciais	172,64	102,75
		bebedouros	10156,89	8820,55
	geométrica	mananciais	2,22	1,73
		bebedouros	21,47	15,06
Pardinho	aritmética	mananciais	292,00	272,56
		bebedouros	475,58	370,58
	geométrica	mananciais	4,90	3,04
		bebedouros	11,74	8,51
Itatinga	aritmética	mananciais	81,83	33,68
		bebedouros	634,84	513,38
	geométrica	mananciais	2,99	1,10
		bebedouros	19,20	11,10

Tabela 6 - Tipos e quantidades de mananciais, segundo os diferentes municípios.

Tipo de manancial	Municípios							
	Botucatu		Pardinho		Itatinga		Total	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
nascente	17	94,44	16	100	10	100	43	97,73
poço arteziano	01	5,56	-	-	-	-	01	2,27
Total	18	100	16	100	10	100	44	100

Tabela 7 - Tipos e quantidades de bebedouros, segundo os diferentes municípios.

Tipo de bebedouro	Municípios						Total	
	Botucatu		Pardinho		Itatinga			
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
córrego	13	44,83	05	26,32	04	30,77	22	36,07
reservatório	-	-	01	5,26	-	-	01	1,64
lago	-	-	03	15,79	-	-	03	4,92
caixa d'água	04	13,79	02	10,53	03	23,08	09	14,75
represamento	06	20,69	06	31,58	05	38,46	17	27,87
banheira	06	20,69	02	10,53	01	7,69	09	14,75
Total	29	100	19	100	13	100	61	100

Tabela 8 - Mananciais, segundo a proteção, nos diferentes municípios.

Município	Com Proteção		Sem Proteção		Total	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Botucatu	01	5,56	17	94,44	18	100
Pardinho	-	-	10	100	10	100
Itatinga	-	-	16	100	16	100

Tabela 9 - Bebedouros, segundo a proteção, nos diferentes municípios.

Município	Com Proteção		Sem Proteção		Total	
	Nº	%	Nº	%	nº	%
Botucatu	-	-	29	100	29	100
Pardinho	3	23,08	10	76,92	13	100
Itatinga	4	21,05	15	78,95	19	100

Tabela 10 - Amplitude de variação e mediana do NMP de coliformes e *E. coli* segundo a procedência da amostra.

Procedência da amostra	Medidas	Botucatu		Pardinho		Itatinga	
		Coliformes	*E. coli*	Coliformes	*E. coli*	Coliformes	*E. coli*
Manancial	Amplitude de variação	< 2 a 1100	< 2 a 790	< 2 a 3300	< 2 a 3300	2 a 230	< 2 a 130
	Mediana	20,5	20,5	28	28	34	10,1
Bebedouro	Amplitude de variação	< 2 a 170 000	< 2 a 170 000	< 2 a 3500	< 2 a 2800	17 a 4900	11 a 4900
	Mediana	170	130	140	79	130	95

4. DISCUSSÃO

Visto que a Portaria que classifica as águas interiores do território nacional (PORTARIA GM/0013/15/Jan/1976)[21] estabelece parâmetros com referência à água destinada à dessedentação dos animais e, como em nosso meio os cuidados relativos a este aspecto não são adequadamente considerados, pelo presente trabalho pudemos realizar algumas verificações sobre a água de bebida fornecida aos animais em fazendas de criação localizadas na região de Botucatu, Estado de São Paulo.

Considerando que esta Portaria estabelece parâmetros para mananciais, mas não para bebedouros, adotamos com relação aos bebedouros os mesmos parâmetros estabelecidos para os mananciais. E com respeito a este aspecto, seria oportuno levantar a questão da viabilidade de fazer estas distinções: parâmetros para mananciais e parâmetros para bebedouros.

Deve ser ressaltado o fato de que colhemos amostras de cada propriedade apenas em uma ocasião, e não em 5 amostras mensais como refere o Padrão Federal (PORTARIA GM/0013/15/Jan/1976)[21], ou 5 amostras colhidas num período de até 5 semanas consecutivas de acordo com o Padrão do Estado de São Paulo (DECRETO 8.468/8/9/1976)[10].

Analisando-se a tabela 1, pode-se observar que das 105 amostras examinadas, todas as obtidas a partir de mananciais apresentaram-se dentro dos padrões estabelecidos, onde os parâmetros são: NMP/100 ml, de 20.000 para coliformes totais e 4.000 para coliformes de origem fecal. Por outro lado, das amostras de bebedouros, com relação a coliformes totais, 3 (4,92%) apresentaram-se fora dos parâmetros (propriedades 6, 15 e 23) e relativamente aos coliformes de origem fecal, 6 (9,84%) amostras apresentaram va

lores fora dos parâmetros (propriedades 6, 15, 18, 23 e 24).

Pode-se verificar também que, dos 44 mananciais, nenhum revelou-se com NMP de coliformes totais e coliformes de origem fecal (E. coli) acima do limite estabelecido, enquanto que dos 61 bebedouros, em Botucatu apenas 3 (10,34%) tiveram seu NMP fora dos parâmetros (6 B2, 15 B1 e 23 B3) tanto para coliformes totais como para E. coli, e somente 2 (6,90%) com o NMP fora dos limites para E. coli (15 B2 e 24 B2). No município de Pardinho, nenhuma das amostras apresentou o NMP destas bactérias elevado enquanto que, em Itatinga apenas uma (5,26%) amostra (18 B2) se mostrou acima do limite.

Na tabela 2, em que aparecem as amplitudes de variação do NMP de coliformes e E. coli de mananciais, pode-se verificar que estes valores não ultrapassaram os limites estabelecidos pelo Padrão Federal pois houve variação de < 2 a 3300, indicando que estes mananciais estão aparentemente sem uma contaminação acentuada por microrganismos de origem fecal.

Já na tabela 3, temos que no município de Botucatu houve uma amplitude de variação elevada , < 2 a 170000, porém ao se analisar os dados obtidos verifica-se que dos 29 bebedouros, apenas 5 (17,24%) ultrapassaram os limites estabelecidos pelo Padrão Federal, se utilizados os mesmos valores referentes aos mananciais. Para amostras coletadas em propriedades do município de Pardinho a variação foi pequena, < 2 a 3500, e no de Itatinga dos 19 bebedouros estudados, somente um (5,26%) apresentou seu NMP de E. coli elevado.

Com relação à tabela 5, temos que as médias aritméticas dos NMP para mananciais variaram de 81,83 a 292,00, em relação aos coliformes totais e de 33,68 a 272,56 para E. coli, enquanto que nos bebedouros a variação

foi de 475,58 a 10.156,89 para coliformes totais e de 370,58 a 8.820,55 para E. coli. Por outro lado, as médias geométricas dos NMP variaram de 2,22 a 4,90 para coliformes totais e de 1,10 a 3,04 para E. coli em relação aos mananciais, e nos bebedouros foi de 11,74 a 21,47 e de 8,51 a 15,06 respectivamente, para os coliformes totais e E. coli.

Verificando-se a tabela 6, onde estão distribuídos os mananciais segundo o tipo, observa-se que predomina o manancial tipo nascente (97,73%) sendo considerado como tal, aquele que originava-se de encostas ou entre pedras. Somente um (2,27%) era poço arteziano.

Segundo a tabela 7, observa-se uma grande diversidade nos bebedouros utilizados, tais como: córregos, represamentos, caixas de água, banheiras, lagos e reservatórios. Os córregos (36,07%) e os represamentos (27,87%), foram os tipos mais usados, mostrando que não há, de uma forma geral, preocupação em proteger a água destinada à dessedentação dos animais.

Observando a tabela 8 nota-se o pouco cuidado que, geralmente se toma com relação à proteção dos mananciais, sendo que tal fato deveria ter uma consideração maior, pois muitas vezes a população humana do meio rural utiliza água de mananciais que são também destinadas aos animais.

Na tabela 9, dos 61 bebedouros, 54 (88,52%) não contavam com nenhuma proteção, verificando-se também aqui, que os cuidados dispensados à água fornecida aos animais são deficientes.

Pela tabela 10 pode-se observar as medianas e amplitudes de variação dos NMP de coliformes e E. coli em relação aos mananciais e bebedouros das propriedades de criação de animais dos diferentes municípios. Em relação aos mananciais tivemos: a) amplitudes de variação do NMP para Botucatu de < 2 a 1100 (coliformes) e < 2 a 790 (E.

coli), para Pardinho de < 2 a 3300 (coliformes) e < 2 a 3300 (E. coli) e para Itatinga de 2 a 230 (coliformes) e < 2 a 130 (E. coli); b) medianas do NMP para Botucatu de 20,5 (coliformes) e 20,5 (E. coli), para Pardinho de 28 (coliformes) e 28 (E. coli) e para Itatinga de 34 (coliformes) e 10,1 (E. coli). Em relação aos bebedouros encontramos: a) amplitude de variação do NMP para Botucatu de < 2 a 170.000 (coliformes) e < 2 a 170.000 (E. coli), para Pardinho de < 2 a 3500 (coliformes) e < 2 a 2800 (E. coli) e para Itatinga de 17 a 4900 (coliformes) e 11 a 4900 (E. coli); b) medianas dos NMP para Botucatu de 170 (coliformes) e 130 (E. coli), para Pardinho de 140 (coliformes) e 79 (E. coli) e para Itatinga de 130 (coliformes) e 95 (E. coli).

VIANA e col. (1975)[25] trabalhando com 80 amostras de diferentes tipos de fontes de água provenientes de granjas avícolas do Estado de Minas Gerais, obtiveram em relação ao NMP de coliformes por 100 ml de amostra as seguintes amplitudes de variação e medianas no teste confirmatório: a) amplitudes de variação - poço raso - 0 a > 2400, poço arteziano - 0 a 3500, nascente - 0 a 2400, córrego/rio/lagoa - 0 a > 2400; b) medianas - poço raso - 280, poço arteziano - 79, nascente - 730, córrego/rio/lagoa - > 2400.

Confrontando os dados que obtivemos com os obtidos por VIANA e col. se considerarmos poço raso, poço arteziano e nascente como mananciais, e córrego/rio/lagoa como bebedouros teremos que as amostras de água da região de Botucatu se apresentaram em condições muito mais adequadas para o consumo animal do que as estudadas por aquele autor, em relação aos coliformes.

5. CONCLUSÕES

Dos dados obtidos neste trabalho, onde determinou-se o NMP de bactérias coliformes e coliformes de origem fecal em águas usadas na dessedentação de animais na região de Botucatu, Estado de São Paulo, 1974/75, obteve-se as seguintes conclusões:

1. Levando-se em conta a PORTARIA GM/0013/15/Jan/1976, da Secretaria Especial do Meio Ambiente do Ministério do Interior que classifica as águas interiores do território nacional e, onde na classe 3 desta Portaria há um item referente à dessedentação de animais, pela pesquisa efetuada apenas 3 amostras de bebedouros, com relação a coliformes totais (4,92%), apresentaram-se fora dos parâmetros e relativamente aos coliformes de origem fecal 6 amostras (9,84%) tiveram seu NMP acima dos parâmetros estabelecidos.

2. Dos mananciais estudados, nenhum apresentou-se com NMP de coliformes totais e coliformes de origem fecal acima dos limites estabelecidos, apesar de 43 (97,73%) deles apresentarem-se sem nenhuma proteção.

3. Observou-se também uma grande variedade do que foi utilizado como bebedouro, sendo que aqui, também, uma alta percentagem (88,52%), correspondente a 54 dos 61 bebedouros, apresentou-se sem nenhuma proteção.

4. Considerando-se que a Portaria não faz distinção entre manancial e bebedouro, uma sugestão seria de que os responsáveis pela elaboração desta, estabelecessem parâmetros com referência aos bebedouros no tocante à dessedentação dos animais.

5. As condições sanitárias das águas utilizadas pelos animais revelaram-se de boa qualidade, exceto em 6 amostras de bebedouros em relação aos coliformes de origem fecal e 3 amostras em relação aos coliformes totais.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION - Standard methods for the examination of water and wastewater. 13th ed. New York, 1971.

2. ASSUMPÇÃO, L. - Pesquisa de bactérias do gênero Salmonella em carcaças e seus derivados vendidos a retalho. Arq. Hig., S. Paulo, 11: 473-486, 1946.

3. BLOOD, D.C. & HENDERSON, J.A. - Medicina veterinária. 3a. ed. Mexico, Editorial Interamericana, 1969.

4. BRANCO, S.M. - As águas e os microrganismos: amebas, bactérias e vírus. Presença nas águas naturais, nas águas poluídas e nas águas residuárias. In: SÃO PAULO (estado). Secretaria dos Serviços e Obras Públicas. Desinfecção de águas. São Paulo, CETESB, 1974. cap. 1, p. 1-4.

5. BRANCO, S.M. - Características naturais da água: conceito de padrões de qualidade e potabilidade. In: ÁGUA: qualidade, padrões de potabilidade e poluição. São Paulo, CETESB, 1974. cap. 4, p.31-42.

6. CHRISTOVÃO, D. de A. - Padrões bacteriológicos. In: ÁGUA: qualidade, padrões de potabilidade e poluição. São Paulo, CETESB, 1974. cap. 6, p. 51-118.

7. CHRISTOVÃO, D. de A. et al. - Condições sanitárias das águas de irrigação de hortas do município de São Paulo. I. Determinação da intensidade de poluição fecal através do NMP de coliformes e de E. coli. Rev. Saú-

---

De acordo com:

ASSOCIAÇÃO PAULISTA DE BIBLIOTECÁRIOS. Grupo de Bibliotecários Biomédicos. Referências bibliográficas em ciências biomédicas. São Paulo, Divisão de Biblioteca e Documentação da USP, 1971.

de públ., S. Paulo, 1: 3-11, 1967.

8. CHRISTOVÃO, D. de A. et al. - Condições sanitárias das águas de irrigação de hortas no município de São Paulo. II. Isolamento de vírus entéricos. Rev. Saúde públ., S. Paulo, 1: 12-17, 1967.

9. COWAN, S.T. - Gram-negative facultatively anaerobic rods; family I. Enterobacteriaceae Rahn 1937, 281 Nom. gen. cons. Opin. 15, Ind. Comm. 1958, 73 In: BERGEY'S manual of determinative bacteriology. 8th ed. Baltimore, Williams & Wilkins, 1974. p. 290-319.

10. DECRETO 8.468, de 8/9/1976; classificação das águas interiores situadas no território do Estado de São Paulo. Diário Oficial do Estado, 9 set. 1976. p. 4-18.

11. DIESCH, S.L. - Transmission de enfermedades por organismos hidricos de origem animal. Bol. Ofic. sanit. panamer., 69: 314-30, 1970.

12. DYKSTRA, R.R. - Higiene animal y prevencion de enfermidades. Barcelona, Editorial Labor, 1970.

13. GELDREICH, E.E. - Aspectos microbiológicos dos esgotos e dos seus processos de tratamento. In: SÃO PAULO (estado). Secretaria dos Serviços e Obras Públicas. Desinfecção de águas. São Paulo, CETESB, 1974. cap. 10, p. 115-34.

14. GELDREICH, E.E. - Qualidade microbiológica em águas potáveis. In: SÃO PAULO (estado). Secretaria dos Serviços e Obras Públicas. Desinfecção de águas. São Paulo, CETESB, 1974. cap. 7, p. 73-93.

15. GIORGI, W. - Animais domésticos como portadores de salmonelas: significado epidemiológico e sua relação com a saúde pública. São Paulo, 1972 [Tese de doutoramento - Instituto de Ciências Biomédicas USP]

16. HIPOLITO, O. & FREITAS, M.G. - Doenças infeto-contagio-

sas dos animais domésticos. 3a. ed. São Paulo, Melhoramentos, 1963.

17. EL MANUAL Merck de veterinaria. Rahway, MERCK & Co, 1970.

18. MERCHANT, I.A. & PACKER, R.A. - Bacteriologia y virologia veterinaria. 3a. ed. Zaragoza, Editorial Acribia, 1970.

19. MOREIRA, S. et al. - Condições sanitárias del agua utilizada en granjas lecheras en um municipio en el Brasil. Bol. Ofic. sanit. panamer., 75: 450-51, 1973.

20. PESTANA, R.B. & RUGAI, E. - O porco normal como portador de salmonelas. Rev. Inst. A. Lutz, S. Paulo, 3: 232-5, 1943.

21. PORTARIA GM/0013/15/Jan/1976: classificação das águas interiores do território nacional. Brasília, Ed. Brasiliana, 1976. (Publ. 05/76).

22. SCHWABE, C.W. - Veterinary medicine and human health. 2nd ed. Baltimore, William & Wilkins, 1969.

23. TEMPLETON, G.S. - Alimentos y alimentacion. In: _____. Cria del conejo domestico. Mexico, Editorial Continental, 1968. cap. 4, p. 59-81.

24. VERONESI, R., ed. - Doenças infecciosas e parasitárias. 4a. ed. Rio de Janeiro, Ed. Guanabara-Koogan, 1969.

25. VIANA, F.C. et al. - Qualidade bacteriológica das águas de granjas avícolas do Estado de Minas Gerais. 1973. Arq. Esc. Vet. UFMG, 27: 119-24, 1975.

26. VON DER Aa, R. - Higiene veterinaria moderna. Zaragoza, Editorial Acribia, 1971.