

QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DA ÁGUA PARA CONSUMO ANIMAL¹

KEILA MARIA RONCATO DUARTE^{2*}, LUIZ HUMBERTO GOMES³, ANGELA DANIELA PERTILE DOZZO², FLAVIO ROCHA³,
SIMONE POSSEDEnte DE LIRA³, JOÃO JOSÉ ASSUMPÇÃO DE ABREU DEMARCHI²

¹Recebido para publicação em 28/05/2013. Aceito para publicação em 06/05/2014.

²Instituto de Zootecnia (IZ), Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios (APTA), Nova Odessa, SP, Brasil.

³Universidade de São Paulo (USP), Escola superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ), Piracicaba, SP, Brasil.

*Autor correspondente: keila@iz.sp.gov.br

RESUMO: Água para consumo humano ou animal deve atender ao mínimo de exigências de padrões de qualidade para garantir consumo adequado, sem provocar injúrias aos animais devido à má qualidade, como contaminação microbiológica ou química. Este trabalho avaliou a qualidade microbiológica da água oferecida aos animais de produção do Instituto de Zootecnia (IZ) e algumas instalações de pesquisa e administração. Nestas amostras, pH, coliformes totais, *Escherichia coli* e outras bactérias do grupo das heterotróficas foram quantificados usando o kit comercial Colitest para coliformes totais e *E.coli*. Os meios R2A e TSA foram utilizados para contagem de bactérias heterotróficas. Coliformes totais foram encontrados no Lago do Maracanã, nas duas amostragens, da margem e do interior e em um dos piquetes. Na área central do IZ, coliformes totais foram encontrados no Riacho do Planalto, nas duas amostragens e no Bosque Isidoro Bordon, assim como no Lago. Na área do Manancial nenhum coliforme total foi encontrado. Destas áreas, *E.coli* estavam presentes em duas amostragens. Do total das 25 coletas, 28% apresentaram coliformes totais e 8% *E.coli*. Para bactérias heterotróficas, o máximo indicado pela CETESB para consumo animal é de 1000 UFC mL⁻¹, e na comparação entre os dois meios para contagem de bactérias heterotróficas verificou-se que 68% das amostras apresentaram valores superiores no meio R2A e 32% no meio TSA. Na avaliação dos meios de cultura utilizados o R2A apresentou resultados 293% superiores aos do meio TSA mostrando que um meio rico em nutrientes pode mascarar a variabilidade microbiológica de um ecossistema naturalmente pobre (água). No teste estatístico de análise de variância o resultado obtido foi significativo a 1% de probabilidade pelo teste de F (1,781) mostrando a diferença entre os meios R2A e TSA utilizados, provando que o meio R2A foi melhor na identificação de bactérias heterotróficas presentes na água. Estudos devem continuar a serem conduzidos de forma a garantir água de qualidade aos animais de produção.

Palavras-chave: bactérias heterotróficas, coliforme, consumo de água, *Escherichia coli*, recursos hídricos.

WATER MICROBIOLOGY QUALITY FOR ANIMAL CONSUMPTION

ABSTRACT: Water designed for human or animal consumption must attend to minimal quality standards in order to guarantee the ideal consumption, without injuries due to bad quality, such as microbiology or chemical contaminants. This work aimed to evaluate microbiology quality of water offered in the Institute of Animal Science and Pastures (IZ), for animal consumption. In 25 sampling sites, pH, total coliforms, *Escherichia coli* and heterotrophic bacteria were measured, using Colitest commercial kit for total and *E.coli* and, R2A and TSA media for heterotrophic bacteria counting. Total coliforms were presented at the Lake, at both sampling sites (boarder and inside the Lake) and in one of the paddocks, from Maracanã area. At IZ major area, total coliforms were observed at two sampling sites. In the Wellspring area (Manancial), no total coliforms were found. *E.coli* was presented at the lake edge, from Maracanã area and at the Planalto Stream, inside the Institute. From all 25 sampling sites, 28 % showed total coliforms and 8% presented *E.coli*. For

heterotrophic bacteria, the maximum count indicated by official Governmental Agency (CETESB) designated to animal consumption must be under 1000 CFU mL⁻¹. The R2A medium in comparison to TSA medium showed 293% more bacteria counting's, confirming that rich-nutrient medium can fade the real count and biodiversity of a poor environment such as the water. Variance analysis showed significant difference at 1% by F test (1.781) for both R2A and TSA media, showing R2A was better for heterotrophic bacteria identification in water resources. Other studies must be continued in order to guarantee water quality given to livestock.

Keywords: heterotrophic bacteria, coliform, water consumption, *Escherichia coli*, hydric resources.

INTRODUÇÃO

A partir da última década do século XX, a questão ambiental assumiu grande importância no contexto nacional e internacional, com o envolvimento direto de instituições de pesquisa, organizações e da sociedade de um modo geral. É fato que alguns pontos tornam-se cada vez mais explícitos e necessários, como a necessidade de metodologias que forneçam subsídios para o planejamento e tomada de decisões mais precisas, adequadas e ágeis, porém com visão mais efetiva quanto à incorporação da componente ambiental no processo, contemplando num futuro próximo a rastreabilidade da “pegada hídrica” nos sistemas de produção (HOEKSTRA *et al.*, 2011).

A água de má qualidade pode afetar a vida e saúde dos animais, causando redução de consumo de água, diarreia, redução de ganho de peso e até morte dos animais. A quantidade diária de água exigida por bovinos é influenciada por fatores tais como temperatura ambiente, peso, idade, fase de vida do animal (prenhez, lactação, engorda e crescimento) e consumo de matéria seca. O fornecimento de água pode ser realizado através de fontes naturais como represas e lagos ou fontes artificiais como os bebedouros. Fornecimento inadequado diminui o consumo alimentar prejudicando o desempenho do animal (ALVAREZ-VASQUEZ *et al.*, 2011).

Segundo MELO (2014), do ponto de vista econômico, a água representa o nutriente de mais baixo custo, porém fisiologicamente é essencial no metabolismo orgânico. Ela está distribuída no corpo animal de forma heterogênea, mantendo o equilíbrio dinâmico entre os compartimentos do organismo. O aumento da temperatura ambiente leva a um incremento no consumo de água. As perdas de calor corporal pelos suínos e aves é um processo dificultoso, já que estes não possuem glândulas sudoríparas. Em clima quente há a necessidade de auxiliar a perda de calor destes animais através de ambientes adequados e água

fresca. Com o aumento da temperatura estes animais podem dobrar o consumo de água (SANTOS e SANT'ANNA, 2010).

A necessidade mínima de consumo de água de bovino de corte é de 45 L por cabeça por dia, ou cerca de 8-9 litros para cada 100 kg de peso vivo, em condições de manejo adequado. A ovelha gestante aumenta o consumo a partir do terceiro mês e dobra no quinto mês, enquanto que a ovelha lactante tem o dobro do consumo que a não lactante. A privação de água é acompanhada por severa depressão no consumo de alimentos e predispõe as ovelhas a toxemia gravídica (ou doença da gestação). A adequada ingestão de água é essencial para a excreção de substâncias tóxicas, tais como oxalatos, amônia e sais minerais. A água a zero grau suprime a atividade microbiana ruminal por 4 horas após a ingestão, diminuindo a taxa de produção. Para os ovinos, se mantidos em pastagens de qualidade média, o consumo em clima temperado chega a 4 L cabeça por dia e de 5 a 6 L cabeça por dia em clima quente (MELO, 2014). Em bovinos leiteiros, o consumo de água por dia chega a 95 L, extremamente influenciado pela quantidade de sais e ferro contido na água, que por sua vez é influenciado pela quantidade de micro organismos presentes (MANN *et al.*, 2013).

LUCAS *et al.* (2010) ressaltam ainda que a análise bacteriológica surge como uma importante ferramenta ao reconhecimento da qualidade da água de consumo. Técnicas bacteriológicas são sensíveis e específicas ao agente patogênico investigado em qualquer instância, seja no alimento, no solo ou na água. HOEKSTRA e CHAPAGAIN (2007) descrevem que a qualidade de água para consumo animal está diretamente ligada a quantidade de água gasta no sistema de produção, que hoje está inserido no conceito de “pegada hídrica”, que nada mais é que a quantidade de água gasta por unidade de produto. Quanto melhor a qualidade, menor a quantidade de água gasta.

O objetivo do presente trabalho foi analisar a

qualidade microbiológica da água de consumo animal dentro das áreas do Instituto de Zootecnia, em Nova Odessa, observando a presença de coliformes totais e coliformes fecais e contagem de Bactérias heterotróficas, conforme Decreto N° 8468, de 1976 da CETESB (CETESB, 2008).

MATERIAL E MÉTODOS

A sede do Instituto de Zootecnia (IZ) está situada na cidade de Nova Odessa, SP, e pertence à Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios, Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo. A área de estudo é de uso agropecuário e de pesquisa, com grande disponibilidade de recursos hídricos. Foram selecionadas três áreas para amostragem da água: área destinada a crescimento e engorda de bovinos, área central do IZ e área de preservação Ambiental Armelindo Nindo Budini “Manancial”, as duas últimas utilizadas como fonte de consumo dos animais, uso doméstico e instalações de pesquisa e administrativas.

Em cada um dos 25 pontos (Tabela 1) de amostragem localizados nas três áreas acima citadas, a coleta foi feita utilizando uma vasilha plástica de 500 mL vedada com papel alumínio na boca e tampa e autoclavada, com o cuidado de evitar contato com as mãos ou qualquer outro contato com o meio externo. Após a coleta a água foi armazenada imediatamente em isopor sob refrigeração a 5°C e levada ao laboratório para processamento das análises microbiológicas. Sob fluxo laminar, 50 µL de cada amostra foi semeada, com auxílio de alça de Drigalski, nos meios de cultura, usando três repetições para cada coleta.

Os meios de cultura utilizados para análise e contagem das bactérias foram o TSA, o R2A e o Kit CoLiItest® (presença de coliformes totais e *E. coli*).

Para a preparação do meio de cultura TSA, diluiu-se em 1000 mL de água destilada *Tryptic Soy Broth* (comercial): - 30 g/L e Agar: - 20 g/L. O meio de cultura foi dissolvido em frascos *Schott* de 500 mL e esterilizado em autoclave, a 121°C (1 atm), durante 20 minutos. Após esterilização, os frascos foram arrefecidos até cerca de 50-55°C e colocados em condições de assepsia, sob fluxo laminar horizontal, cerca de 15 mL em cada uma das caixas de Petri previamente esterilizadas. Após

solidificados, os frascos contendo meios de cultura foram acondicionados sob refrigeração (4°C).

Para a preparação do meio R2A diluiu-se em 1000 mL de água destilada 0,50g de extrato de levedura; 0,50g de protease peptona; 0,50g de caseína hidrolisada; 0,50g de amido; 0,50g de glicose; 0,30g de fosfato hidrogênio dipotássico; 0,024g de sulfato de magnésio anidro; 0,30g de piruvato de sódio; e 15,00g de agar. O preparo foi idêntico ao meio acima citado.

O kit CoLiItest® contém frascos descartáveis e esterilizados de 100 mL para colocação da água coletada; blisters inativadores de cloro; meio de cultura COLItest®, revelador Indol e tubos de ensaio para realização dos testes de fluorescência e indol. A sensibilidade do teste é de 1 UFC por 100 mL. A água de cada ponto de amostragem foi coletada e acondicionada nos frascos descartáveis até a marca de 500 mL. As amostras cloradas foram previamente tratadas com o blister inativador, agindo por 20 minutos. Posteriormente adicionou-se o meio de cultura COLItest® e homogeneizou. As amostras foram incubadas em estufas a 37°C por 18 a 48hs. O frasco controle continha água purificada por osmose reversa e autoclavada.

As provas de fluorescência e indol foram utilizadas para verificação da presença de *E. coli* nas amostras de água positivas para coliformes totais. Segundo o fabricante, 10 mL da amostra foi colocado em frasco e observada sob luz ultravioleta para emissão de fluorescência e em seguida, submetida a prova de indol, com adição de 50 mL do regente do Kit. Nos resultados positivos (alteração na cor púrpura para o amarelo) se faz necessário a prova de fluorescência e de indol. Já nos resultados negativos (sem alteração na cor púrpura) não há necessidade da prova.

Para a prova de fluorescência (presença de *E. coli*), foram transferidos 5 mL da cultura onde cresceram coliformes totais para um tubo de ensaio, que foi submetido à fluorescência azul sob luz ultravioleta (lâmpada negra de 3 a 6 w, ondas longas de 365 nm). A prova de indol (teste opcional para confirmação de presença de *E. coli*) foi realizadas após a verificação da fluorescência, adicionando-se ao mesmo tubo 0,2 mL do revelador de Indol. O teste foi positivo quando houve a formação de um anel vermelho na superfície do meio (ALVES, 2007; GEHRING *et al.*, 2014).

Tabela 1. Pontos de amostragem

Área 1	Unidade de Recria e Engorda de Bovino de Corte (Maracanã)
1a	Olho d'água
1b	Córrego (30 m distância do olho d'água)
2a	Lago principal (borda)
2b	Lago principal (4 m distância da borda)
3	Torneira do estábulo
4	Bebedouro gado de corte (próximo estábulo)
5	Bebedouro gado de corte (piquete 12 A)
6	Bebedouro gado de corte (piquete 6 A)
Área 2	Sede do IZ- Centro da Cidade
7	Torneira casa de confinamento bovino (água tratada)
8	Córrego (ponte da estrada dentro do IZ)
9	Lago nascente
10	Lago principal IZ
11	Bebedouro ovino (água tratada)
12	Nascente de frente com o bosque Izidoro Bordon
13	Córrego Planalto (que sai do Bosque)
14	Bebedouro gado fistulado (água tratada)
15	Filtro da cozinha Laboratório de Análise de Sementes, Botânica e Fisiologia vegetal (água tratada e filtrada)
16	Torneira Laboratório de Análise de Sementes, Botânica e Fisiologia vegetal (água tratada)
Área 3	Área de Preservação Ambiental Armelindo Nindo Budini (Manancial)
17	Nascente Manancial
18	Caixa coletora da nascente Manancial
19	Ladrão antes da caixa d'água
20	Caixa d'água (com tratamento cloro)
21	Córrego Marajoara
22	Entrada de água do córrego Marajoara para o Bosque
23	Lago Bosque Izidoro Bordon

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados das análises de coliformes fecais e *E. coli* revelaram a presença ou não da população bacteriana na amostra. Das 25 amostras coletadas, 7 mostraram a presença de coliformes totais (28%), das quais duas mostraram a presença de coliformes fecais (8%). A presença de coliformes totais foi observada nas áreas da borda do lago principal (ponto 2a) da área experimental do Maracanã, bem como a 4 m de distância da borda (ponto 2b); no bebedouro para gado bovino, no piquete 6A; na sede do IZ, nas áreas do córrego (ponte da estrada principal), no lago próximo à hospedaria e no Córrego Planalto (que sai do Bosque), além do lago

do Bosque Isidoro Bordon. Destas áreas, a borda do lago principal da área experimental do Maracanã e o Córrego Planalto (que sai do Bosque e percorre a sede do IZ) apresentaram coliformes fecais, sendo totalmente impróprias para consumo humano e animal. Como resultados da contagem de bactérias heterotróficas (Tabela 2) das 25 amostragens realizadas, 16 foram positivas para no meio R2A (64% das amostras) e 7 amostras foram positivas no meio TSA (28%).

A água deve, de preferência, ser oferecida em bebedouros artificiais, com o propósito de evitar danos ambientais (erosão, assoreamento), muito comuns em áreas de maior declividade, solos arenosos e principalmente em pequenos cursos de

Tabela 2. Contagem de bactérias heterotróficas em meio R2A e TSA, coliformes totais e *E. coli* nos pontos amostrados

Pontos	Meio R2A	Meio TSA	ColiTest®	
	Média UFC/ml1	Média UFC/ml	Colif. Totais presença (+) ou ausência (-)	<i>E. coli</i>
1a	127	20	-	-
1b	1413	613	-	-
2a2	2200	1920	+	+
2b	2113	993	+	-
3	180W	100	-	-
4	1620	1087	-	-
5	5647	660	-	-
6	3713	1807	+	-
7	1073	220	-	-
8	6020	453	+	-
9	7573	5073	+	-
10	5440	1147	-	-
11	4807	7	-	-
12	3827	980	-	-
132	2093	61	+	+
14	153	107	-	-
15	0	0	-	-
16	0	0	-	-
17	0	0	-	-
18	273	7	-	-
19	160	0	-	-
20	0	0	-	-
21	4420	2387	-	-
22	5413	587	-	-
23	3933	1187	+	-

¹UFC/mL = Unidade Formadora de Colônia por mL de água. ²Amostra positiva para *E.coli*.

água (Figura 1). Há várias referências de que a água define as ondas de pastejo, com os animais iniciando as ondas de desfolhação da forragem a partir dos pontos de água. Em condições extensivas, o bovino pode se afastar até 1600 m do ponto de água em busca da forragem (MANN *et al.*, 2013; COIMBRA, 2007).

Embora a CETESB não utilize o meio R2A como indicador de qualidade de água, este meio pode ser uma alternativa na contagem de bactérias heterotróficas e no isolamento de subculturas de água potável (ALVES, 2007; MANDAL *et al.*, 2013). É recomendado pela APHA (Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater) para plaqueamento, espalhamento em placa e técnica de membrana filtrante (ALVES, 2007). No teste estatístico de análise de variância (GOMES, 2010), o resultado

obtido foi significativo a 1% de probabilidade pelo teste de F (1,781) mostrando a diferença entre os meios R2A e TSA utilizados, provando que o meio R2A obteve melhores resultados na identificação de bactérias heterotróficas presentes na água.

Tal diferença nas contagens também foi observado por MASSA *et al* (1998) e por SMITH *et al.* (2004), que comparando as contagens em ambos os meios, o R2A apresentou contagem de bactérias heterotróficas 293% superior aos resultados obtidos no meio TSA, mostrando que os meios ricos em nutrientes podem mascarar a variedade de microrganismos presentes na água (DEFIVES *et al.*, 1999). Para ALVES (2007) e BARTLEY *et al.* (2013) os métodos oficiais de detecção devem ser revistos de forma a contemplar a gama de bactérias presentes na água para consumo humano e oferecida aos animais de produção.

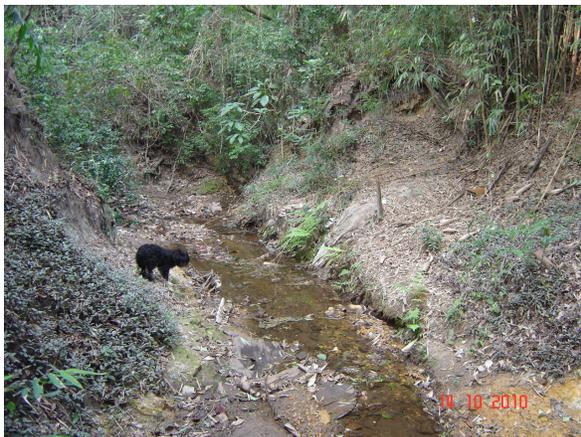


Figura 1. Córrego que passa no bairro Marajoara, Nova Odessa e deságua no Instituto de Zootecnia com entulhos e assoreamento, além da presença de animal silvestre (ponto de coleta 21).

A contagem de placas é recomendada para análise bacteriana de água potável dando estimativa das bactérias aeróbicas e facultativamente anaeróbicas que crescem melhor a 35°C variando entre +5 e -5 °C em um meio rico em nutrientes, bastante diferente de seu habitat natural, ou seja, a água. Entretanto estes micro organismos podem representar pequeno número do total de bactérias já que outras bactérias também são capazes de crescer na água mas crescem muito vagorosamente e podem não ser detectadas em 48 horas. Agar R2A é uma modificação do meio TSA, sendo menos nutritivo e mais semelhante à condição da água. Muitas bactérias de águas naturais, que contêm nutrientes limitados em temperatura ambiente, crescem melhor em meios com níveis menores de nutrientes. Elas crescem melhor em temperaturas abaixo a da temperatura de incubação de rotina do laboratório de 35 a 37 °C (STEWART *et al.*, 2013; GEHRING *et al.*, 2014).

O Agar R2A é um meio de baixo nutriente consistindo de menos peptona e extrato de levedura quando comparado ao Agar Métodos Padrões. Este meio permite o crescimento de bactérias estressadas e tolerantes ao cloro presente em águas tratadas (KODAKA *et al.*, 2008; TANER *et al.*, 2011).

A presença de cianobactérias em bebedouros deve ser evitada, mantendo os bebedouros ao ar livre sempre limpos e com suas bordas escovadas. As cianofíceas são confundidas com algas, porém

são proliferações de bactérias no meio aquático. Elas são gram-negativas, sua parede celular é pouco permeável aos antibióticos e, assim como muitas bactérias, elas são capazes de liberar toxinas, podendo contaminar mananciais de água sem que o tratamento de água tradicional e tampouco a sua fervura seja eficaz para a eliminação das toxinas. As cianotoxinas comprometem a vida aquática e a dos que têm ligação com as mesmas. Algumas destas são neurotoxinas bastante potentes e outras são tóxicas principalmente para o fígado, sendo que há, ainda, aquelas que podem ser irritantes por simples contato físico. A diminuição dos movimentos motores, prostração, cefaléia e hemorragias são alguns dos sintomas que podem caracterizar a intoxicação por ingestão de água proveniente de fontes contaminadas por cianobactérias (TEIXEIRA, 2009; BERTHIAUME *et al.*, 2010).

CONCLUSÃO

O método R2A mostrou-se mais eficiente na detecção de bactérias heterotróficas e deve ser adotado como método padrão para contagem total de bactérias heterotróficas, estabelecendo padrões mais reais às agências de fiscalização e controle sanitário, uma vez que identifica micro organismos de multiplicação tardia. As áreas analisadas onde havia tratamento com cloro não apresentaram coliformes totais, o que demonstra mais uma vez a eficiência deste tratamento. A *E. coli* foi detectada em locais onde os animais, tanto de produção como os silvestres, tem livre acesso, levando a contaminação dos recursos hídricos por pisoteio do solo, fezes e urina, salientando a importância de isolamento das áreas em questão bem como adequada manutenção dos recursos hídricos, como isolamento das nascentes e áreas de mata nativa.

REFERÊNCIAS

- ALVAREZ-VASQUEZ, L.J.; MARTÍNEZ-RODRÍGUEZ, A.C.; VÁZQUEZ-MÉNDEZ, M.E. SOS: A numerical simulation toolbox for decision support related to wastewater discharges and their environmental impact. *Environmental Modelling & Software*, v.26, p.543-545, 2011.
- ALVES, M.G. **Bactérias na água de abastecimento da cidade de Piracicaba**. 101 p. 2007. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2007.

BARTLEY, R.; BAINBRIDGE, Z.T.; LEWIS, E.E.;

- KROONC, F.J.; WILKINSOND, S.N.; BRODIE, J.E.; SILBURN, D.M. Relating sediment impacts on coral reefs to watershed sources, processes and management: A review. **Science of the Total Environment**, v.468-469, p.1138-115, 2013.
- BERTHIAUME, P.; RAVEL, A.; MICHEL, P.; BRAZEAU, S.; BIGRAS-POULIN, M., Sensitivity analysis of agroenvironmental indicators of the pressure from livestock production on population health. **Biosystemns Engineering**, v.105, p.71-81, 2010.
- CETESB. **Infoáguas**. Disponível em: < <http://www.cetesb.sp.gov.br/agua/infoaguas/131-sistema-de-informacao-infoaguas>>. Acesso em: 15 abr. 2014.
- CETESB. **Qualidade das águas interiores no Estado de São Paulo: significado ambiental e sanitário das variáveis de qualidade das águas e dos sedimentos e metodologias analíticas e de amostragem**. São Paulo, 2008. 41p. (Série relatórios, apêndice A) Disponível em: < <http://www.cetesb.sp.gov.br/agua/aguas-superficiais/35-publicacoes/-relatorios>>. Acesso em: 15 abr. 2014.
- COIMBRA, P.A.D. **Aspectos extrínsecos do comportamento de bebida de bovinos em pastoreio**. 103p. 2007. Dissertação. (Mestrado em Agroecossistemas) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2007.
- DEFIVES, C.; GUYARD, S.; OULARÉ, M.M.; MARY, P.; HORNEZ, J.P. Total count, culturable and viable non-culturable microflora of a French mineral water: a case study. **Journal of Applied Microbiology**, v.86, p.1033-1038, 1999.
- GEHRING, A.G.; PAOLI, G.C.; REEDA, S.A.; TUA, S.I.; LINDSAY, J.A. Casamino acids and oxyrase enhance growth of listeria monocytogenes in multi-pathogen enrichments. **Food Control**, v.40, p.93-99, 2014.
- GOMES, F.P. **Curso de estatística experimental**. 15. ed. Piracicaba: FEALQ, 2010. 451p.
- HOEKSTRA, A.Y.; CHAPAGAIN, A.K. Water footprints of nations: water use by people as a function of their consumption pattern. **Water Resource Management**, v.21, p.35-48, 2007.
- HOEKSTRA, A.Y.; CHAPAGAIN, A.K.; ALDAYA, M.M.; MEKONNEN, M.M. **The Water Footprint Assessment Manual: setting the Global Standard**. London: Earthscan, 2011. 206p.
- KODAKA, H.; TERAMURA, H.; NIRAZUKA, T.; MIZUOCHI, S. Evaluation of a new medium for the enumeration of total coliforms and *Escherichia coli* in Japanese surface waters. **Journal of Applied Microbiology**, v.104, p.1112-1118, 2008.
- LUCAS, A.A.T.; FOLEGATTI, M.V.; DUARTE, S.N. Qualidade da água em uma microbacia hidrográfica do Rio Piracicaba, SP. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.14, p.937-943, 2010.
- MANDAL, A.K.; KYADAV, K.K.; SEN, I.K.; KUMAR, A.; CHAKRABORTI, S.; ISLAM, S.S.; CHAKRABORTY, R. Partial characterization and flocculating behavior of an exopolysaccharide produced in nutrient-poor medium by a facultative oligotroph *Klebsiella* sp. PB12. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v.115, p.76-81, 2013.
- MANN, G.R.; DUNCAN, S.E.; KNOWLTON, K.F.; DIETRICH, A.D.; O'KEEFE, S.F. Effects of mineral content of bovine drinking water: Does iron content affect milk quality? **Journal of Dairy Science**, v.96, p.7478-7489, 2013.
- MASSA, S.; CARUSO, M.; TROVATELLI, F.; TOSQUES, M. Comparison of plate count agar and R2A medium for enumeration of heterotrophic bacteria in natural water. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, v.14, p. 727-730, 1998.
- MELO, T.V. **Água na nutrição animal**. 2005. Disponível em: < <http://www.bichoonline.com.br/artigos/Xtv0002.htm>>. Acesso em: 15 abr. 2014.
- SANTOS, K.R. de S., SANT'ANNA, C. L. Cianobactérias de diferentes tipos de lagoas ("salina", "salitrada" e "baía") representativas do Pantanal da Nhecolândia, MS, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, v.33, p.61-83, 2010.
- SMITH, R. S.; PINEIRO, S.A.; SINGH, R.; ROMBERG, E.; LABIB, M.E.; WILLIAMS, H.N. Discrepancies in bacterial recovery from dental unit water samples on R2A medium and a commercial sampling device. **Current Microbiology International Journal**, v.48, p.243-246, 2004.
- STEWART, J.R.; BOEHMB, A.B.; DUBINSKYC, E.A.; FONG, T.T.; GOODWINE, K.D.; GRIFFITHF, J.F.; NOBLE, R.T.; SHANKS, O.C.; VIJAYAVEL, K.; WEISBERGF, S.B. Recommendations following a multi-laboratory comparison of microbial source tracking methods. **Water Research**, v.47, p.6829-6838, 2013.

TANER, M.U.; ÜSTUN, B.; ERDİNÇLER, A. A simple tool for the assessment of water quality in polluted lagoon systems: A case study for Küçükçekmece Lagoon, Turkey. **Ecological Indicators**, v.11, p.749-756, 2011.

TEIXEIRA, D.L.; HOTZEL, M.J.; MACHADO FILHO, L.C.P.; ENRIQUEZ, D.; CAZALE, J.D. Aspectos etológicos no suprimento de água em bovinos leiteiros. **Biotemas**, v.22, p.193-198, 2009.