

QUANTIFICAÇÃO E IDENTIFICAÇÃO DE
Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa e
Aeromonas hydrophila **EM ÁGUA DE**
PROPRIEDADES LEITEIRAS

ALINE MALLET

2007

ALINE MALLET

**QUANTIFICAÇÃO E IDENTIFICAÇÃO DE *Escherichia coli*,
Pseudomonas aeruginosa e *Aeromonas hydrophila* EM ÁGUA DE
PROPRIEDADES LEITEIRAS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Mestrado em Ciência dos Alimentos, área de concentração em Microbiologia de Alimentos, para obtenção do título de “Mestre”.

Orientadora

Prof^a Roberta Hilsdorf Piccoli

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL
2007

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca Central da UFLA**

Aline, Mallet

QUANTIFICAÇÃO E IDENTIFICAÇÃO DE *Escherichia coli*,
Pseudomonas aeruginosa e *Aeromonas hydrophila* EM ÁGUA DE
PROPRIEDADES LEITEIRAS/Aline Mallet. – Lavras: UFLA, 2007
61 p.: il.

Orientador: Roberta Hilsdorf Piccoli
Dissertação (Mestrado) – UFLA.
Bibliografia.

1. Água. 2. Leite 3. Qualidade I. Universidade Federal de Lavras.
II. Título.

CDD-576.163

ALINE MALLET

**QUANTIFICAÇÃO E IDENTIFICAÇÃO DE *Escherichia coli*,
Pseudomonas aeruginosa e *Aeromonas hydrophila* EM ÁGUA DE
PROPRIEDADES LEITEIRAS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Mestrado em Ciência dos Alimentos, área de concentração em Microbiologia de Alimentos, para obtenção do título de “Mestre”.

APROVADA em 28 de Fevereiro de 2007

Prof. Luiz Ronaldo de Abreu

DCA/UFLA-MG

Prof. Alexandre Tourino Mendonça

UNINCOR-MG

Prof. José Guilherme Lembi Ferreira Alves

DCA/UFLA-MG

Prof.^a Roberta Hilsdorf Piccoli
UFLA
(Orientadora)

LAVRAS
MINAS GERAIS – BRASIL

OFEREÇO

*Aos meus pais Valmir Mallet e Mara Mallet, pela confiança, amor, e
preocupação.*

*Aos meus irmãos Alan, Alex e Max (In memória), pelo apoio ainda que
de longe e pela força nas horas mais difíceis dessa caminhada.*

*A todos meus familiares, pelo incentivo, carinho e amor, apesar de
distantes sempre se fizeram presentes.*

*Aos amigos pela companhia ao longo das intermináveis jornadas de
trabalho.*

DEDICO

A Deus pelos obstáculos colocados em meu caminho e pela força que me deu para transpassá-los.

A mim pela dedicação e perseverança durante toda a condução do curso.

AGRADECIMENTOS

A Deus pela proteção e a vida e por todas as suas bênçãos.

À Universidade Federal de Lavras pela oportunidade de realização do curso.

À professora Roberta Hilsdorf Piccoli pela orientação, credibilidade, amizade, liberdade e confiança durante o mestrado.

A todos os professores do Departamento de Ciência dos Alimentos pelo apoio, em especial, ao professor Luiz Ronaldo de Abreu que sempre me atendeu prontamente e me ensinou muito.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ), pela concessão da bolsa de estudos.

A EMATER pelo apoio técnico oferecido. Em especial, aos técnicos: Francisco, Nilson, Carlos, Salvador, Willian e Luiz Geraldo.

Aos funcionários das secretarias de pós-graduação e de graduação do Departamento de Ciência dos Alimentos, pela paciência, e aos funcionários responsáveis pela limpeza (Léia e Meire), pela amizade, preocupação e descontração nas horas vagas.

Aos funcionários do laboratório de Microbiologia de Alimentos do DCA/UFLA, Eliane e Cipriano (seu piano); e Dircéia (laboratório de bacteriologia), pela colaboração com as análises.

Aos amigos da UFLA (Bel, Camilinha, Cleube, Maíra, Danilo, Halan, Suzana, Simone, Carol, Nélio, Janine, Lívia, Sabrina, Priscila, Cibele, Verônica), da pensão (D. Itinha, Seu Zé, Letícia (loira e morena), Geraldo, Alan, Haroldo, Denilaine, Camila, Cínara, Mirinha, Elis, Bianca, Mara), pelo auxílio na condução do experimento e pelos momentos de descontração.

Aos amigos mais que amigos, Carol e Wander, pela amizade, ajuda, otimismo e força em todos os momentos de alegria e de dificuldades.

Ao Leal pela ajuda, carinho e companheirismo durante toda essa etapa de minha vida.

Ao meu pai, que me deu o amor e o início da formação, me ensinou a respeitar ao próximo, sendo sempre incentivador ativo de minha carreira.

À minha mãe, por todo amor, por ter sido a disciplinadora de minha vida, sabendo incentivar com ternura e firmeza, com confiança e certeza de que não havia o obstáculo que tantas vezes criei.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a execução desse projeto.

BIOGRAFIA

Aline Mallet, filha de Valmir Mallet e Mara Mallet, natural do Rio de Janeiro, RJ.

Em Março de 1998, ingressou na Universidade do Rio de Janeiro - UNIRIO, onde em Setembro de 2002, obteve o título de Nutricionista.

Em março de 2005, iniciou o curso de Pós-graduação em Ciência dos Alimentos, na Universidade Federal de Lavras – MG, tendo concentrado seus estudos na área de Microbiologia de Alimentos.

Em Fevereiro de 2007, submeteu-se a defesa de dissertação para obtenção do título de “Mestre”.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE TABELAS.....	i
LISTA DE FIGURAS.....	iii
RESUMO.....	iv
ABSTRACT.....	v
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	4
2.1 Importância da água na produção leiteira.....	5
2.2 Potabilidade da água.....	6
2.3 Contaminação microbiológica da água	7
2.3.1 Doenças de veiculação hídrica.....	9
2.4 <i>Escherichia coli</i>	11
2.5 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	13
2.6 <i>Aeromonas hydrophila</i>	14
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	17
3.1 Amostragem.....	17
3.2 Entrevista	18
3.3 Coleta das amostras.....	18
3.4 Análises Microbiológicas.....	19
3.4.1 Quantificação de Coliformes.....	19
3.4.2 Quantificação de coliformes termotolerantes.....	20
3.4.3 Isolamento e identificação bioquímica de <i>Escherichia coli</i>	20
3.4.4 Isolamento e identificação bioquímica de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	20
3.4.5 Isolamento e Identificação bioquímica de <i>Aeromonas hydrophila</i>	21

3.5 Análise estatística.....	21
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	23
4.1 Análise do questionário.....	23
4.2 Análise microbiológica da água.....	29
4.2.1 Contagem total.....	29
4.2.2 <i>Escherichia coli</i>	38
4.2.3 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	41
4.2.4 <i>Aeromonas hydrophila</i>	45
5 CONCLUSÕES.....	50
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	51
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	52
ANEXOS.....	61

LISTA DE TABELAS

		Página
TABELA 1	Principais doenças causadas por patógenos veiculados pela água.....	8
TABELA 2	Padrão microbiológico de potabilidade para água de consumo humano.....	11
TABELA 3	Distribuição, em número e porcentagem, quanto ao uso de algum tipo de proteção usada na captação da fonte de abastecimento de água de água (poço ou nascente) utilizada no processo de obtenção do leite das propriedades pesquisadas na micro-região de Lavras-MG.....	23
TABELA 4	Distribuição, em número e porcentagem, quanto ao uso de algum tipo de tratamento da água utilizada no processo de obtenção do leite das propriedades pesquisadas na micro-região de Lavras-MG.....	24
TABELA 5	Distribuição, em número e porcentagem, quanto à noção de qualidade da água utilizada no processo de obtenção do leite das propriedades pesquisadas na micro-região de Lavras-MG.....	25
TABELA 6	Distribuição, em número e porcentagem, quanto à noção de conhecimento de doenças relacionadas à água.....	26
TABELA 7	Distribuição, em número e porcentagem, quanto à periodicidade de limpeza dos reservatórios de água utilizada no processo de obtenção do leite das propriedades pesquisadas na micro-região de Lavras-MG.....	27
TABELA 8	Distribuição, em número e porcentagem, quanto à localização da fonte de abastecimento de água (poço ou nascente) utilizada no processo de obtenção do leite das propriedades pesquisadas na micro-região de Lavras-MG.....	28
TABELA 9	Contagem total de coliformes termotolerantes nas amostras de água utilizadas em propriedades leiteiras na micro-região de Lavras.....	30
TABELA 10	Contagem total de <i>Pseudomonas</i> sp nas amostras de água utilizadas em propriedades leiteiras na micro-região de lavras.....	31

TABELA 11	Contagem total de <i>Aeromonas</i> sp nas amostras de água utilizadas em propriedades rurais na micro-região de lavras.....	33
TABELA 12	Resumo do Teste de Kruskal - Wallis do logaritmo da contagem de coliformes totais (log(NMP/100mL)), coliformes termotolerantes (log(NMP/100mL)), <i>Pseudomonas</i> sp (log(NMO/100mL)), <i>Aeromonas</i> sp (log(UFC/mL)) de acordo com a época do ano para o ensaio com água utilizada na produção leiteira na micro-região de Lavras – MG.....	35
TABELA 13	Resumo do logaritmo da contagem média de coliformes totais, coliformes termotolerantes, <i>Pseudomonas</i> sp, <i>Aeromonas</i> sp de acordo com a época do ano para o ensaio com água utilizada na produção leiteira na micro-região de Lavras – MG.....	36
TABELA 14	Tabela de Hipótese para igualdade entre as proporções das épocas quanto a presença de <i>Escherichia coli</i> no ensaio com água em propriedades leiteiras na micro-região de Lavras – MG.....	40
TABELA 15	Teste de Hipótese para igualdade entre as proporções das épocas para a contagem de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> no ensaio com água em propriedades leiteiras na micro-região de Lavras – MG.....	44
TABELA 16	Teste de Hipótese para igualdade entre as proporções das épocas para a contagem de <i>Aeromonas hydrophila</i> no ensaio com água em propriedades leiteiras na micro-região de Lavras – MG.....	48

LISTA DE FIGURAS

		Página
FIGURA 1	Dados de precipitação (mm) e de temperatura média (°C) diárias nas estações outono, inverno e primavera.....	37
FIGURA 2	Presença de <i>E. coli</i> , em porcentagem, nas amostras de água utilizadas em propriedades leiteiras na micro-região de lavras - MG nas estações outono, inverno e primavera.....	38
FIGURA 3	Presença de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , em porcentagem, nas amostras de água utilizadas em propriedades leiteiras na micro-região de Lavras - MG nas estações outono, inverno e primavera.....	42
FIGURA 4	Presença de <i>Aeromonas hydrophila</i> , em porcentagem, em águas utilizadas em propriedades leiteiras na micro-região de Lavras - MG nas estações outono, inverno e primavera.....	46

RESUMO

MALLET, Aline. **Quantificação e Identificação de *Escherichia Coli*, *Pseudomonas Aeruginosa* e *Aeromonas Hydrophila* em água de Propriedades Leiteiras.** 2007. 61p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.*

A qualidade da água é de fundamental importância para a indústria de alimentos, em geral, e a de laticínios, em particular. A mesma participa efetivamente desde a produção da matéria-prima, o leite, até sua utilização final pelo consumidor. Além de desempenhar papel fundamental na qualidade do produto, a mesma pode servir como veículo de agentes patogênicos. O objetivo do trabalho foi pesquisar a qualidade microbiológica de águas utilizadas na obtenção do leite em 25 propriedades rurais da micro-região de Lavras – Minas Gerais. As coletas foram conduzidas em três períodos distintos, compreendendo as estações outono, inverno e primavera. Foram realizadas análises para a quantificação de coliformes totais e termotolerantes, quantificação, isolamento e caracterização bioquímica de *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Aeromonas hydrophila*. Verificou-se que a *Escherichia coli* esteve presente em 52% das propriedades, em todas as estações do ano. *P. aeruginosa* foi encontrada em 16% das propriedades, exceto na época da primavera e a *A. hydrophila* foi detectada em 8% das propriedades, principalmente nas estações outono e primavera. Com base nos resultados, concluiu-se que a qualidade microbiológica da água utilizada nas propriedades leiteiras, em sua maioria, encontra-se fora dos padrões de potabilidade, sendo uma grande veiculadora de microrganismos patogênicos e deterioradores, como: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Aeromonas hydrophila*.

*Comitê de Orientação: Roberta Hilsdorf Piccoli – UFLA/DCA (Orientadora); Luiz Ronaldo de Abreu – UFLA/DCA (Co-orientador)

ABSTRACT

MALLET, Aline. **Quantification and identification of *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Aeromonas hydrophila* in water dairy farms.** 2007. 61p. Dissertation (Master Degree in Food Science). Lavras Federal University, Lavras.*

Water quality plays a key role in both milk production and milk products manufacturing. It serves as vehicle to a wide number of microorganisms, including pathogenic agents. The aim of this work was to verify the microbiological quality of water utilized in milk production in twenty five dairy farms of the region of Lavras – Minas Gerais. Samples were collected in three periods of the year: the first between March and April, the second between August and September and the last one between October and November, which corresponded the seasons of autumn, winter and spring, respectively. Microbiological analyses were conducted to quantify total and thermotolerant coliforms and to quantify, isolate and identify *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Aeromonas hydrophila* in function of their biochemical profile. *Escherichia coli* was present in water of 52% of the properties, in all seasons. *P. aeruginosa* was found in 16% of the properties, in all season except spring and *A. hydrophila* was detected in 8% of the properties, mainly in the seasons of autumn and spring. In conclusion the low microbiological quality of water utilized in milk properties, in the region of Lavras, can be considered a negative factor in the milk production, mainly because of the presence of some waterborn spoilage and pathogenic bacteria such as *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Aeromonas hydrophila*.

*Guidance Committee: Roberta Hilsdorf Piccoli – UFLA/DCA (Advisor); Luiz Ronaldo de Abreu – UFLA/DCA (Co-advisor)

1 INTRODUÇÃO

A produção de alimentos seguros, saudáveis e nutritivos, em bases sustentáveis e competitivas, é um dos fundamentos da segurança alimentar. Não basta dispor de alimentos em quantidade para abastecer a população. Um dos fundamentos da segurança alimentar é garantir que a população tenha acesso a alimentos imprescindíveis à sua nutrição, o que inclui tanto a produção como o abastecimento e a comercialização.

Portanto, produzir leite em bases sustentáveis e competitivas seria uma das condições iniciais para programas que visem à segurança alimentar da população brasileira. A outra condição é que, como alimento, o leite chegue às mãos dos consumidores como um produto saudável e nutritivo, seja na forma de fluido ou na forma de derivados lácteos.

A globalização de mercados, em função da grande e variada oferta de produtos lácteos importados, induziu o consumidor brasileiro a tornar-se mais exigente em relação à qualidade dos produtos oferecidos. A indústria leiteira, por sua vez, tem se modernizado exigindo do produtor um leite de melhor qualidade, na tentativa de tornar-se mais competitiva.

A indústria leiteira mundial atravessa um período de intensas transformações em sua estrutura, e pode-se identificar como principais tendências à diferenciação do pagamento ao produtor e o aumento nas exigências de qualidade do leite por parte das indústrias, assim como maior preocupação dos consumidores com relação à segurança alimentar (Prata, 1998). Nesse novo cenário, os produtores precisam se adequar de forma a manter a atividade de produção de leite como uma operação rentável e eficaz.

Dentro dessa perspectiva, os produtores devem adaptar-se, de forma gradual, aos parâmetros exigidos pela Instrução Normativa nº 51, que estabelece

novas regras para a produção do leite visando uma melhoria do produto. Quanto à obtenção da matéria-prima, “leite cru resfriado”, a IN 51, tem por objetivo a qualidade nas propriedades rurais, fixando requisitos físicos, químicos, microbiológicos, resíduos químicos e de contagem de células somáticas.

O futuro da atividade leiteira depende em última análise da capacidade dos órgãos governamentais em lidar com o setor, e da eficiência dos produtores, industriais e distribuidores de produzir, industrializar e oferecer ao consumidor um produto de qualidade superior. A realidade brasileira pode trazer dúvidas quanto à aplicabilidade dessa previsão, entretanto com a abertura do mercado a produtos importados, a atividade somente sobreviverá com competitividade quando os aspectos de qualidade forem realmente pensados como fatores integrantes e indispensáveis da atividade.

A qualidade do leite e de seus derivados está de forma crescente ganhando importância em toda a cadeia produtiva dessa atividade, englobando também o consumidor, que está cada vez mais atento à qualidade dos produtos que adquire. Até pouco tempo o sistema de pagamento do leite levava em consideração somente o volume recebido pelos laticínios e em alguns casos o seu teor de gordura; dessa forma o produtor de leite tinha de se preocupar quase que exclusivamente em ter seu leite aceito (leite não ácido) na plataforma de recepção. Nos últimos tempos, entretanto, o sistema de pagamento do leite levando em consideração alguns parâmetros de qualidade está se tornando uma realidade em muitas regiões brasileiras, sendo a expansão desse sistema um fato que está e continuará acontecendo, a despeito das tradições e realidades regionais.

A obtenção de produtos lácteos de boa qualidade depende de vários fatores como o estado sanitário do rebanho, a limpeza dos equipamentos e utensílios destinados a sua obtenção, a higiene do local e particularmente a água utilizada na propriedade. A água além de desempenhar papel importante na

obtenção de um produto de boa qualidade, pode ser veículo de agentes patogênicos para seres humanos e animais (Lunder & Breenne, 1996).

Em propriedades rurais é comum o uso de água oriunda de lençóis subterrâneos no processo de obtenção do leite, sem qualquer forma de tratamento. Portanto, a mesma podem representar importante fonte de contaminação bacteriana para o úbere, utensílios, equipamentos, e por conseqüência, ao leite.

Pelo exposto, o objetivo deste trabalho foi verificar a qualidade microbiológica da água utilizada em propriedades leiteiras, quanto à presença dos seguintes microrganismos: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Aeromonas hydrophila*. Tendo em vista que são microrganismos patogênicos e deterioradores, a presença destes na água pode afetar não só a saúde dos indivíduos que a consome, mas também levar a depreciação nas características sensoriais do leite, e por conseqüência afetar no seu processo tecnológico.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

A qualidade insatisfatória do leite produzido no Brasil é um problema crônico, de difícil solução, onde fatores de ordem social, econômica, cultural e até mesmo climática estão envolvidos, e que não tem merecido a devida atenção no campo político, apesar do importante papel representado pelo leite na alimentação da população.

O leite, por ser considerado um alimento completo em nutrientes, torna-se um excelente alimento para o homem e um meio de cultura para a maioria dos microrganismos encontrados na natureza. Sua qualidade é um dos temas mais discutidos atualmente dentro do cenário nacional de produção leiteira, e pode ser definida e medida através de cinco aspectos principais: composição química, contagem total de bactérias, contagem de células somáticas (CCS), integridade e o aspecto estético.

A qualidade do produto final está diretamente relacionada à carga microbiológica do leite ao chegar à indústria beneficiadora, daí a importância da obtenção higiênica do leite.

Depois de secretado no úbere, o leite pode ser contaminado por microrganismos a partir de três principais fontes: de dentro da glândula mamária, da superfície exterior do úbere e tetos, e da superfície do equipamento e utensílios de ordenha e tanque (Santos & Fonseca, 2001).

Desta forma, fatores como a qualidade microbiológica da água, qualidade do ar dos estábulos, sanidade dos ordenhadores e dos animais, contribuem, de modo decisivo, para o estado microbiológico do leite.

2.1 Importância da água na produção leiteira

A água é uma substância de grande importância. Ela participa não só dos processos naturais, mas também de um grande número de atividades criadas pelo ser humano.

Nos últimos anos, pelo fato da água poder atuar como via de transmissão de microrganismos patogênicos para a glândula mamária, essa possibilidade tem sido estudada por vários pesquisadores.

A contaminação da água utilizada na produção tem grande influência na contaminação do leite. Os microrganismos em contato com o leite, rico em nutrientes, podem se multiplicar de maneira significativa, depreciando a qualidade do produto. Nos Estados Unidos, segundo normas de produção de leite pasteurizado, a água utilizada na produção de leite deve ser potável (Willers et al., 1999).

Amaral et al. (1995) ressaltaram que a água utilizada no processo de obtenção do leite pode representar risco potencial tanto para o estado sanitário da glândula mamária como para a qualidade do leite.

Robinson (1987) referiu que a água utilizada para lavar os tetos dos animais, quando muito contaminada por *Pseudomonas* sp. e coliformes, pode ser responsabilizada por surtos de mastites por estes microrganismos.

Em muitos casos, a água é tida como uma das principais via de transmissão de agentes causadores de doenças para os animais domésticos, principalmente bovinos, suínos e aves, as quais, segundo Souza et al. (1983) representam fatores importantes à economia e à saúde pública, pois podem acarretar prejuízos econômicos, e muitos dos seus agentes causais podem ser transmitidos ao homem.

A água utilizada no processo de obtenção do leite sem prévio tratamento, além de comprometer a qualidade do produto, pode também elevar o número de mastite no rebanho (Romano, 2002).

Schukken et al. (1991) relatam que aumenta o risco de ocorrer mastite por *Staphylococcus aureus* quando se utiliza água não tratada no processo de obtenção do leite ou quando a água de lavagem do úbere está contaminada por coliformes. A importância da água na transmissão da mastite é enfatizada pelo fato de o *Staphylococcus aureus* e os *Staphylococcus* coagulase-negativa nela sobreviverem por 30 dias e a *Escherichia coli*, também importante agente etiológico da mastite, por 300 dias (Filip et al., 1988).

Lunder & Breenner (1996), em estudo realizado sobre a qualidade do leite cru produzido na Noruega, afirmam que a contagem bacteriana da água utilizada na higiene da produção do leite tem grande influência na contagem bacteriana do mesmo. Vários são os fatores que podem contribuir para a contaminação das águas subterrâneas, principais fontes de água utilizada em propriedades leiteiras, dentre os quais destaca-se a ubiquidade de determinados microrganismos, especialmente, daqueles pertencentes ao grupo dos coliformes e aos dos gêneros *Staphylococcus* e *Pseudomonas* (Robinson, 1987).

2.2 Potabilidade da água

A qualidade de uma água é definida por sua composição química, física e microbiológica. As características desejáveis dependem de sua utilização. Para água destinada ao consumo humano, devem ser atendidos certos requisitos de qualidade: livre de matéria suspensa visível, cor, gosto e odor, de quaisquer substâncias orgânicas ou inorgânicas que possam produzir efeitos fisiológicos prejudiciais.

Os teores de impurezas que podem estar presentes devem ser limitados, até um nível não prejudicial ao homem. No Brasil, os teores máximos de impurezas na água para consumo humano foram fixados pelo Ministério da Saúde, através da Portaria Federal nº 518, de 25 de Março de 2004, que estabelece os procedimentos e responsabilidades relativas ao controle e

vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade.

De acordo com essa Portaria, a água para consumo humano deve conter ausência em 100 ml de coliformes termotolerantes (fecais). Para água de consumo humano, coletada em amostras individuais de poços, fontes e nascentes, sem distribuição canalizada, tolera-se a presença de coliformes totais na ausência de *E. coli* e/ou coliformes termotolerantes (BRASIL, 2004).

Silva et al. (2005) avaliando a qualidade da água de poços destinada ao consumo humano na cidade de Fortaleza concluíram que 46,7% das amostras analisadas estavam impróprias para o consumo humano.

No Reino Unido após análise de amostras de água de fontes privadas verificou-se que 100% das amostras dos poços e 63% das nascentes estavam fora dos padrões de potabilidade, representando um risco considerável à saúde dos consumidores (Fewtrell et al., 1998).

Amaral et al. (1995) analisando amostras de água utilizadas na produção de leite em 10 propriedades rurais verificaram que 90% das amostras estavam fora dos padrões microbiológicos de potabilidade.

Atualmente, a monitoração da qualidade microbiológica da água destinada ao consumo humano através da pesquisa de agentes contaminantes, principalmente os de origem entérica, representa a possibilidade de diminuições de inúmeros surtos de doenças (Netto et al., 1991).

2.3 Contaminação microbiológica da água

Os principais agentes biológicos descobertos nas águas contaminadas são as bactérias patogênicas, os vírus e os parasitas. As bactérias patogênicas encontradas na água e/ou alimentos constituem uma das principais fontes de morbidade em nosso meio. São as responsáveis pelos numerosos casos de

enterites, diarreias infantis e doenças epidêmicas (como a febre tifóide), com resultados freqüentemente letais.

De acordo com a portaria nº 518 (Brasil, 2004), a água deve estar em conformidade com o padrão microbiológico descrito na Tabela 1.

TABELA 1 Padrão microbiológico de potabilidade para água de consumo humano (Brasil, 2004).

Parâmetro	VMP ⁽¹⁾
Água para consumo humano ⁽²⁾ <i>Escherichia coli</i> ou coliformes Termotolerantes ⁽³⁾	Ausência em 100mL
Água na saída do tratamento Coliformes totais	Ausência em 100mL
Água tratada no sistema de distribuição (reservatórios e rede) <i>Escherichia coli</i> ou coliformes termotolerantes	Ausência em 100mL
Coliformes totais	Sistemas que analisam 40 ou mais amostras por mês: Ausência em 100mL em 95% das amostras examinadas no mês. Sistemas que analisam menos de 40 amostras por mês: Apenas uma amostra poderá apresentar mensalmente resultado positivo em 100mL Ausência em 100mL em 95% das amostras examinadas no mês

1 Valor máximo permitido;

2 Água para consumo humano em toda e qualquer situação, incluindo fontes individuais como poços, minas, nascentes entre outras.

3 A detecção de *Escherichia coli* deve ser preferencialmente adotada.

2.3.1 Doenças de veiculação hídrica

A água de consumo humano é um dos importantes veículos de enfermidades diarreicas de natureza infecciosa, o que torna primordial a avaliação de sua qualidade microbiológica (Isaac-Marquez et al. 1994). As doenças de veiculação hídrica são causadas principalmente por microrganismos patogênicos de origem entérica, animal ou humana, transmitidos basicamente pela rota fecal-oral, ou seja, são excretados nas fezes de indivíduos infectados e ingeridos na forma de água ou alimento contaminado por água poluída com fezes (Grabow, 1996).

O risco de ocorrência de surtos de doenças de veiculação hídrica no meio rural é alto, principalmente em função da possibilidade de contaminação bacteriana de águas que muitas vezes são captadas em poços velhos, inadequadamente vedados e próximos de fontes de contaminação, como fossas e áreas de pastagens ocupadas por animais (Stukel et al., 1990).

Essas doenças podem ser causadas por microrganismos infecciosos, como bactérias, vírus, protozoários e helmintos, sendo alguns exemplos de doenças, a febre tifóide, cólera, gastroenterites, shigeloses, salmonelose, hepatite A, amebíase, giardíase, criptosporidiose, esquistossomose e diversas verminoses. Portanto, a água constitui fator de risco relevante para toda a sociedade, pelo fato de poder estar poluída e/ou contaminada, podendo causar dano à saúde humana, através da transmissão de doenças (Amaral et al., 2003; Germano & Germano, 2001).

O consumo de água contaminada por agentes biológicos ou físico-químicos tem sido associado a diversos problemas de saúde. Algumas epidemias de doenças gastrointestinais, por exemplo, têm como fonte de infecção a água contaminada. Essas infecções representam causa de elevada taxa de mortalidade em indivíduos com baixa resistência, atingindo especialmente idosos e crianças menores de cinco anos (OPS, 2000).

Segundo a Organização Panamericana da Saúde (OPAS, 2001) a cada oito segundos, uma criança morre devido a uma doença relacionada à água. E a cada ano, mais de cinco milhões de seres humanos morrem de alguma doença associada à água não potável.

O uso de água subterrânea contaminada, não tratada ou inadequadamente desinfetada foi responsável por 44 % dos surtos de doenças de veiculação hídrica nos Estados Unidos, entre 1981 e 1988 (Craun, 1991).

Atualmente cerca de 1,4 bilhões de pessoas não tem acesso à água limpa e 80% das enfermidades no mundo são contraídas por causa da água poluída (Organização das Nações Unidas – ONU).

Nos Estados Unidos estima-se que mais de 900.000 pessoas adoecem e 900 morrem por ano por doenças originárias de água contaminada (EUA, 2001).

De acordo com a OPAS (2001), saneamento básico adequado e água tratada podem reduzir as taxas de morbidade e a mortalidade de algumas destas doenças entre 20 % e 80 %.

O monitoramento periódico da qualidade microbiológica da água e a observação das medidas de proteção das fontes são fatores muito importantes para a prevenção de doenças de veiculação hídrica. A maioria das doenças nas áreas rurais pode ser consideravelmente reduzida desde que a população tenha acesso a água potável. O problema maior é a ausência de monitoramento da qualidade da água consumida (Amaral et al., 2003).

Na Tabela 2 estão listadas algumas doenças conhecidas que podem ser transmitidas pela água, via rota feco-oral.

TABELA 2 Principais doenças causadas por patógenos veiculados pela água

Bactérias	Vírus	Protozoários
Cólera	Poliomielite	Amebíase
Febre tifóide	Hepatite A e E	Giardíase
Febre paratifóide	Enteroviroses	Criptosporidiose
Salmonelose	Rotaviroses	Toxoplasmose
Shigelose		
Infecção por E. coli (EHEC)		

FONTE: Adaptado de Schoenen (2002).

2.4 *Escherichia coli*

Para a avaliação das condições sanitárias da água, utilizam-se bactérias do grupo coliforme, que atuam como indicadores de poluição fecal, pois estão sempre presentes no trato intestinal humano e de outros animais de sangue quente, sendo eliminadas em grandes quantidades pelas fezes.

A presença de coliformes na água indica poluição, com o risco potencial da presença de organismos patogênicos, e sua ausência é evidência de uma água bacteriologicamente potável, uma vez que são mais resistentes na água que as bactérias patogênicas de origem intestinal.

O grupo coliforme tem sido reconhecido como o indicador mais próximo do ideal, e é de fácil detecção na água. É extensivamente utilizado na avaliação da qualidade das águas, sendo até hoje o parâmetro microbiológico

básico incluído nas legislações relativas a águas para consumo humano (Macêdo, 2001).

A principal causa de doenças diarréicas é a ingestão de alimentos e/ou água contaminados por microrganismos patogênicos. Um dos agentes etiológicos das infecções entéricas é a bactéria *Escherichia coli*, sendo a principal representante do grupo dos coliformes termotolerantes (fecais).

O grupo dos coliformes termotolerantes (fecais) inclui as bactérias na forma de bastonetes Gram negativos, não esporogênicos, aeróbios ou anaeróbios facultativos, capazes de fermentar a lactose com produção de gás, em 24 a 48 horas a 44,5-45°C (Silva et al., 2001).

De forma geral os coliformes são representados por quatro gêneros da família Enterobacteriaceae: *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia* e *Klebsiella* (Jay, 2005). Porém, apenas a *E. coli* tem como habitat primário o trato intestinal do homem e de animais (Franco & Landgraft, 1996). Sendo, portanto, o melhor indicador de contaminação fecal conhecido até o momento.

A *E. coli* está relacionada com casos de diarréia, principalmente em crianças e idosos, com colites hemorrágicas, disenterias, infecções de bexiga e dos rins, septicemia, pneumonia, meningite. Muitas vezes, estas enfermidades culminam em óbitos (ICMSF, 1998).

Em um estudo realizado no Canadá foi possível o isolamento de *Escherichia coli* O157: H7 das fezes de uma criança com diarréia sanguinolenta e na água de poço da residência onde ela residia. (Amaral et al., 2003).

Silva et al. (2005), em trabalho realizado na cidade de Fortaleza verificaram a presença de *E. coli* nas amostras de água de poços analisadas, em 90%, 60% e 10%, nas regiões sul, oeste e norte, respectivamente.

Okura & Siqueira (2005) encontraram em águas de minas a presença de coliformes totais e termotolerantes em 99,67 % das amostras analisadas.

Resultados semelhantes foram encontrados por Kottwitz & Guimarães (2003), que evidenciaram em 34,28% das amostras presença de coliformes termotolerantes em poços artesianos.

2.5 *Pseudomonas aeruginosa*

O gênero *Pseudomonas* está amplamente difundido na água e no solo. É um gênero de microrganismos que compreende mais de 100 espécies, sendo a de maior importância a *Pseudomonas aeruginosa*, por se tratar de um patógeno secundário e oportunista com grande capacidade invasiva e toxigênica.

A espécie *Pseudomonas aeruginosa* tem sido a responsável pela maioria dos casos de doença infecciosa no homem, como: infecções urinárias e respiratórias, pneumonias, meningites, endocardites, e diversos outros tipos de infecção, especialmente em indivíduos imunossuprimidos, idosos e crianças.

São bactérias Gram negativas, retas ou ligeiramente curvas, obrigatoriamente aeróbias, móveis por flagelos polares, oxidase e catalase positivas que crescem a 37°C e a 42°C. Possuem o metabolismo oxidativo, toleram valores de pH relativamente altos e são capazes de sobreviver em substratos com pequenas quantidades de nutrientes (Bergey's Manual, 1994; Mac Faddin, 1980).

O gênero *Pseudomonas* é extremamente importante na indústria leiteira, por ser constituído por espécies capazes de se desenvolverem a uma temperatura igual ou menor a 7°C, independente da sua temperatura ótima de crescimento (Robinson, 1987).

A atividade bioquímica das bactérias psicrotróficas é intensa e afeta, fundamentalmente, as proteínas e os lipídeos encontrados no leite. Muitas enzimas proteolíticas e lipolíticas são termoresistentes, resistindo à pasteurização, acarretando uma diminuição da qualidade do produto final

conferindo-lhe sabor amargo, ranço, frutado e coagulando a caseína (Frank, 1997; Jay, 2000).

Herrero et al. (2002) mostraram em trabalho realizado no Sul de Buenos Aires que 70 % da água apresentavam contaminação microbiológica, sendo 23,72 % com *Pseudomonas aeruginosa*. Demonstrando, que muitos desses estabelecimentos leiteiros não possuem água potável em suas instalações.

Guilherme et al. (2000) encontraram em amostras de águas tratadas e não tratadas, a presença de *Pseudomonas aeruginosa* em 89 % das amostras analisadas.

Resultados semelhantes foram encontrados por Mallet et al. (2006), em amostras de águas de propriedades rurais do Sul de Minas Gerais onde verificaram a presença de *Pseudomonas aeruginosa* em 60% das amostras de água analisadas.

Sendo assim, a qualidade da água nas instalações de ordenha e suas estratégias de uso são aspectos necessários para produzir leite de boa qualidade. Ou seja, para todos os usos que a água se destina, é imprescindível dispor de uma água potável.

2.6 *Aeromonas hydrophila*

A prevalência das espécies de *Aeromonas* no ambiente, especialmente no meio aquático e o aumento do número de infecções associadas a este gênero nas últimas décadas têm gerado um interesse crescente para estabelecer o risco que esta representa para a saúde pública.

O gênero *Aeromonas* está classificado no Manual de Bacteriologia (Bergey's), em sua 8ª edição, como membro da família *Vibrionacea* (Popoff, 1984). No entanto, estudos realizados em 1986 por Colwell *et al.*, demonstraram que o gênero *aeromonas* apresenta uma evolução filogenética distinta ao das

famílias *Enterobacteriaceae* e *Vibrionaceae* e propuseram elevar o gênero *aeromonas* a categoria de família *Aeromonadaceae* (Altwegg, 1999).

Segundo o “Bergey’s Manual of Systematic Bactriology”, em sua 8ª edição, o gênero *aeromonas* é composta por bactérias Gram negativas, toda a espécie, exceto *Aeromonas salmonicida* e *Aeromonas media* são móveis por um flagelo polar, aeróbias facultativas, oxidase e catalase positivas reduzem nitrito a nitrato, fermentam a D-glicose como fonte principal de carbono e energia. Podem crescer em meios que contêm 3% de NaCl, porém não em 6%. Produzem várias exoenzimas como: proteases, DNases, RNases, elastases, lecitinasas, amilases, gelatinases e lipases, entre outras, muitas delas consideradas fatores de virulência (Popoff, 1984).

Ainda segundo o manual, o gênero é subdividido em dois grupos, baseados nas características de motilidade e exigências de temperatura. O grupo não móvel e psicrotrófico apresentam uma única espécie, a *Aeromonas salmonicida* e o grupo das aeromonas móveis e mesofílicas com as espécies *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas sobria* e *Aeromonas caviae*.

Dentre as espécies de *Aeromonas* móveis, a *A. hydrophila* é considerada a mais patogênica aos seres humanos e peixes de água doce (Janda & Abobott, 1998; Rhodes et al., 2000). Crianças, idosos e pacientes imunossuprimidos são os grupos mais acometidos, podendo apresentar diarreias secretória, diarreia aguda com sangue e muco, diarreia crônica e sintomas sistêmicos, com inflamação do tecido conjuntivo e septicemia (WHO, 2004).

As principais fontes de contaminação de seres humanos por *Aeromonas hydrophila* são os alimentos contaminados e a água.

De acordo com McClure (1994), o isolamento do gênero *aeromonas* de amostra de água depende de diversos fatores, como: estação do ano, concentração de matéria orgânica, oxigênio disponível, níveis de cloro e salinidade.

O isolamento de *A. hydrophila* em água é bastante comum, com relatos de água de poços artesianos (Ghenghesh et al., 2001; Massa et al., 2001), mineral (Crocini et al., 2001), tratada com cloro (Handfield et al., 1996).

O freqüente isolamento de bactérias do gênero *Aeromonas* de variados habitats tem preocupado muitos pesquisadores, pois sinaliza que estas bactérias podem possuir uma capacidade de adaptar-se a uma grande variedade de ambientes, inclusive de águas cloradas (Eneroth et al., 2000; Martins et al., 2002).

Sisti et al. (1998) analisando o efeito bactericida do cloro em cepas de *aeromonas sp.*, verificaram que as espécies *A. caviae* e *A. sobria* foram moderadamente mais sensíveis ao efeito do cloro do que as cepas de *A. hydrophila*.

Gautam et al. (1992) selecionaram três espécies de aeromonas (*A. hydrophila*, *A. sobria* e *A. caviae*) isoladas de diferentes fontes de água (cloradas e não cloradas) e as submetem a testes de virulência, verificando que a mais patogênica foi a *A. hydrophila* e a de menor patogenicidade foi a *A. caviae*.

Fuzihara et al. (1995) analisando amostras de águas tratadas e não tratadas no interior de São Paulo, encontraram *aeromonas* em 4,6% e 42,4% das amostras, respectivamente, e concluíram que o consumo dessas águas pode representar risco à saúde.

Knochl & Jeppensen (1990) pesquisando uma fonte de distribuição de água na Dinamarca encontraram um percentual de 28% de amostra positivas para *Aeromonas sp.*, indicando que essas bactérias podem estar presentes em água de boa qualidade.

3 MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado com cooperação da EMATER – MG, a qual forneceu os dados referentes à micro-região de Lavras. Compunha à micro-região de Lavras as cidades: Aguanil (1), Boa Esperança (8), Candeias (2), Campo belo (7), Coqueiral (5) e Nepomuceno (2), totalizando 25 propriedades.

As visitas foram realizadas com o apoio do técnico responsável pela área de abrangência de cada cidade.

As análises foram conduzidas no laboratório de microbiologia de alimentos da Universidade Federal de Lavras – UFLA.

3.1 Amostragem

Inicialmente foi determinado o tamanho da amostra por meio de um processo de amostragem aleatória simples para proporção, ou seja, das 310 propriedades rurais cadastradas foram selecionadas apenas 25. Sendo a expressão (1) utilizada para o dimensionamento da amostra (Triola, 2005).

$$n = \frac{(z_{\alpha/2})^2 \hat{p}(1 - \hat{p})}{e^2} \quad (1)$$

em que foram considerados:

$z_{\alpha/2} = 1,96$ (grau de confiança de 95%);

$e = 0,2$ (erro máximo da estimativa);

$\hat{p} = 0,5$ (proporção amostral).

3.2 Entrevista

Durante a primeira visita foi realizada uma entrevista com os proprietários, através da aplicação de um questionário, com o objetivo principal de obter suas percepções sobre a qualidade da água usada por eles.

Esse questionário constou de perguntas sobre o tipo de fonte de água utilizada e seu uso, noções de qualidade e de doenças veiculadas pela água, se eram conhecidas formas de tratamento de água. Além disso, também foram observados aspectos de higiene ao redor das fontes, tipos de reservatórios, e as distâncias de possíveis fontes contaminantes.

O formulário de entrevista aplicado consta em Anexo A.

3.3 Coleta das amostras

As coletas foram realizadas em três períodos do ano. Sendo uma primeira coleta realizada nos meses de março a abril de 2006, a segunda coleta nos meses de agosto a setembro de 2006 e a terceira coleta durante os meses de outubro a novembro de 2006, compreendendo as estações Outono, Inverno e Primavera, respectivamente, nas 25 propriedades selecionadas.

Em propriedades abastecidas por nascente de fácil acesso, as amostras foram coletadas diretamente nas nascentes.

Em propriedades que apresentavam fonte de abastecimento muito afastada, as amostras foram coletadas diretamente na caixa d'água (torneira) mais próxima do local de consumo, observando-se todas as normas de assepsia para coleta.

Nas propriedades abastecidas por poços rasos procedeu-se a coleta diretamente do poço ou na caixa d'água (torneira) mais próxima ao consumo quando este era completamente vedado.

As técnicas de coleta e transportes foram realizadas seguindo métodos preconizados pela APHA (2005).

Após assepsia da área de coleta (álcool 70%) e desprezando-se a água estagnada, deixando-a escorrer por 3 minutos aproximadamente, as amostras de água (poços, minas ou nascentes) foram coletadas em potes estéreis de 200 mL individualizados, acondicionados e transportados ao laboratório de microbiologia de alimentos (UFLA) em caixas isotérmicas com gelo, para a realização imediata das análises microbiológicas.

3.4 Análises Microbiológicas

Foram realizadas análises para a quantificação de coliformes totais e termotolerantes e caracterização bioquímica de *Escherichia coli*; Isolamento e caracterização bioquímica de *Pseudomonas aeruginosa* e Isolamento e caracterização bioquímica de *Aeromonas hydrophila*, segundo as metodologias propostas pela APHA (2005) e por Silva et al. (2000).

3.4.1 Quantificação de Coliformes Totais

Os coliformes totais foram quantificados utilizando-se a Técnica do Número mais Provável (NMP), com série de 10 tubos.

A contagem foi realizada mediante diluições seriadas das amostras de água, sendo 1 mL das diluições adequadas pipetadas para tubos contendo 10 mL de Caldo Lauril Sulfato Triptose (LST) simples. Estes foram incubados a 37 °C por 24 horas, observando se houve crescimento com produção de gás. Dos tubos positivos, transferiu-se uma alçada de cada cultura para tubos de Caldo Verde Brilhante Bile (VB), também, incubada a 37 °C por 24 - 48 horas, observando se houve crescimento com produção de gás. Os resultados foram expressos em logaritmo decimal por mL (log NMP/100 mL).

3.4.2 Quantificação de Coliformes Termotolerantes

Dos tubos LST positivos, transferiu-se uma alçada de cada cultura para tubos de caldo *E. coli* (EC). Incubou-se em banho-maria a 44,5 °C por 24 - 48 horas. Foram considerados positivos para coliformes termotolerantes aqueles que apresentaram turvação e formação de gás. Os resultados foram expressos em logaritmo decimal por mL (log NMP/100 mL).

3.4.3 Isolamento e Identificação bioquímica de *Escherichia coli*

A partir de cada tubo de EC com produção de gás após 24 ou 48 horas, retirou e estriou-se uma alçada da cultura em placas de Ágar Eosina Azul de Metileno (EMB). Estas foram incubadas a 37 °C por 24 horas, observando o desenvolvimento de colônias típicas de *E. coli* (nucleadas com centro preto com ou sem brilho metálico). Cinco colônias foram selecionadas e purificadas para posterior identificação. Aquelas colônias Gram positivas e oxidase negativas foram submetidas às provas bioquímicas de Citrato, Indol, Teste de vermelho de metila (VM) e Voges- Proskauer (VP).

3.4.4 Isolamento e Identificação bioquímica de *Pseudomonas aeruginosa*

Alíquotas de 10 mL das amostras de água foram inoculadas em tubos contendo 10 mL de caldo asparagina, e incubadas a 37 °C por 48 horas (teste presuntivo). Dos tubos positivos, que apresentaram fluorescência em luz ultravioleta (360 nm), foram transferidas com auxílio de alça de repicagem alíquotas para tubos contendo caldo acetamida, e estes incubados a 37 °C por 48 horas (teste confirmativo). A partir dos tubos positivos, ocorrência de crescimento com viragem alcalina do indicador mudando a cor de vermelho para púrpura, alíquotas foram estriadas em placas contendo ágar cetrimida (meio seletivo), adicionadas de glicerol, incubadas a 37 °C por 24 horas. Após incubação, pelo menos 5 colônias típicas foram isoladas (colônias com um halo

claro ao seu redor, e com produção de pigmento verde que se difunde pelo meio de cultura), purificadas e submetidas à coloração de Gram, catalase, oxidase, produção de H₂S em LIA e TSI, oxidação-fermentação (O/F), fermentação de açúcares (glucose, trealose e myo-inositol), descarboxilação de aminoácidos (lisina, ornitina e arginina), indol, motilidade e citrato de simmons (Bergey's Manual, 1994; Mac Faddin, 1980).

3.4.5 Isolamento e Identificação bioquímica de *Aeromonas hydrophila*

O isolamento foi realizado mediante diluições seriadas das amostras de água, sendo as diluições adequadas plaqueadas em ágar dextrina, suplementado com ampicilina, e incubadas a 30 °C por 24 horas. Após incubação e leitura das placas, colônias suspeitas foram isoladas, purificadas e submetidas à coloração de Gram, catalase, oxidase, oxidação-fermentação (O/F), fermentação de açúcares (glucose, trealose, sacarose, arabinose, maltose, salicina e dextrina), descarboxilação de aminoácidos (lisina, ornitina e arginina), hidrólise da esculina e Voges-Proskauer (Bergey's Manual, 1994).

3.5 Análise Estatística

Quanto às análises estatísticas os resultados foram divididos em dois grupos de acordo com a metodologia utilizada.

Primeiro grupo: Teste de Hipótese para duas proporções

As contagens de *E. coli*, *P. aeruginosa* e *A. hydrophila* foram transformadas em porcentagem de acordo com cada estação do ano (Outono, Inverno e Primavera).

Os dados foram interpretados estatisticamente por meio de um teste de hipótese Z unilateral de igualdade para proporções de duas épocas, em nível de

significância de 5%. Portanto, foram testadas as igualdades entre as proporções das épocas Outono – Inverno, Outono – Primavera e Inverno – Outono.

O valor da estatística do teste dá-se pela expressão 2 (Triola, 2005).

$$z = \frac{(\hat{p}_i - \hat{p}_j)}{\sqrt{\frac{pq}{n_i} + \frac{pq}{n_j}}} \quad (2)$$

em que:

$$\bar{p} = \frac{x_i + x_j}{n_i + n_j},$$

$$\bar{q} = 1 - \bar{p},$$

n_i e n_j = número totais de isolados para duas épocas (i e j),

x_i e x_j = número totais do isolado em estudo para duas épocas.

Segundo grupo: Teste de Kruskal-Wallis e Comparações Múltiplas

Para analisar as variáveis, o logaritmo da contagem de Coliformes totais (log(NMP/100ml)), Coliformes termotolerantes (log(NMP/100ml)), *Pseudomonas* (log(NMP/100 ml)), e *Aeromonas* (log(UFC/ml)) de acordo com a época do ano utilizou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado, com 25 repetições diferentes.

Os dados foram interpretados estatisticamente por meio de Teste de Kruskal-Wallis (nível de probabilidade de 5%), sendo as médias avaliadas pelo teste não paramétrico de Comparações Múltiplas em nível de significância de 5%.

Para todas as análises estatísticas realizadas neste trabalho foi utilizado o software estatístico SAS.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Análise do Questionário

Na Tabela 3 encontra-se a distribuição quanto ao uso de algum tipo de proteção usada na captação da fonte de abastecimento de água (poço ou nascente) utilizada no processo de obtenção do leite. Nota-se que quanto ao uso de proteção 64 % dos poços ou nascentes apresentaram-se desprotegidos ou envoltos por sujidades e 36 % protegidos.

As fontes subterrâneas podem ser contaminadas, em sua maioria, por negligência do próprio homem. As causas principais de contaminação desses tipos de fontes são impurezas que podem cair pela abertura do poço, a falta de vedação dos poços, pelo escoamento superficial, por meio de infiltração de água oriunda das chuvas, bem como pela falta de higiene ao redor dessas fontes, como matos, lixos, etc.

TABELA 3 Distribuição em número e porcentagem quanto ao uso de algum tipo de proteção usada na captação da fonte de abastecimento de água (poço ou nascente) utilizada no processo de obtenção do leite das propriedades pesquisadas na micro-região de Lavras-MG.

Condições de proteção	Nº de propriedades	% de propriedades
Protegido	9	36%
Desprotegido	16	64%
Total	25	100%

Segundo Souza et al. (1992), excretas de animais podem poluir as águas que podem tornar-se, então, veículo de enfermidades aos homens e animais.

A esse respeito, Geldreich (1998) citado por Amaral (2003) afirmou que a água de escoamento superficial é o principal fator que modifica a qualidade microbiológica da água subterrânea, tornando-a de risco à saúde e, segundo Stukel et al. (1990) citado por Amaral (2003) esse risco no meio rural é alto.

Kravitz et al. (1999) defendem que a proteção das fontes de abastecimento pode preservar a qualidade da água no meio rural onde a desinfecção não é realizada, sendo que cada fator de proteção tem sua importância, e a ausência de um deles já é motivo de preocupação. Portanto, a maioria destas fontes apresentou-se passível de contaminação.

A Tabela 4 apresenta a distribuição das propriedades pesquisadas quanto ao uso de algum tipo de tratamento da água utilizada no processo de obtenção do leite. Nota-se que 100% não realizam nenhum tipo de tratamento na água.

TABELA 4 Distribuição em número e porcentagem quanto ao uso de algum tipo de tratamento da água utilizada no processo de obtenção do leite das propriedades pesquisadas na micro-região de Lavras-MG.

Emprego de tratamento da água	Nº de propriedades	% de propriedades
Com tratamento	0	0%
Sem tratamento	25	100%
Total	25	100%

Resultados semelhantes foram encontrados por Polegato (2003), onde 90% dos proprietários não realizavam nenhum tipo de tratamento da água para utilizá-la.

Rolim (2005) verificou em seu trabalho que 50% das águas de propriedades rurais de Botucatu - SP não recebiam nenhum tipo de tratamento, enquanto que 4% era filtrada.

Tradicionalmente, o uso desses tipos de fontes de abastecimento é considerado seguro para consumo “in natura”. Para Amaral et al (2003), isso impede que os consumidores agreguem juízo de valor no sentido de tratar essa água, pelo menos por um processo de desinfecção, o que certamente minimizaria o risco de veiculação de enfermidades.

A Tabela 5 apresenta a distribuição das propriedades pesquisadas quanto à noção do produtor sobre a qualidade da água utilizada no processo de obtenção do leite. Nota-se que 76 % classificaram a água como de boa qualidade e 12 % como de qualidade regular e ruim.

TABELA 5 Distribuição em número e porcentagem quanto à noção de qualidade da água utilizada no processo de obtenção do leite das propriedades pesquisadas na micro-região de Lavras-MG.

Qualidade da água	Nº de propriedades	% de propriedades
Boa	19	76%
Regular	3	12%
Ruim	3	12%
Total	25	100%

Esse comportamento segundo Amaral (2001), está relacionado ao consumo de água das fontes por longos períodos sem a ocorrência de problemas evidentes, somado aos bons aspectos da água, que proporciona aos consumidores uma sensação de pureza.

Polegato (2003), em trabalho avaliando a qualidade de águas utilizadas em propriedades leiteiras verificou que 100% dos proprietários consideravam a água da propriedade de boa qualidade, embora a maioria dos entrevistados relacionasse a água com a transmissão de doenças.

Os resultados encontrados no presente trabalho são diferentes, uma vez que a maioria dos proprietários entrevistados não tinha noção de que a água pudesse veicular algum tipo de doença.

A Tabela 6 apresenta a distribuição das fontes quanto à noção de conhecimento de doenças relacionada à água. Nota-se que 60 % apresentavam algum conhecimento sobre doenças de veiculação hídrica, enquanto que 40 % não possuíam nenhum tipo de conhecimento.

TABELA 6 Distribuição em número e porcentagem quanto ao conhecimento de doenças relacionadas à água.

Conhecimento de doenças hídricas	Nº de propriedades	% de propriedades
Sim	10	40%
Não	15	60%
Total	25	100%

Esse dado ressalta a falta de informação dos proprietários quanto à importância da água como veiculadora de patógenos que podem causar danos à sua saúde e, ainda, levar a uma depreciação na qualidade do seu leite.

Na Tabela 7 encontra-se a distribuição das propriedades pesquisadas quanto à periodicidade de limpeza dos reservatórios de água utilizada no processo de obtenção do leite. Nota-se que 92 % não realizavam a limpeza dos reservatórios, enquanto que, apenas, 8 % dos mesmos eram higienizados ao menos uma vez por ano.

Observando esses dados percebe-se a confiança por parte dos proprietários quanto à qualidade da água obtida de sua fonte de abastecimento, e o desconhecimento da possível presença de microrganismos tanto deterioradores como patogênicos, que podem deteriorar o leite ou causar danos à saúde dos próprios produtores ou consumidores.

TABELA 7 Distribuição em número e porcentagem quanto à periodicidade de limpeza dos reservatórios de água utilizada no processo de obtenção do leite das propriedades pesquisadas na micro-região de Lavras-MG.

Realização da limpeza	Nº de propriedades	% de propriedades
Realiza a limpeza	2	8%
Não realiza a limpeza	23	92%
Total	25	100%

Observa-se na Tabela 8 a distribuição quanto à localização da fonte de abastecimento de água (poço ou nascente) utilizada no processo de obtenção do leite em relação à distância entre captação e fossa. Nota-se que quanto à localização a maioria das propriedades apresentou a distância da captação em relação à fossa > 30 m (72 %), entre 15 e 30 m (28%) e, em nenhuma propriedade a distância foi menor que 15 m.

TABELA 8 Distribuição em número e porcentagem quanto à localização da fonte de abastecimento de água (poço ou nascente) utilizada no processo de obtenção do leite das propriedades pesquisadas na micro-região de Lavras-MG.

Distância entre fossa e		
a captação	Nº de propriedades	% de propriedades
< 15 m	0	0%
entre 15 e 30 m	7	28%
> 30 m	18	72%
Total	25	100%

No que diz respeito às distâncias mínimas entre a fonte de suprimento de água e os focos de poluição, recomenda-se a distância mínima de 15 metros entre fossas secas, tanques sépticos e linhas de esgoto (Viana, 1991). Desta forma, todas as propriedades apresentaram-se em acordo com o os padrões recomendados.

4.2 Análises microbiológicas da água

4.2.1 Contagem total

Observa-se na tabela 9 os resultados da contagem total de coliformes termotolerantes das análises da água, das vinte e cinco propriedades, durante as estações outono, inverno e primavera.

De acordo com os resultados obtidos nas análises realizadas nota-se que a maioria das águas analisadas estava contaminada com coliformes termotolerantes e que, de acordo com o padrão da legislação vigente, deveria estar ausente. Servindo como importante meio de transmissão de doenças para aqueles indivíduos que a utilizava.

Resultados semelhantes foram verificados por autores como Amaral et al. (2003), que encontraram de 90 a 100% das amostras de água de poços rasos, localizados em áreas urbanas, contaminadas por coliformes termotolerantes, evidenciando, portanto, o risco à saúde da população consumidora deste tipo de água sem nenhum tratamento.

Os pesquisadores Freitas et al. (2001) analisaram a qualidade microbiológica da água em duas regiões do estado do Rio de Janeiro, e concluíram que mais de 50% das amostras de água de poço nas duas áreas apresentaram contaminação por coliformes termotolerantes, tornando a água imprópria para consumo humano. Ressaltaram que todos os domicílios onde amostras de água foram coletadas possuíam poço e ligação no sistema de distribuição de água.

TABELA 9 Contagem total de coliformes termotolerantes nas amostras de água utilizada em propriedades leiteiras.

Contagem Total Coliformes Termotolerantes (NMP/100 mL)			
Propriedades	Outono	Inverno	Primavera
1	0,09	0,21	0,04
2	0,04	< 0,03	< 0,03
3	0,04	< 0,03	0,04
4	0,04	0,04	< 0,03
5	< 0,03	0,04	0,07
6	< 0,03	0,04	0,43
7	< 0,03	4,6	0,09
8	< 0,03	2,4	2,4
9	< 0,03	< 0,03	0,93
10	≥ 24	< 0,03	< 0,03
11	≥ 24	0,23	0,09
12	< 0,03	0,15	< 0,03
13	0,07	0,23	< 0,03
14	≥ 24	< 0,03	< 0,03
15	≥ 24	0,04	0,43
16	≥ 24	< 0,03	≥ 24
17	≥ 24	< 0,03	< 0,03
18	0,04	0,09	≥ 24
19	0,43	< 0,03	0,15
20	< 0,03	0,23	< 0,03
21	≥ 24	< 0,03	0,04
22	0,04	< 0,03	0,43
23	≥ 24	< 0,03	< 0,03
24	0,04	< 0,03	0,43
25	< 0,03	< 0,03	0,04

Na tabela 10 encontram-se os resultados da contagem total de *Pseudomonas* sp. das análises da água, das vinte e cinco propriedades, durante as estações outono, inverno e primavera.

TABELA 10 Contagem total de *Pseudomonas* sp. nas amostras de água utilizada em propriedades leiteiras

Contagem Total <i>Pseudomonas</i> sp (NMP/100 mL)			
Propriedades	Outono	Inverno	Primavera
1	< 1,1	< 1,1	< 1,1
2	< 1,1	3,6	< 1,1
3	6,9	< 1,1	< 1,1
4	< 1,1	< 1,1	< 1,1
5	3,6	2,2	23
6	< 1,1	16,1	> 23
7	3,6	12	> 23
8	5,1	9,2	> 23
9	2,2	5,1	> 23
10	2,2	< 1,1	23
11	5,1	23	< 1,1
12	< 1,1	12	> 23
13	12	16,1	12
14	< 1,1	16,1	16,1
15	> 23	> 23	5,1
16	> 23	6,9	23
17	< 1,1	< 1,1	< 1,1
18	1,1	< 1,1	2,2
19	< 1,1	16,1	3,6
20	9,2	> 23	6,9
21	1,1	16,1	9,2
22	< 1,1	< 1,1	< 1,1
23	> 23	1,1	9,2
24	< 1,1	5,1	16,1
25	9,2	12	16,1

Percebe-se a presença do gênero *Pseudomonas* em todas as estações estudadas. O gênero *Pseudomonas* é extremamente importante na indústria leiteira, pois é constituído por espécies capazes de se desenvolver a uma temperatura menor que 7 °C, independentemente da sua temperatura ótima de crescimento. Sob o ponto de vista de deterioração, os microrganismos psicotróficos são um grupo importante no leite, principalmente porque produzem enzimas que agem sobre os constituintes do leite causando alterações físico-químicas e organolépticas (Shah, 1994).

Observa-se na tabela 11 os resultados da contagem total de *Aeromonas* sp das análises da água, das vinte e cinco propriedades, durante as estações outono, inverno e primavera.

O gênero *Aeromonas* fez-se presente em todas as estações do ano, sendo a estação de maior contagem a outono e, pode ser observado na tabela 13.

Os resultados para o Teste de Kruskal-Wallis, com a finalidade de avaliar diferenças significativas entre as estações do ano em relação à contagem de coliformes termotolerantes (Cter), *Pseudomonas* sp (Cpseu) e *Aeromonas* sp (Caero) encontram-se na Tabela 12.

O teste de Kruskal-Wallis é um método não paramétrico que foi introduzido por estes autores em 1952, como um competidor ou um substituto do teste F do campo paramétrico. Sua finalidade é estabelecer confronto entre k amostras independentes.

Admitindo k tratamentos (utilizado para delineamentos inteiramente casualizados), o teste permite averiguar se há diferença entre pelo menos dois deles; ou seja, a hipótese de nulidade (H_0) seria que os efeitos dos tratamentos são iguais. É, portanto, um teste de posição para k amostras independentes.

Em caso da detecção de diferença entre efeitos de pelo menos dois tratamentos, pode ser empregado o método das comparações múltiplas, que serve como complementação do teste de Kruskal-Wallis.

TABELA 11 Contagem total de *Aeromonas* sp. nas amostras de água utilizada em propriedades leiteiras

Contagem Total <i>Aeromonas</i> sp (UFC/mL)			
Propriedades	Outono	Inverno	Primavera
1	5,5 x 10 ⁵	0	0
2	1,4 x 10 ⁵	0	0
3	0	0	0
4	0	0	0
5	0	0	0
6	0	4,5 x 10 ²	0
7	0	0	0
8	0	0	0
9	0	2,7 x 10 ²	0
10	8,0 x 10 ⁵	0	0
11	1,4 x 10 ⁵	6,6 x 10 ²	2,1 x 10 ³
12	0	0	0
13	0	0	0
14	1,3 x 10 ⁴	0	0
15	8,9 x 10 ⁴	0	0
16	1,6 x 10 ⁴	0	0
17	0	0	0
18	5,8 x 10 ³	0	5,0 x 10 ²
19	0	0	7,6 x 10 ²
20	0	0	0
21	0	0	0
22	0	0	0
23	2,7 x 10 ³	0	0
24	0	0	8,7 x 10 ²
25	0	0	0

O gênero *Aeromonas* fez-se presente em todas as estações do ano, sendo a estação de maior contagem a outono e, pode ser observado na tabela 13.

Os resultados para o Teste de Kruskal-Wallis, com a finalidade de avaliar diferenças significativas entre as estações do ano em relação à contagem de coliformes termotolerantes (Cter), *Pseudomonas* sp (Cpseu) e *Aeromonas* sp (Caero) encontram-se na Tabela 12.

O teste de Kruskal-Wallis é um método não paramétrico que foi introduzido por estes autores em 1952, como um competidor ou um substituto do teste F do campo paramétrico. Sua finalidade é estabelecer confronto entre k amostras independentes.

Admitindo k tratamentos (utilizado para delineamentos inteiramente casualizados), o teste permite averiguar se há diferença entre pelo menos dois deles; ou seja, a hipótese de nulidade (H_0) seria que os efeitos dos tratamentos são iguais. É, portanto, um teste de posição para k amostras independentes.

Em caso da detecção de diferença entre efeitos de pelo menos dois tratamentos, pode ser empregado o método das comparações múltiplas, que serve como complementação do teste de Kruskal-Wallis.

Vale salientar, porém, que os processos não paramétricos, quase sempre são menos eficientes do que seus concorrentes do campo paramétrico (Campos, 1983).

Portanto as técnicas não paramétricas devem ser empregadas quando as suposições distribucionais necessárias para aplicação de uma técnica clássica não são satisfatoriamente atendidas, por exemplo, quando não for possível o cumprimento das pressuposições de normalidade dos resíduos, homogeneidade das variâncias de tratamentos.

TABELA 12 Resumo do teste de Kruskal - Wallis do logaritmo da contagem de Coliformes termotolerantes (log(NMP/100mL)), *Pseudomonas* sp. (log(NMP/100mL)), e *Aeromonas* sp. (log(UFC/mL)) de acordo com a época do ano para o ensaio com água utilizada na produção leiteira na micro-região de Lavras-MG

Tratamentos	G.L.	Qui-Quadrado		
		Cter	Cpseu	Caero
Épocas	2	3,4400	4,4655	7,1811*

(*) significativo a 5% de probabilidade pelo teste de Kruskal-Wallis

Não houve diferença significativa entre as três estações do ano em relação à contagem de coliformes totais, coliformes termotolerantes e *Pseudomonas* sp. Entretanto, pode-se afirmar com significância de 5% que houve diferença estatística significativa, entre as estações do ano, para a contagem total de *Aeromonas* sp. Isto, pode ser melhor observado na tabela a seguir.

Na Tabela 13 encontram-se os resultados do logaritmo da contagem média de Coliformes termotolerantes (log(NMP/100mL)), *Pseudomonas* sp. (log(NMP/100mL)), e *Aeromonas* sp. (log(UFC/mL)) de acordo com a época do ano para o ensaio com água utilizada na produção leiteira na micro-região de Lavras-MG.

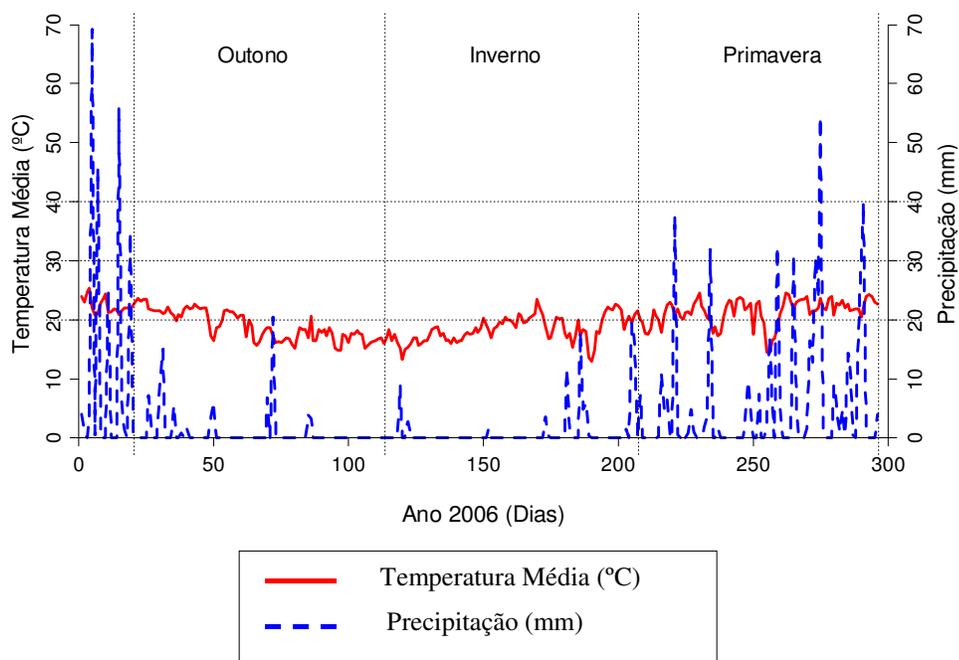
TABELA 13 Resultados do logaritmo da contagem média de Coliformes termotolerantes (log(NMP/100mL)), *Pseudomonas* sp. (log(NMP/100mL)), e *Aeromonas* sp. (log(UFC/mL)) de acordo com a época do ano para o ensaio com água utilizada na produção leiteira na micro-região de Lavras-MG.

	Log da contagem Média		
	Outono	Inverno	Primavera
Coliformes	-0,4804 a	-1,1532 a	-0,8676 a
Termotolerantes			
<i>Pseudomonas</i> sp	0,4480 a	0,6980 a	0,7996 a
<i>Aeromonas</i> sp	1,7344 a	0,3156 b	0,4728 b

Médias seguidas de mesma letra na linha não diferem entre si em nível de 5% de probabilidade, pelo teste não paramétrico de Comparações Múltiplas.

Pelo teste não paramétrico de Comparações Múltiplas, pode-se afirmar em nível de 5% de probabilidade, que a estação com maior média de contagem total para *Aeromonas* sp. foi o outono, e que as médias das outras estações do ano não foram consideradas estatisticamente diferentes.

Por ser o outono uma estação de transição entre o verão e inverno, verifica-se característica de ambas. A temperatura é muito variada oscilando de 15 a 25°C. Aliado às chuvas intensas no período que antecedia a estação outono (início de março), tornando a água uma carreadora de excretas humanas e animais e matéria orgânica. Portanto, fornecendo condições de crescimento e desenvolvimento para este microrganismo (Figura 1). Isso explica a maior média de contagem total de *Aeromonas* sp. nessa época do ano.



FONTE: Estação Meteorológica da Universidade Federal de Lavras / UFLA (2006)

FIGURA 1 Dados de Precipitação (mm) e de Temperatura Média (°C) diária das estações Outono, Inverno e Primavera.

4.2.2 *Escherichia coli*

Na Figura 2 encontram-se os resultados quanto à presença de *E. coli* nas amostras de água analisadas de acordo com as estações do ano outono, inverno e primavera. Verificou-se a presença de *E. coli* em (18,46 %) no outono, (55 %) no inverno e (46,15%) na primavera.

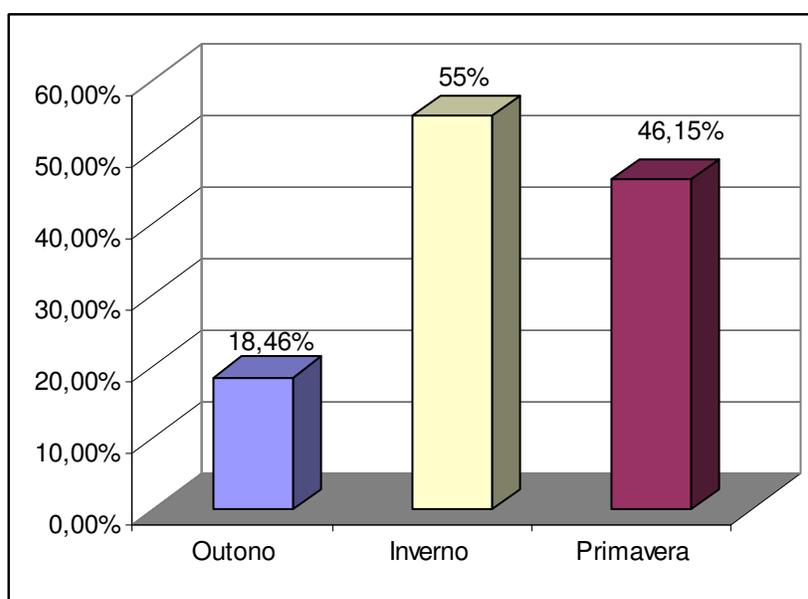


FIGURA 2 Presença de *E. coli*, em porcentagem, nas amostras de água utilizada em propriedades leiteiras na micro-região de Lavras-MG analisadas nas estações outono, inverno e primavera

Pela Portaria nº 518 (Brasil, 2004), que trata do controle de qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade, em amostras individuais procedentes de poço, fontes, nascentes, sem distribuição canalizada,

tolera-se a presença de coliformes totais na ausência de *E. coli* e/ou coliformes termotolerantes em 100 mL.

Desta forma essas águas encontravam-se, em sua maioria, fora dos padrões de potabilidade exigidos pela Portaria nº 518 e, portanto, imprópria para consumo humano, servindo como importante veículo na transmissão de enfermidades ao homem.

Resultados semelhantes foram encontrados por Mallet et al. (2006), onde verificaram que em 100% das amostras de água de propriedades rurais (poço ou nascente), 68 % não se encontravam dentro dos padrões estabelecidos pela Portaria nº 518 (Brasil, 2004), para coliformes termotolerantes, havendo a presença de *Escherichia coli* em 24% das amostras.

Este resultado é compatível com o encontrado por Kottwitz & Guimarães (2003) que evidenciaram em poços artesianos a presença de coliformes totais em 74,18% das amostras e em 34,28% a presença de coliformes termotolerantes.

Um percentual maior foi detectado por Silva et al., (2005), que analisaram a qualidade bacteriológica da água de 16 poços da cidade de Fortaleza, verificando em (53,4%) das 60 amostras a presença de *Escherichia coli*, o que é muito preocupante, uma vez que essa bactéria é exclusivamente de origem fecal.

Os resultados para o teste de hipótese para igualdade entre as proporções das épocas quanto à presença de *E. coli* no ensaio com água em propriedades leiteiras encontram-se na Tabela 14.

TABELA 14 Teste de Hipótese para igualdade entre as proporções das épocas quanto à presença de *E. coli* no ensaio com água em propriedades leiteiras na micro-região de Lavras-MG

Testes	Épocas	Proporção	Z _{calculado}
1	Outono	0,1846	4,2519**
	Inverno	0,5500	
2	Outono	0,1846	3,3758**
	Primavera	0,4615	
3	Inverno	0,5500	0,9883 (ns)
	Primavera	0,4615	

(ns), (**) respectivamente não significativo e significativo em nível de 1% de probabilidade.

Percebe-se que as proporções das estações outono - inverno e outono - primavera foram consideradas estatisticamente diferentes em nível de 5% de significância. Ou seja, as proporções quanto à presença de *E. coli* nas estações inverno e primavera foram maiores que a do outono. Entretanto, as proporções de inverno – primavera não foram consideradas estatisticamente diferentes em mesmo nível de significância.

Nota-se que o maior número de isolados de *E. coli* ocorreu nas estações inverno e primavera. Ao passo, que a de menor número foi outono. De maneira inversa, o número de isolados de *Pseudomonas aeruginosa* foi maior no outono e decresceu consideravelmente nas estações seguintes. Essa inter-relação pode ser atribuída ao fato da *Pseudomonas aeruginosa* produzir uma substância capaz de inibir o crescimento da *E. coli*, ou seja, seu crescimento seria inibido por falta de nutrientes.

Guilherme et al. (2000), em seus trabalhos citam que por interferência da *P. aeruginosa* que produz uma substância denominada Pseudocin (PLS) que

inibe o crescimento de *E. coli*, muitas dessas águas consideradas próprias para consumo humano poderiam apresentar um maior grau de contaminação.

Observa-se na Figura 1, no final da estação inverno e durante toda a primavera a presença de chuvas intensas e constantes. Fato que poderia explicar a maior presença de *E. coli* nesses períodos. Uma vez que, a água de escoamento superficial, durante o período de chuva, é o fator que mais contribui para a mudança da qualidade microbiológica da água.

González et al (1987), em estudo realizado no México, concluíram que a presença de coliformes nas amostras das águas dos mananciais estudadas e dos domicílios teve relação direta com a presença de chuva, devido ao arraste de excretas humanas e animais.

4.2.3 *Pseudomonas aeruginosa*

Na Figura 3 encontram-se os resultados quanto à presença de *Pseudomonas aeruginosa* nas amostras de água analisadas, de acordo com as estações do ano outono, inverno e primavera. Verificou-se a presença de *Pseudomonas aeruginosa* em (12%) no outono, (3,12%) no inverno e (0%) na primavera.

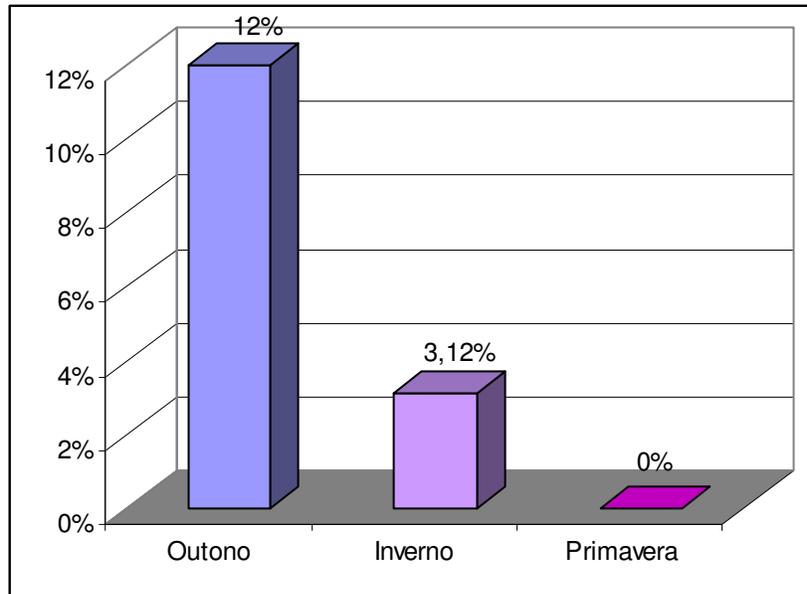


FIGURA 3 Presença de *Pseudomonas aeruginosa*, em porcentagem, nas amostras de água utilizada em propriedades leiteiras na micro-região de Lavras-MG analisadas nas estações outono, inverno e primavera.

A presença de *P. aeruginosa*, apenas, não é capaz de condenar o uso da água para consumo humano. Visto que, a legislação vigente no Brasil, a Portaria nº 518 (Brasil, 2004), somente baseia-se na contagem do grupo coliformes, em especial *E. coli*. Desta forma, amostras de água com presença de *P. aeruginosa* e ausência de coliformes termotolerantes ou *E. coli*, são consideradas satisfatórias e próprias para consumo.

No entanto, a espécie *P. aeruginosa* trata-se de um patógeno oportunista e secundário, em potencial, acometendo principalmente aqueles indivíduos mais debilitados. Além disso, este grupo tem aparecido com frequência em análises

de águas cloradas e não cloradas, demonstrando que pode resistir inclusive ao processo de cloração. Guilherme et al. (2000) encontraram *P. aeruginosa* em 31,6 % e 86,6 % de amostras de águas cloradas e não cloradas, respectivamente.

Resultados semelhantes foram encontrados por David et al. (1999) analisando amostras de águas tratadas do Estado de Recife detectaram a presença de *P. aeruginosa* em 33 % das amostras.

Dados de trabalho de Ávila et al. (1995) apresentam semelhantes resultados em água de consumo comercializada na cidade de Florianópolis, onde foi encontrada em 85 % das amostras a presença de *Pseudomonas aeruginosa*.

Dentro da cadeia leiteira, a *P. aeruginosa* pode acarretar alterações nos componentes protéicos e lipídico do leite por meio da atuação de suas enzimas proteases e lipases, respectivamente, acarretando uma diminuição da qualidade do produto final conferindo-lhe sabor amargo, ranço, frutado e coagulando a caseína.

Os resultados para o teste de hipótese para igualdade entre as proporções das épocas quanto à presença de *Pseudomonas aeruginosa* no ensaio com água em propriedades leiteiras encontram-se na Tabela 15.

Percebe-se que, as proporções das estações outono – inverno, outono – primavera e inverno - primavera foram consideradas estatisticamente diferentes, em nível de significância de 5%. Ou seja, pode-se afirmar que a estação com o maior número de isolados da espécie *P. aeruginosa* foi outono e a menor foi primavera.

TABELA 15 Teste de Hipótese para igualdade entre as proporções das épocas para contagem de *Pseudomonas aeruginosa* no ensaio com água em propriedades leiteiras na micro-região de Lavras-MG.

Testes	Épocas	Proporção	Z _{calculado}
1	Outono	0,1200	2,2545 *
	Inverno	0,0313	
2	Outono	0,1200	3,3798 **
	Primavera	0,0000	
3	Inverno	0,0313	1,6907*
	Primavera	0,0000	

(*), (**) respectivamente significativo em nível de 5% e 1% de probabilidade.

A espécie *Pseudomonas aeruginosa* pode crescer e desenvolver-se em ampla faixa de temperatura, independente da sua temperatura ótima de crescimento. A estação outono por apresentar uma ampla variação de temperatura, uma vez que, encontra-se em transição entre as estações verão e inverno pode permitir condições térmicas ótimas ao desenvolvimento da espécie. Ainda, por chover menos nessa época do ano existe a possibilidade destes nutrientes estarem concentrados, e conseqüentemente, mais disponíveis. Sendo facilmente utilizados por estes microrganismos em seu metabolismo. Um outro fator é a capacidade dessa espécie e, de forma em geral, do gênero *Pseudomonas*, da formação de película de aderência conhecida como biofilme. Este poderia estar presente nos reservatórios, equipamentos e utensílios de ordenha permitindo assim a permanência desse microrganismo em contato com a água e, conseqüentemente, maior contaminação dessa água na primeira repetição (outono), em função, principalmente, da falta de higienização periódica dos reservatórios de água.

Eiroa & Junqueira (1996) afirmam que a presença de *P. aeruginosa* em tubulações e reservatórios pode ser esperada considerando que algumas espécies

apresentam a tendência à adesão em superfícies, provavelmente devido à produção de exopolissacarídeo com propriedades aglutinantes.

Entretanto, ainda que indiretamente, orientações relativas às condições de higiene e, principalmente, sobre um adequado programa de higienização aos proprietários desses reservatórios no momento da coleta da água, pode ter contribuído para a diminuição desses microrganismos nas estações seguintes.

4.2.4 *Aeromonas hydrophila*

Na Figura 4 encontram-se os resultados quanto à presença de *Aeromonas hydrophila* nas amostras de água analisadas, de acordo com as estações do ano outono, inverno e primavera. Nota-se a presença de *A. hydrophila* em (2,12%) no outono, (0%) no inverno e (20,8%) na primavera.

O gênero *Aeromonas* é primariamente autóctone do ambiente aquático. São comuns e amplamente difundidas no habitat aquático.

Além disso, tem sido reportada significativa correlação entre o conteúdo de matéria orgânica e o número total de *Aeromonas* na água (Viera et al., 2003). A *Aeromonas hydrophila* é caracterizada, dentro do gênero, como a espécie que apresenta o maior potencial de patogenicidade (Cahill, 1990) e a mais frequentemente incriminada em infecções humanas (Ko & Chuang, 1995). Brandi et al., (1996) demonstraram que esta espécie é capaz de sobreviver por longo período de tempo (140 dias), mantendo, inclusive, suas propriedades virulentas.

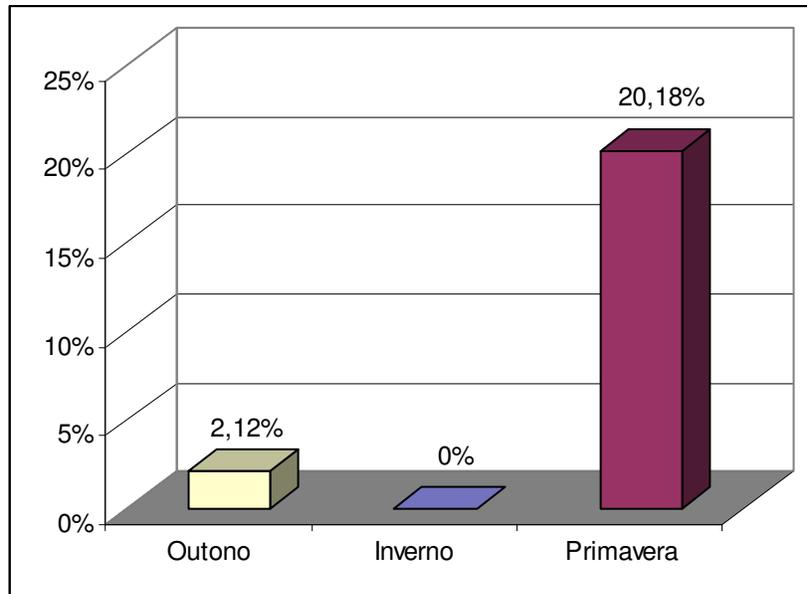


FIGURA 4 Presença de *Aeromonas hydrophila*, em porcentagem, nas amostras de água utilizada em propriedades leiteiras na micro-região de Lavras-MG analisadas nas estações outono, inverno e primavera.

Sendo a água, amplamente utilizada para consumo humano e para a produção leiteira, cuidados quanto à presença desse microrganismo devem ser levados em consideração. Há relatos de sua presença inclusive em águas cloradas.

O isolamento de *A. hydrophila* de águas cloradas tem sido documentado por vários autores, sugerindo que algumas espécies deste gênero podem ser menos sensíveis ao cloro quando comparadas com os coliformes, pois já foi isolada de águas com padrões microbiológicos aceitos pela legislação (Eneroth et al., 2000).

Rossi et al. (2000) avaliando a qualidade microbiológica de águas de poços utilizadas em um matadouro bovino, verificaram a presença do gênero *Aeromonas* em (33%) das amostras analisadas, sendo (2,2%) confirmadas como *Aeromonas hydrophila*.

Mallet et al. (2006), em trabalho realizado avaliando a qualidade da água em propriedades rurais, encontraram a presença de *Aeromonas* sp. em 12 % das amostras analisadas, sendo 4 % confirmadas de *Aeromonas hydrophila*.

Sabe-se que, a qualidade higiênico-sanitária da água é avaliada pela presença de microrganismos indicadores, em especial os coliformes. Dessa forma, águas utilizadas para consumo humano e para diversos fins podem ser caracterizadas como de boa qualidade, ou seja, própria para consumo segundo a legislação atual, Portaria nº 518 (Brasil, 2004), e ainda assim, conter bactérias do gênero *Aeromonas*, e em especial *A. hydrophila*, o que a torna inadequada ao consumo humano e, algumas vezes, ao uso a que se destina.

Os resultados para o teste de hipótese para igualdade entre as proporções das épocas quanto à presença de *Aeromonas hydrophila* no ensaio com água em propriedades leiteiras encontram-se na Tabela 16.

Nota-se que, as proporções das estações outono - primavera e inverno - primavera foram consideradas estatisticamente diferentes em nível de significância de 5% . Não existem evidências estatísticas para afirmar que as proporções das estações outono - inverno foram diferentes em mesmo nível de significância. Ou seja, pode-se concluir que a estação com o maior número de isolados da espécie *A. hydrophila* foi a primavera.

TABELA 16 Teste de Hipótese para igualdade entre as proporções das épocas para contagem de *Aeromonas hydrophila* no ensaio com água em propriedades leiteiras na micro-região de Lavras-MG

Testes	Épocas	Proporção	Z _{calculado}
1	Outono	0,0213	0,5101 (ns)
	Inverno	0,0000	
2	Outono	0,0213	3,4624**
	Primavera	0,2083	
3	Inverno	0,0000	1,7039*
	Primavera	0,2083	

(ns), (*), (**) respectivamente não significativo e significativo em nível de 5% e 1% de probabilidade.

Durante a primavera, nas regiões sudeste, de modo em geral, as chuvas passam a ser mais intensas e frequentes, marcando o período de transição entre a estação seca e a estação chuvosa. Neste mesmo período, iniciam-se as pancadas de chuva no final da tarde ou noite, devido ao aumento do calor e da umidade que se intensificam gradativamente no decorrer desta estação. Nesta época do ano a temperatura tende a aumentar, chegando à faixa de crescimento ideal para o desenvolvimento da *A. hydrophila* (Figura 1).

Segundo Vieira (2003), o aumento do número de isolamentos de *Aeromonas* nos países do hemisfério norte ocorre, particularmente, nas estações de primavera e verão e, em áreas de clima tropical, sua prevalência aumenta durante o verão (variação sazonal dependente da temperatura).

Sendo assim, o maior número de isolamento de *A. hydrophila* durante a primavera pode ser explicado, pela manutenção de temperaturas relativamente altas nessa época, aliada às chuvas intensas do fim de tarde com o conseqüente

carreamento de matéria orgânica, tornando as condições ideais ao crescimento desse microrganismo nas águas das fontes analisadas no período em questão.

A água de escoamento superficial durante o período de chuva é o fator que mais contribui para a mudança da qualidade da água (Amaral et al., 2003).

5 CONCLUSÕES

Conclui-se que a qualidade microbiológica da água utilizada nas propriedades leiteiras, em sua maioria, encontra-se fora dos padrões de potabilidade, sendo uma grande veiculadora de microrganismos patogênicos e deterioradores, como: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Aeromonas hydrophila*.

Escherichia coli esteve presente em 52% das propriedades.

P. aeruginosa foi encontrada em 16% das propriedades, exceto na época da primavera.

A. hydrophila foi detectada em 8% das propriedades, principalmente nas estações outono e primavera.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A água utilizada na obtenção do leite nas propriedades rurais da micro-região de Lavras compreende uma importante via de introdução de microrganismos patogênicos e deterioradores à cadeia alimentar, podendo afetar negativamente na segurança e na vida útil do leite e, possivelmente, de seus derivados.

Em suma, faz-se necessário promover atividades de educação sanitária para a população local, por meio da divulgação dos resultados, juntamente com orientações técnicas através de cartilha elaborada pelos integrantes do projeto.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALTWEGG, M. *Aeromonas* and *Plesiomonas*. In: MURRAY, P. R.; BARON, E. J.; PFALLER, M. A.; TENOVER, F. C. (Ed.). **Manual of clinical microbiology**. Washington: ASM press, 1999. p. 507-16.

AMARAL, L. A. **Qualidade higiênico-sanitária e teor de nitratos na água utilizada em propriedades leiteiras situadas na região nordeste do estado de São Paulo**. 2001. Tese (Livre Docência) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP.

AMARAL, L. A. et al. Água de consumo humano como fator de risco à saúde em propriedades rurais. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 37, n. 4, p. 510-514, ago. 2003.

AMARAL, L. A.; NADER FILHO, A.; ROSSI JUNIOR, O. D.; PENHA, L. H. C. Características microbiológicas da água utilizada no processo de obtenção do leite. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 15, n. 2/3, p. 85-88, abr./set. 1995.

APHA - **Standard Methods for Examination of Water and Wastewater**. 21st ed. Washington: 2005.

ÁVILA, V. N. et al. **Incidência de *Pseudomonas aeruginosa* em águas minerais envasadas não carbonatadas comercializadas em Florianópolis, Santa Catarina**. 1995.

BERGEY'S MANUAL OF DETERMINATIVE BACTERIOLOGY. **Bacteriological analytical manual**. 9. ed. Baltimore: Willians & Wilkins, 1994. 1687 p.

BRANDI, G.; SISTI, M.; SCHIAVANO, G. F.; SALVAGGIO, L.; ALBANO, A. Survival of *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas caviae* and *Aeromonas sobria* in soil. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v. 81, n. 4, p. 439-444, Oct. 1996.

BRASIL. Leis, decretos, etc. Portaria nº 518/Gm do Ministério da Saúde de 25 de março de 2004. Aprova a norma de qualidade da água para consumo humano, que dispõe sobre procedimentos e responsabilidades inerentes ao controle e à vigilância da qualidade da água para consumo humano, estabelece o padrão de potabilidade da água para consumo humano, e dá outras providências. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 26 de março de 2004.

CAHILL, M. M. Virulence factors in motile *Aeromonas* species. A Review. **Journal of Applied Bacteriology**, Oxford, v. 69, n. 1, p. 1-16, July 1990.

CAMPOS, H. de. **Estatística experimental não-paramétrica**. 4. ed. Piracicaba, 1983. 349 p.

CERQUEIRA, M. M. O. P.; SENA, M. J de. Produção higiênica e fatores determinantes da qualidade do leite. **Ciência Veterinária nos Trópicos**, Recife, v. 1, n. 2, p. 115-134, set./dez. 1998.

COUSIN, M. A.; MATH, E. H. Cheddar cheese made from milk that was precultured with psychotropic bacteria. **Journal Dairy Science**, Baltimore, v. 60, n. 07, p. 1048-1056, Nov. 1977.

CRAUN, G. F. Causes of waterborne diseases in the United States. **Water Science and Technology, London**, v. 24, p. 17-20, 1991.

CROCI, L.; DI PASQUALE, S.; COZZI, L.; TOTI, L. Behavior *aeromonas hydrophila* in bottled mineral waters. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 64, n. 11, p. 1836-1840, Nov. 2001.

DAVID, P. R. B. S.; MENDES, A. C. R.; NETO, A. C.; COSTA, S. M. S. Avaliação da qualidade microbiológica de águas minerais e de abastecimento de alguns pontos da cidade do Recife, PE. 'Um relato da experiência de alunos do mestrado em nutrição UFPE'. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 13, n. 60, p. 36-42, mar. 1999.

EIROA, A. M.; JUNQUEIRA, V. C A; SILVEIRA, N. F. de A. Avaliação microbiológica de linhas de captação e engarrafamento de água mineral. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 16, n. 2, p. 165-169, jul./set. 1996.

ENEROTH, A.; AHRNÉ, S.; MOLIN, G. Contamination of milk with gram-negative spoilage bacteria during filling of retail containers. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 57, n. 1/2, p. 99-106, June 2000.

EUA. Drinking water quality and public health. **American Public Health Association**, New York, v. 91, n. 3, p. 499-500, Mar. 2001.

FEWTRELL L, KAY D, GODFREE A. The microbiological qualite of private water supplies. **Journal of the Chartered Institiotion of Water and Enviromental Management**, London, v. 12, n. 2, p. 98-100, 1998. .

FILIP, A.; KADDU-MALINDWAB, D.; MILD, G. Survival and adhesion of the facultative pathogenic microorganisms in groundwater. **Water Science and Technology**, Oxford, v. 19, p. 1189, 1988.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo: Atheneu, 1996. 182 p.

FRANK, J. F. Milk and dairy products. In: DOYLE, M. P.; BEUCHAT, L. R.; MONTVILLE, T. J. (Ed.). **Food Microbiology, Fundamentals and Frontiers**, Washington: ASM Press, 1997. p. 101.

FREITAS, M. B.; BRILHANTE, O. M.; ALMEIDA, L. M. Importância da análise de água para a saúde pública em duas regiões do Estado do Rio de Janeiro: enfoque para coliformes termotolerantes, nitrato e alumínio. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 17 n. 3, p. 651-660, maio/jun. 2001.

FUZHARA, T. O.; MURAKAMI, K. A.; VANNUCCI, L. *Aeromonas hydrophila*: ocorrência em águas de consumo humano. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA, 18., 1995, Santos. **Resumos...** Santos, 1995. p. 28.

GAUTAM, A. R.; PATHAK, S. P.; RAMTEKE, R. W.; BHATTACHARJEE, J. W. Virulence factors in environmental isolates of *Aeromonas* spp. **Journal of General Apllied Microbiology**, Tokio, v. 38, p. 185-189, 1992.

GELDREICH, E. E. The bacteriology of water. In: **Microbiology and Microbial infections**. 9. ed. London: Arnold Pub, 1998.

GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S. Água: um problema de segurança nacional. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 15, n. 90/91, p. 15-17, nov./dez. 2001.

GHENGHESH, K. S.; EL-GHODBAN, A.; DKAKNI, R.; ABEID, S.; ALTOMI, A.; TARHUNI, A.; MARIALIGETI, K. Prevalence, species differentiation, Haemolytic activity, and antiniotic susceptibility of *Aeromonas* in untreated well water. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 96, n. 2, 169-173, Feb. 2001.

GONZÁLIEZ, C.; GUTIÉRREZ, C.; GRANDE, T. Bacterial flora in bottled uncarbonated mineral drinking water. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 33, n. 12, p. 1120-1125, Dec. 1987.

GRABOW, W. Waterborne diseases: update on water quality assessment and control. **Water S. A.**, Grahamstown, v. 22, p. 193-202, 1996.

GUILHERME, E. F. M.; SILVA, J. A. M. da.; OTTO, S. S. *Pseudomonas aeruginosa* como indicador de contaminação hídrica. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 14, n. 76, p. 43-47, Set. 2000.

HANDFIELD, M.; SIMARD, P.; COUILLARD, M. LETARTE, R. *Aeromonas hydrophila* isolated from and drinking water: Hemagglutination, Hemolysis, and Cytotoxicity for a human Intestinal cell line (HT-29). **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 62, n. 9, p. 3459-3461, Sept. 1996.

HERRERO, M. A.; IRAMAIN, M. S.; KOROL, S. BUFFONI, H.; FLORES, M.; FURTADO, M. S.; Calidad del agua y contaminación em tambos de la cuenca lechera de Abasto Sur, Buenos Aires (Argentina). **Revista Argentina de Produccion Animal**, Buenos Aires, v. 22, n. 1, p. 61-70, 2002.

INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATION FOR FOODS - ICMSF. **Microrganisms in foods:** characteristics of microbial pathogens. London: Black Academic & Professional, 1996.

ISSAC-MARQUEZ, A. P.; LEZAMA-DAVILA, C. M.; KU-PECH, R. P.; TAMAY-SEGOVIA, P. Calidad sanitária de los suministros de água para consumo humano em Campeche. **Salud Pública México**, México, v. 94, n. 36, p. 655-661, 1994.

JANDA, J. M.; ABBOTT, S. L. Evolving Concepts Regarding the Genus *Aeromonas*: An Expanding Panorama of Species, Disease Presentations, and Unanswered Questions. **Clinical Infectious Diseases**, Chicago, v. 27, n. 2, p. 332-344, Aug. 1998.

JAY, J. M. **Microbiologia de alimentos**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. 668 p.

JAY, J. M. Taxonomy, role and significance of microorganisms in food. In: _____. **Modern food microbiology**. Gaithersburg MD: Aspen Publishers, 2000. p. 13.

KNOCHEL, S.; JEPPENSEN, C. Distribution and characteristics of *Aeromonas* in food and drinking water in Denmark. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 10, n. 3/4, p. 317-322, May 1990.

KO, W. C.; YU, K. W.; LIU, C. Y.; HUANG, C. T.; LEU, H. S.; CHUANG, Y. C. Increasing antibiotic resistance in clinical isolates of *Aeromonas* strains in Taiwan. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, Washington, v. 40, n. 5, p. 1260-1262, May 1996.

KOTTWITZ, L. B. M.; GUIMARÃES, I. M. Avaliação da qualidade microbiológica da água consumida pela população de Cascavel, PR. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 11, n. 113, p. 54-59, Out. 2003.

KRAVITZ, J. D.; NYAPHUSI, M.; MANDEL, R.; PETERSEN, E. Quantitative bacterial examination of domestic water supplies in Lesotho Highlands: water quality, sanitation and village health. **Bulletin of the World Health Organization**, Geneva, v. 77, n. 10, p. 829-836, 1999.

LUNDER, T.; BRENNER, E. Factors in the farm pollution production affection bacterial content in raw milk. In: SYMPOSIUM ON BACTERIOLOGICAL QUALITY OF RAW MILK, 1996, Wolfpassing, Austria. **Proceedings...** Wolfpassing, Austria, IDF, 1996. p. 103-107.

MACÊDO, J. A. B. **Águas & águas**. São Paulo: Varela Editora e Livraria, 2001. 505 p.

MACFADDIN, J. F. **Biochemical tests for identification of medical bacteria**. 2. ed. Baltimore, 1980. 527 p.

McCLURE, P. J.; DAVIES, K. W. An example of the stages in the development of a predictive mathematical model for microbial growth: the effects of NaCl, pH and temperature on the growth of *Aeromonas hydrophila*. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 23, n. 3/4, p. 359-375, Nov. 1994.

MALLET, A.; SILVA, B. C. da.; COELHO, C. C. G. M.; PICCOLI, R. H.; ABREU, L. R. de. Isolation and identification of *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Aeromonas Hydrophila* in waters of rural area. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON SAFE WATER AND HEALTH, 4., 2006, Rio de Janeiro, Brazil, 2006.

MARTINS, C. E.; BRESSAN, M.; CARVALHO, L. A. (Ed.). **Sustentabilidade da pecuária de leite no Brasil: qualidade e segurança alimentar**. Goiânia: CNPq; Serrana Nutrição Animal; Embrapa Gado de Leite, 2001. p. 141-161.

MARTINS, L. M.; MARQUEZ, R. F.; YANO, T. Incidence of toxic *Aeromonas* isolated from food and human infection. **FEMS Immunology and Medical Microbiology**, Amsterdam, v. 32, n. 3, p. 237-242, Feb. 2002.

MASSA, S.; ALTIERI, C.; DÁNGELA, A. The occurrence of *aeromonas* spp in natural mineral water and well water. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 63, n. 1/2, p. 169-173, Jan. 2001.

MEDEIROS, M. I. M. de. **Associação de agentes patogênicos isolados em análise microbiológica da água em propriedades leiteiras da região de Cerqueira César - SP**. 2005. 145 p. Tese (Mestrado em Medicina Veterinária) – Universidade Estadual de São Paulo, Botucatu, SP.

MOURA, C. J. **Efeito do resfriamento do leite sobre o rendimento e lipólise do queijo tipo parmesão**. 1997. 77 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

NETTO, J. M. A. de.; BOTELHO, M. H. C. **Manual de saneamento de cidades e edificações**. São Paulo: Pini, 1991.

OKURA, M. H.; SIQUEIRA, K. B. Enumeração de coliformes totais e coliformes termotolerantes em água de abastecimento e de minas. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 19, n. 135, p. 86-91, set. 2005.

ORGANIZAÇÃO PANAMERICANA DA SAÚDE – OPAS. **Água e Saúde**. Folheto da série “Autoridades locais, Saúde e Ambiente”. 2001.

ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD (OPS). **La salud y el ambiente en el desarrollo sostenible**. Washington, D. C. : OPS, 2000. (Publicación Científica, 572).

- POLEGATO, E. M. dos S. **Água em propriedades leiteiras: qualidade higiênico-sanitária e proposta de projeto educacional como instrumento para melhorar sua qualidade no meio rural**. 2003. 110 p. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP.
- POPOFF, M. Genus III. *Aeromonas Kluyverans* Van Niel 1936, In: KRIEG, N. R.; HOLT, J. G. (Ed.). **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology**. Baltimore: Williams & Wilkins, 1984. p. 545-548.
- PRATA, L. F. **Fundamentos de ciência do leite**. São Paulo: UNESP, 1998. 119 p.
- RHODES, G. HUYS, G.; SWINGS, J.; MCGANN, P.; HINEY, M.; SMITH, P.; PICKUP, R. W. Distribution of Oxytetracycline resistente Plasmids between *Aeromonads* in hospital and aquaculture environments: implication of Tet A. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 66, n. 9, p. 3883-3890, Sept. 2000.
- ROBINSON, R. K. **Microbiologia lactológica**. Zaragoza: Acribia, 1987. p. 230
- ROLIM, R. G. **Fatores relacionados ao uso e qualidade bacteriológica e físico-química das águas de poços e minas em propriedades rurais e peri-urbanas no Município de Botucatu**. 2005. 145 p. Tese (Mestrado em Medicina Veterinária) – Universidade Estadual de São Paulo, Botucatu, SP.
- ROMANO, A. P. M. **Avaliação da importância da água utilizada na produção de leite como via de transmissão de *Staphylococcus spp.*** 2002. 62 p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP.
- ROSSI, O. D. Jr.; AMARAL, L. A.; NADER FILHO, A. Bactérias do gênero *Aeromonas* em água de matadouro bovino. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 52, n. 5, p. 534-538, out. 2002.
- SHAH, N. P. Psychrotrophs in milk: a review. **Milchwissenschaft**, v. 49, n. 8, p. 432-437, 1994.
- SILVA, A. I. M. et al. Qualidade da água de poços destinada ao consumo humano, na cidade de Fortaleza, CE. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 19, n. 134, p. 70-74, ago. 2005.

SILVA, N. da.; JUNQUEIRA, V. C. A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. 2. ed. São Paulo: Livraria Varela, 2001. 317 p.

SILVA, N. da.; NETO, R. C.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. de A. **Manual de métodos de análise microbiológica da água**. Campinas: ITAL/Núcleo de Microbiologia, 2000. 99 p.

SISTI, M.; ALBANO, A.; BRANDI, G. Bactericidal effect of chlorine on motile *Aeromonas* spp. In drinking water supplies and influence of temperature on disinfection efficacy. **Letters in Applied Microbiology**, Oxford, v. 26, n. 5, p. 347-351, May 1998.

SOUZA, L. C.; FARIA, S. T.; PAIM, G. V. Salmonera e coniformes de origen fecal em águas de bebidas para animais. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 26, n. 5, p. 321-327, out. 1992.

SOUZA, L. C.; FARIA, S. T.; PAIM, G. V.; LOPES, C. A. M. Bactérias coliformes totais e coliformes de origen fecal em águas usadas na dessedentação de animais. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 17, n. 2, p. 112-122, Apr. 1983.

SCHOENEN, D. Role of disinfection in suppressing the spread of pathogens with drinking water: possibilitien and limitations. **Water Research**, Oxford, v. 36, n. 15, p. 3874-3888, Sept. 2002.

SCHUKKEN, Y. H.; GROMMER, F. J.; VAN DER GREER, D. Risk factors for clinical mastitis in herís with low bula milk somatic cell count. 2- Risk factors for *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 74, n. 3, p. 826-832, Mar. 1991.

STUKEL, T. A.; GREENBERG, E. R.; DAIN, B. J.; REED, F. C.; JACOBS, N. A longitudinal study of rainfall and coliform contamination in small community drinking water supplies J. **Enverimental Science and Technology**, Washington, v. 24, n. 4, p. 571-575, Apr. 1990.

TIMMIS, L. L.; SCHULTZ, L. H. Dynamics and significance of coagulase-negative staphylococcal intramammary infections. **Journal of Dairy Science**, v. 70, p. 2648 -2657, Apr. 1987.

TRIOLA, M. F. **Introdução à estatística**. 9. ed. Rio de Janeiro: LTC Livros Técnicos Científicos Editora, 2005. 656 p.

VIANA, F. C. **Construção de poços rasos-cisternas e uso de cloradores por difusão**. 4. ed. Belo Horizonte: Imprensa UFMG, 1991. 40 p.

VIEIRA, S. dos F. **Microbiologia, Higiene e qualidade do pescado: teoria e prática**. São Paulo: Livraria Varela. 2003. 380 p.

WILLERS, H. C.; KARAMANLIS, X. N.; SCHULTE, D. D. Potential of closed water systems on dairy farms. **Water Science and Technology**, Oxford, v. 39, n. 5, p. 113-119, 1999.

WORLD HEALTH ORGANIZATION – WHO. Microbiol Fact Sheets.
In: _____. **Guidelines for drinking-water quality**. 3. ed. Geneva, v. 1, 2004.

ANEXOS

ANEXO A

QUESTIONÁRIO

Propriedade:

Local:

Data:

1. Tipo de fonte de abastecimento?

2. Existe proteção nas fontes?

3. Recebe algum tratamento?

4. O que acha da qualidade da sua água?

5. Esgoto sanitário próximo ao local de abastecimento?

6. Distância da fonte a fossa sanitária?

7. Utilização da água?

8. Noções de doenças de veiculação hídrica?

9. tipo de reservatório?

10. Realiza limpeza nos reservatórios?

Observações gerais:
