

# DINÂMICA DA CONTAMINAÇÃO POR INDICADORES BACTERIANOS E EFEITO DA CLORAÇÃO EM TRÊS MANEJOS DA ÁGUA DE DESSEDENTAÇÃO DE BEZERRAS<sup>1</sup>

CONTAMINATION DYNAMIC OF BACTERIOLOGICAL INDICATORS AND CHLORINATION EFFECT IN THREE MANagements OF DRINKING WATER FOR HEIFERS

F. R. PINTO<sup>2</sup>, L. G. LOPES<sup>3</sup>, L. S. FARIA<sup>2</sup>, A. P. NUNES<sup>4</sup>, L. A. AMARAL<sup>2</sup>

## RESUMO

O objetivo desse trabalho foi determinar a dinâmica da contaminação por indicadores bacterianos e verificar o efeito do uso do cloro na água de dessedentação de bezerras. Para isso, foram analisadas amostras de água não clorada e clorada dos bebedouros de bezerras mantidas em abrigos móveis individuais em local aberto (manejo 1) e em baias individuais em bezerreiro (manejos 2 e 3). A água permaneceu nos bebedouros à disposição dos animais por 24, 17 e 7 horas nos manejos 1, 2 e 3, respectivamente. A quantificação de enterococos, *Escherichia coli* e microrganismos heterotróficos mesófilos, e o consumo de cloro foram realizados nas amostras de água. Nos três manejos, nas águas não cloradas e cloradas, ocorreu aumento na contaminação bacteriana para os indicadores bacteriológicos estudados durante a permanência da água nos bebedouros. A utilização do cloro foi fundamental para a melhoria da qualidade da água e a utilização de água clorada por um tempo de permanência de no máximo 7 horas nos bebedouros foi o melhor manejo para garantir a qualidade microbiológica da água.

**PALAVRAS-CHAVE:** Bebedouro. Bovino. Cloro. Microrganismos.

## SUMMARY

The objective of this study was to determine the contamination dynamic of bacteriological indicators and verify the effect of chlorination in heifers' drinking water. For this, non-chlorinated and chlorinated water samples from water troughs of heifers kept in individual mobile shelters (tropical shelter) (management 1) and in individual stall in covered place (managements 2 and 3) were analysed. The water remained in the water troughs during 24, 17 and 7 hours in managements 1, 2 and 3, respectively. Enterococcus, *Escherichia coli*, mesophilic heterotrophic microorganisms and chlorine consumption were determined in the water samples. In the three managements, in non-chlorinated and chlorinated water, was verified increase in bacterial contamination of bacteriological indicators during the permanence of the water in the water troughs. The use of chlorine was important for maintenance of the quality of the water and the use of chlorinated water in the maximum of 7 hours in the water troughs was the better management to guarantee the microbiological quality of water.

**KEY WORDS:** Bovine. Chlorine. Microorganisms. Water troughs.

1 Trabalho de mestrado do primeiro autor apresentado ao programa de pós-graduação em Medicina Veterinária da FCAV – UNESP, Jaboticabal. Financiado pela Fundação de Apoio à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP)

2 \* Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal, FCAV - UNESP, Jaboticabal, Via de Acesso Paulo Donato Castellani, s/n. CEP: 14884-900, Jaboticabal, SP, Fone (16) 3202646. f\_rezendevet@yahoo.com.br

3 Serviço Autônomo de Água e Esgoto de Jaboticabal (SAAEJ)

4 Centro de Aqüicultura da UNESP (CAUNESP, Jaboticabal)

## INTRODUÇÃO

A qualidade da água de dessedentação é um fator importante na produção e na saúde de bovinos leiteiros (WALDNER & LOOPER, 2007), uma vez que a presença de agentes patogênicos como bactérias, vírus e protozoários pode determinar diversas enfermidades de veiculação hídrica para os animais (MCGEE et al., 2002). Essas enfermidades são causadas por microrganismos patogênicos de origem entérica animal ou humana que são transmitidos pela rota fecal-oral (GRABOW, 1996).

Contudo, frequentemente, o aspecto referente à qualidade da água consumida pelos animais é negligenciado, o que pode oferecer riscos à saúde animal pela ocorrência de doenças como as diarreias. Adicionalmente, podem ocorrer prejuízos econômicos causados por mortalidade, queda na produção, gastos com medicamentos e assistência veterinária, devido ao consumo de água com padrões de potabilidade inadequados (BEEDE, 2007).

No Brasil, a qualidade da água de consumo animal é regulamentada pela Resolução. 357 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA), a qual estabelece o número mais provável (NMP) máximo de coliformes termotolerantes de  $10^3$  NMP em 100 mL de água. Essa legislação sugere, ainda, que a bactéria *Escherichia coli* seja utilizada para avaliação da qualidade microbiológica da água em substituição aos coliformes termotolerantes (BRASIL, 2005).

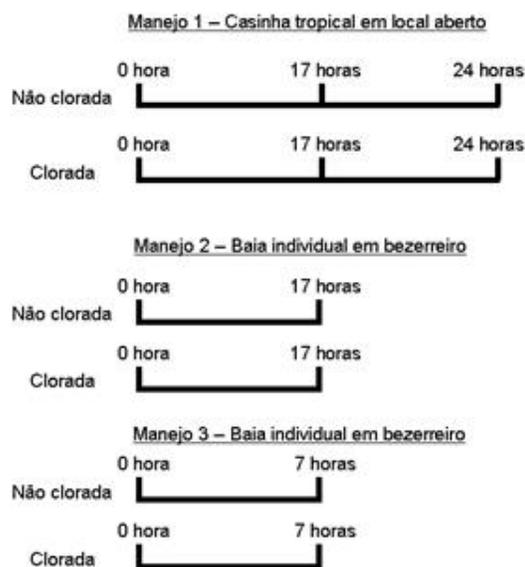
Estudos de Lejeune et al. (2001a) e Sargeant et al. (2003) sobre os aspectos higiênico-sanitários da água de dessedentação animal nos Estados Unidos, revelaram que esta se encontrava inadequada para consumo, demonstrando a necessidade de monitoramento e emprego de medidas de controle de sua contaminação.

Diante do exposto, desenvolveu-se este estudo com o objetivo de determinar a dinâmica da contaminação pelos indicadores bacterianos enterococos, *Escherichia coli* e microrganismos heterotróficos mesófilos e verificar o efeito da cloração na água de dessedentação de bezerras em três manejos da água, a fim de fornecer subsídios para sua desinfecção e preservação de sua qualidade.

## MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado em propriedade produtora de leite no município de Taiacu, SP, no período de fevereiro a agosto de 2006. Para tanto, dez bezerras da raça holandesa foram alojadas em abrigos móveis individuais do tipo “casinha tropical”, mantidas em local aberto (VINHOLIS et al., 2006) e dez foram mantidas em baias individuais dentro de um barracão utilizado como bezerreiro coletivo. Para cada animal havia um comedouro e um recipiente plástico como bebedouro. Cinco bezerras mantidas nas “casinhas tropicais” e cinco nas baias individuais receberam água clorada com concentração inicial de  $5,0 \text{ mg L}^{-1}$  de cloro residual livre (CRL) preparada a partir de uma solução de hipoclorito de sódio a 10%. As outras dez bezerras receberam água sem cloro.

Para avaliar a dinâmica da contaminação por indicadores bacterianos e o efeito do cloro na qualidade da água foram realizados três experimentos, designados manejos 1, 2 e 3. Para isso, as amostras de água foram colhidas no manejo 1 após 0, 17 e 24 horas, no manejo 2 após 0 e 17 horas e no manejo 3 após 0 e 7 horas de permanência nos bebedouros (Figura 1). Os manejos 2 e 3 foram realizados nos mesmos bebedouros e com os mesmos animais, sendo que após as 17 horas de permanência da água no manejo 2, a água restante no bebedouro foi descartada, e após limpeza deste, foi colocada a água utilizada no manejo 3. Os três experimentos foram realizados com 15 repetições cada, obtendo-se 90 amostras de água no manejo 1 e 60 nos manejos 2 e 3, totalizando 210 amostras.



**Figura 1** - Esquema dos momentos de colheitas de água não clorada e clorada oferecida às bezerras nos três manejos.

Para a determinação dos microrganismos indicadores de contaminação fecal, as amostras de água foram colhidas nos bebedouros segundo metodologia da Apha (1998). A técnica do substrato cromogênico-fluorogênico-hidrolizável foi utilizada para determinação do número mais provável em 100 mL de amostra de água (NMP  $100 \text{ mL}^{-1}$ ) de *Escherichia coli* e enterococos, utilizando os meios de cultura Colilert® e Enterolert®, respectivamente.

A quantificação dos microrganismos heterotróficos mesófilos foi realizada por contagem em ágar padrão e os resultados foram expressos em unidades formadoras de colônia por mililitro de água ( $\text{UFC mL}^{-1}$ ) (APHA, 1998).

A concentração de cloro residual livre (CRL) nas águas cloradas foi determinada no momento das colheitas por colorimetria, utilizando reagente com NN Dietil Parafenileno Diamino (DPD). O consumo de cloro foi determinado pela subtração da concentração final, em cada manejo, da concentração mensurada após a cloração da água ( $5,0 \text{ mg L}^{-1}$ ) (BEEDE, 2007).

Para a avaliação estatística dos resultados, os valores médios do CRL, dos números mais prováveis de enterococos e *Escherichia coli* e do número de microrganismos heterotróficos mesófilos foram submetidas à análise de variância pelo teste de Tukey ao nível de 1% de significância (STEEL & TORRIE, 1980) através do programa SAS (SAS, 1998).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

No manejo 1, durante o tempo que a água não clorada permaneceu à disposição das bezerras, ocorreu

aumento ( $p < 0,01$ ) nas médias dos indicadores bacterianos estudados, enquanto que na água clorada, ocorreu aumento na contaminação por enterococos e microrganismos heterotróficos mesófilos ( $p < 0,01$ ) (Tabela 1).

No manejo 2, de modo parecido ao manejo 1, durante a oferta de água não clorada aos animais, ocorreu aumento ( $p < 0,001$ ) na contaminação dos indicadores bacterianos, e na água clorada ocorreu aumento na contaminação por enterococos e microrganismos heterotróficos mesófilos (Tabela 2).

**Tabela 1** - Médias geométricas dos indicadores bacterianos e da concentração de cloro residual livre (CRL) nas amostras de água no manejo 1 realizado em propriedade leiteira em Taiapu, SP, 2006.

Variáveis	Cloro	Permanência da água no bebedouro (horas)		
		0	17	24
Enterococos (NMP 100mL <sup>-1</sup> )	Não Clorada	1,0 x 10 <sup>2</sup> A c	1,0 x 10 <sup>3</sup> A b	6,4 x 10 <sup>3</sup> A a
	Clorada	3,3 x 10 <sup>0</sup> B c	8,8 x 10 B b	6,6 x 10 <sup>2</sup> B a
<i>Escherichia coli</i> (NMP 100mL <sup>-1</sup> )	Não Cloradas	4,5 x 10 A c	5,4 x 10 <sup>3</sup> A b	1,8 x 10 <sup>4</sup> A a
	Cloradas	6,9 x 10 <sup>0</sup> B a	1,2 x 10 <sup>2</sup> B a	3,9 x 10 B a
Microrganismos Heterotróficos Mesófilos (UFC mL <sup>-1</sup> )	Não Cloradas	6,1 x 10 <sup>2</sup> A c	5,4 x 10 <sup>5</sup> A b	4,0 x 10 <sup>6</sup> A a
	Cloradas	3,7 x 10 <sup>0</sup> B c	4,3 x 10 <sup>2</sup> B b	4,5 x 10 <sup>4</sup> B a
CRL (mg L <sup>-1</sup> )	Clorada	5,12 a	0,51 b	0,37 c

Médias seguidas por letras maiúsculas iguais comparadas nas colunas e letras minúsculas iguais comparadas nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey.

**Tabela 2** - Médias geométricas dos indicadores bacterianos e da concentração de cloro residual livre (CRL) nas amostras de água no manejo 2 realizado em propriedade leiteira em Taiapu, SP, 2006.

Variáveis	Cloro	Permanência da água no bebedouro (horas)	
		0	17
Enterococos (NMP 100 mL <sup>-1</sup> )	Não Clorada	6,4 x 10 <sup>2</sup> A b	2,0 x 10 <sup>3</sup> A a
	Clorada	1,6 x 10 <sup>0</sup> B b	9,0 x 10 <sup>0</sup> B a
<i>Escherichia coli</i> (NMP 100 mL <sup>-1</sup> )	Não Cloradas	1,1 x 10 <sup>2</sup> A b	1,4 x 10 <sup>3</sup> A a
	Cloradas	5,2 x 10 <sup>0</sup> B a	2,8 x 10 B a
Microrganismos Heterotróficos Mesófilos (UFC mL <sup>-1</sup> )	Não Cloradas	3,1 x 10 <sup>3</sup> A b	1,0 x 10 <sup>6</sup> A a
	Cloradas	2,3 x 10 B b	2,6 x 10 <sup>2</sup> B a
CRL (mg L <sup>-1</sup> )	Clorada	5,26 a	0,18 b

Médias seguidas por letras maiúsculas iguais comparadas nas colunas e letras minúsculas iguais comparadas nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey.

No manejo 3, na água não clorada, somente os enterococos e os microrganismos heterotróficos mesófilos apresentaram aumento ( $p < 0,01$ ) durante as sete horas de permanência no bebedouro (Tabela 3). Já

na água clorada verificou-se aumento nas médias somente dos microrganismos heterotróficos mesófilos ( $p < 0,01$ ) (Tabela 3).

**Tabela 3** - Médias geométricas dos indicadores bacterianos e da concentração de cloro residual livre (CRL) nas amostras de água no manejo 3 realizado em propriedade leiteira em Taiacu, SP, 2006.

Variáveis	Cloro	Permanência da água no bebedouro (horas)	
		0	7
Enterococos (NMP 100mL <sup>-1</sup> ) -	Não Clorada	1,3 x 10 <sup>2</sup> A b	8,1 x 10 <sup>2</sup> A a
	Clorada	1,0 x 10 <sup>0</sup> B a	8,4 x 10 <sup>0</sup> B a
<i>Escherichia coli</i> (NMP 100mL <sup>-1</sup> )	Não Cloradas	1,3 x 10 <sup>2</sup> A b	8,1 x 10 <sup>2</sup> A a
	Cloradas	1,0 x 10 <sup>0</sup> B a	2,0 x 10 <sup>0</sup> B a
Microrganismos Heterotróficos Mesófilos (UFCmL <sup>-1</sup> )	Não Cloradas	2,4 x 10 <sup>2</sup> B a	3,7 x 10 <sup>3</sup> A a
	Cloradas	4,2 x 10 <sup>0</sup> B b	2,6 x 10 A a
CRL (mg L <sup>-1</sup> )	Clorada	5,17 a	1,36 b

Médias seguidas por letras maiúsculas iguais comparadas nas colunas e letras minúsculas iguais comparadas nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey.

A cloração da água foi mais eficiente no controle da contaminação pela *Escherichia coli*, nos três manejos realizados, indicando maior sensibilidade desse microrganismo ao cloro. Para Tree et al. (2003), em estudo sobre resistência de bactérias *Escherichia coli* e *Enterococcus faecalis* ao hipoclorito de sódio em água residuária, ocorreu maior resistência dos enterococos à cloração em relação à *Escherichia coli*. Segundo os autores, esse desinfetante nas concentrações 8,0, 16,0 e 30,0 mg L<sup>-1</sup> reduziu em mais de 5 logs as contagens de *Enterococcus faecalis* e *Escherichia coli*, sendo que esta foi inativada rapidamente, e os enterococos apenas após 15 minutos de exposição às três concentrações.

De modo geral, durante a permanência da água no bebedouro, nos três manejos, ocorreu depreciação na qualidade microbiológica da mesma, inclusive nas cloradas. Segundo Lejeune et al. (2001a) e Sanderson et al. (2005), a piora na qualidade ocorre porque as bezerras contaminam repetitivamente a água durante o consumo, por meio da introdução de fezes, urina e saliva. Uma vez que os bebedouros das bezerras estavam localizados na altura do peito, facilitou a contaminação da água com saliva e introdução de fezes por meio da região do focinho sujo por esse material. Os microrganismos encontram condições favoráveis para sobreviverem, aumentando os índices de contaminação. Além disso, os bovinos são considerados os principais reservatórios ambientais de microrganismos entéricos, podendo excretar entre 10<sup>2</sup> e 10<sup>5</sup> UFC g<sup>-1</sup> de *Escherichia coli* O157:H7 (BESSER et al., 2001) até quantidades superiores a 10<sup>8</sup> UFC g<sup>-1</sup> de fezes (FUKUSHIMA & SEKI, 2004).

Quando se comparou a contaminação presente na água não clorada e clorada, independente do momento de colheita nos três manejos, verificou-se nos manejos 1 e 2 que a cloração reduziu a contaminação por enterococos, *Escherichia coli* e microrganismos heterotróficos mesófilos nos três momentos de colheita (Tabelas 1 e 2). Já no manejo 3, a cloração da água reduziu a contaminação por enterococos e *Escherichia coli* e não foi verificada diferença significativa ( $p < 0,01$ ) nas contagens de microrganismos heterotróficos mesófilos nas águas cloradas e não cloradas (Tabela 3).

De modo semelhante a este estudo, o efeito da cloração da água na redução da contaminação por *Escherichia coli* O157 em água de bebedouro animal foi verificado por Lejeune et al. (2001b). Segundo os autores, a água dos bebedouros que receberam cloro (0,15 mg L<sup>-1</sup> de cloro residual) apresentaram menores concentrações de *E.coli* O157 quando comparados com aqueles que não eram clorados. Para Poppe et al. (1986) a utilização de concentrações de cloro livre acima de 0,1 mg L<sup>-1</sup>, em água para dessedentação de aves, reduziu as contagens de microrganismos heterotróficos mesófilos e coliformes termotolerantes e a *Salmonella* sp. manteve-se ausente.

Ainda em estudo sobre inativação de *E.coli* O157:H7 em água de dessedentação de animais, Zhao et al. (2006) simularam as condições de água em bebedouros animais com e sem presença de conteúdo ruminal adicionado à água. Em água clorada com 5,0 mg L<sup>-1</sup> e ausência de conteúdo, a redução de *E. coli* O157:H7 variou entre 10<sup>6</sup> a 10<sup>7</sup> UFC mL<sup>-1</sup>, chegando a

níveis de contagens não detectáveis. Já a adição de conteúdo ruminal na proporção de uma parte de conteúdo em 100 partes de água, diminuiu o efeito do cloro na inativação da bactéria, a qual apresentou redução de cerca de 1,5 log UFC mL<sup>-1</sup>, em um período de 20 minutos de exposição ao desinfetante. Quando o conteúdo ruminal foi adicionado na proporção de uma parte de conteúdo em 50 partes de água, quase nenhuma inativação de *E. coli* O157:H7 foi verificada.

Os resultados obtidos neste estudo verificaram melhoria na qualidade da água com concentração de cloro residual de 5,0 mg L<sup>-1</sup>. Fato semelhante foi descrito por RICE et al. (1999), que em estudo sobre a resistência à cloração da *Escherichia coli* O157:H7 e da *Escherichia coli* proveniente de isolados de campo, verificaram reduções de até 4 logs para os dois tipos de *E. coli* em água clorada com concentração de 1,1 mg L<sup>-1</sup> de cloro residual livre.

Em relação ao consumo de cloro nas águas cloradas, nos três manejos realizados ocorreu redução (p<0,01) do desinfetante durante o tempo que a água permaneceu à disposição das bezerras. A maior redução do CRL ocorreu no manejo 2 (Tabela 2) e a menor redução ocorreu no manejo 3 (Tabela 3). Ratificando esses resultados, o cálculo da percentagem de cloro consumido durante o tempo de exposição da água indicou maior percentagem no manejo 2 e menor no manejo 3 (Tabela 4).

**Tabela 4** - Médias de cloro residual livre inicial (CRL<sub>i</sub>), cloro residual livre final (CRL<sub>f</sub>) e percentagem de consumo de cloro nas águas cloradas nos três manejos realizados em propriedade leiteira em Taiacu, SP, 2006.

Manejo	Cloro residual livre		
	CRL <sub>i</sub>	CRL <sub>f</sub>	CCRL
	(mg L <sup>-1</sup> )	(mg L <sup>-1</sup> )	(%)
1	5,12	0,51	92,77
2	5,26	0,18	96,58
3	5,17	1,36	73,69

A redução nas concentrações de CRL e o aumento nas determinações dos microrganismos nas águas dos três manejos ocorreram devido à contaminação por matéria orgânica da água pelos animais. O cloro reage com a contaminação orgânica aumentando o consumo do cloro disponível e dificultando a presença de cloro residual crucial à eliminação de microrganismos (TSAI et al., 1992).

Segundo Shang & Blatchley (2001) a inativação bacteriana pelo cloro ocorre por meio de alterações na membrana celular, com subsequente liberação de material do citoplasma da célula para o meio externo, assim como, aminoácidos e ácidos nucléicos da célula bacteriana. Esse material nitrogenado eliminado reage com o excesso de cloro residual na solução clorada.

A introdução de matéria orgânica por meio das fezes e da ração pelos animais ao ingerirem a água, reduz o cloro disponível, e, conseqüentemente, diminui a eficiência desse produto para a inativação das bactérias presentes (BARROS et al., 2009). Para Zhao et al. (2006) apesar da cloração ser um tratamento

eficiente no controle de patógenos de veiculação hídrica como a *Escherichia coli* O157:H7 em água pura, com pouco material orgânico em suspensão, a presença de fezes e solo facilitam a atividade microbiana da água e reduzem ou eliminam o efeito bactericida deste produto na água de dessedentação animal.

Associado às características da água a ser tratada, a exposição direta da solução de cloro à radiação solar também diminui atividade biocida do cloro (ZHAO et al., 2006). Esse fato pode explicar, juntamente com o aporte de material orgânico na água dos bebedouros, o consumo de cloro na água do manejo 1, pois, embora os bebedouros tenham permanecido dentro da “casinha tropical”, sua exposição em lugar aberto pode ter facilitado a exposição da água clorada à luz solar e a inativação do cloro.

Em relação à percentagem de amostras de água fora dos padrões de qualidade segundo a Resolução 357 do Conama (BRASIL, 2005), para as águas que não cloradas, 48,50%, 59,46% e 42,31% estavam impróprias para consumo animal nos manejos 1, 2 e 3, respectivamente. Com o uso do cloro, essas percentagens diminuíram para 20,00%, 1,96% e 0,00% nos manejos 1, 2 e 3, respectivamente (Tabela 5).

**Tabela 5** - Número total e percentagem de amostras de água fora dos padrões de qualidade estabelecidos pela Resolução 375 do CONAMA, para *Escherichia coli* em propriedade leiteira em Taiacu, SP, 2006.

Manejo	Permanência da água no bebedouro (h)	Água não Clorada		Água clorada	
		Total	%	Total	%
1	24	70	48,50	70	20,00
2	17	37	59,46	51	1,96
3	7	52	42,31	52	0,00

Os resultados indicam que o consumo de água sem a desinfecção pelo cloro, independente do tempo de permanência nos bebedouros, pode representar risco de doenças de veiculação hídrica às bezerras, uma vez que a água não clorada apresentou as maiores percentagens de amostras impróprias para consumo animal, devido à presença de bactérias, dentre elas as de origem fecal.

## CONCLUSÃO

A dinâmica da contaminação por indicadores bacterianos indicou piora na qualidade microbiológica da água durante sua permanência nos bebedouros, e o efeito do cloro reduziu as determinações dos indicadores na água clorada. Para a manutenção da qualidade microbiológica da água de dessedentação de bezerras, no presente estudo foi necessária a utilização de cloro residual livre numa concentração inicial de 5,0 mg L<sup>-1</sup> e a permanência da água clorada no bebedouro por no máximo sete horas seguidas. Desse modo a cloração passa a ser uma medida eficiente para diminuir a contaminação bacteriológica da água.

## AGRADECIMENTO

À Fundação de Apoio à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) Proc.2005/56996-0 (Bolsa de

mestrado do primeiro autor) e Proc.05/02064-0 (Auxílio à Pesquisa) e à Fazenda Germânia (Taiacu, SP) pelo apoio no desenvolvimento a campo deste projeto.

## REFERÊNCIAS

- APHA, American Public Health Association. **Standard methods for the examination of water and wastewater**, Washington: APHA, 1998, 1220 p.
- BARROS, L. S. S., AMARAL, L. A., ROSSI JR, O. D. **Microbiological aspects and chlorine demand in the drinking water of broiler chicken collected from bell shaped drinkers**. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1516](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516)>. Acesso em: 12/12/2009.
- BEEDE, D. K. **Water nutrition and quality for dairy cattle**. Disponível em: <<http://www.msu.edu/~beede/>>. Acesso em: 10/10/2007.
- BESSER, T., RICHARDS, B. L., RICE, D. H., HANCOCK, D. D. *Escherichia coli* O157:H7 infection of calves: infectious dose and direct contact transmission. **Epidemiology and Infection**, v. 127, p. 555-56, 2001.
- BRASIL. Resolução CONAMA nº 357, de 17 de março de 2005. **Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências**. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília DF, 18 Mar. 2005. Seção Resoluções, p. 19, 2005.
- FUKUSHIMA, H., SEKI, R. High numbers of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* found in bovine faeces collected at slaughter in Japan. **FEMS Microbiology Letters**, v. 238, p. 189-197, 2004.
- GRABOW, W. Waterborne diseases: upgrade on water quality assessment and control. **Water SA**, v. 22, n. 1, p. 193-201, 1996.
- LEJEUNE, J. T., BESSER, T. E., HANCOCK, D. D. Cattle water troughs as reservoirs of *Escherichia coli* O157. **Applied Environmental Microbiology**, v. 67, n. 7, p. 3053-3057, 2001a.
- LEJEUNE, J. T., BESSER, T. E., MERRILL, N. L., RICE, D. D. Livestock drinking water microbiology and the factors influencing the quality of drinking water offered to cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 84, p. 1856-62, 2001b.
- MCGEE, P., BOLTON, D. J., SHERIDAN, J. J., EARLEY, B., KELLY, G. Survival of *Escherichia coli* O157:H7 in farm water: its role as a vector in the transmission of the organism within herds. **Journal of Applied Microbiology**, v. 93, p. 706-713, 2002.
- POPPE, C., BARNUM, D. A., MITCHELL, W. R. Effect of chlorination of drinking water on experimental Salmonella infection in poultry. **Avian Disease**, v. 30, n. 2, p. 362-369, 1986.
- RICE, E. W., CLARK, R. M., JOHNSON, C. H. Chlorine inactivation of *Escherichia coli* O157:H7. **Emerging and Infection Disease**, v. 5, n. 3, p. 461-469, 1999.
- SANDERSON, M. W., SARGEANT, J. M., RENTER, D., GRIFFIN, D. D., SMITH, R. A. Factors associated with the presence of coliforms in the feed and water of feedlot cattle. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 71, n. 10, p. 6026-6032, 2005.
- SARGEANT, J. M., SANDERSON, M. S., SMITH, R. A., GRIFFIN, D. D. *Escherichia coli* O157 in feedlot cattle feces and water in four major feeder-cattle states in the USA. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 61, p. 127-135, 2003.
- SAS. **Institute Statistical Analysis System User's Guide: Statistics**. Cary: SAS Inst., 1998.
- SHANG, C., BLATCHLEY, R. Chlorination of pure bacterial culture in aqueous solution. **Water Reserach**, v. 35, n. 1, p. 244-254, 2001.
- STEEL, R. G. D., TORRIE, J. H. **Principles and procedures of statistics**. New York: McGraw, 1980.
- TSAI, L. S., SCHADE, J. E., MOLYNEUX, B. T. Chlorination of poultry chiller water: chlorine demand and disinfection efficiency. **Poultry Science**, v. 71, n. 1, p. 188-196, 1992.
- TREE, J. A., ADAMS, M. R., LEES, D. N. Chlorination of indicator bacteria and viruses in primary sewage effluent, **Applied and Environmental Microbiology**, v. 69, n. 4, p. 2038-2043, 2003.
- VINHOLIS, M. M. B., TUPY, O., PEDROSO, A. F., PRIMAVESI, O., BERNARDI, A. C. C. **Avaliação dos impactos econômicos sociais e ambientais de tecnologias da Embrapa Pecuária Sudeste: Casinha tropical: abrigo móvel individual para bezerras**. Disponível em: <<http://www.cppse.embrapa.br/080servicos>> Acesso em: 15/02/2008.
- WALDNER, D. N., LOOPER, M. L. **Water for dairy cattle**. Disponível em: <<http://osueextra.com/pdfs/F-4275web.pdf>>. Acesso em: 15/06/2007.
- ZHAO, T., ZHAO, P., WEST, J. W., BERNARD, J. K., CROSS, H. G., DOYLE, M. P. Inactivation of Enterohemorrhagic *Escherichia coli* in Rumen Content or Feces - Contaminated Drinking Water for Cattle, **Applied and Environmental Microbiology**, v. 72, n. 5, p. 3268-3273, 2006.