

UNIVERSIDADE DE TRÁS-OS-MONTES E ALTO DOURO

**AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DA ÁGUA DAS
CUNICULTURAS DA REGIÃO DE TRÁS OS MONTES
E ALTO DOURO**

Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

Milene Sofia Lopes Quinteiro



Vila Real, 2015

UNIVERSIDADE DE TRÁS-OS-MONTES E ALTO DOURO

**AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DA ÁGUA DAS
CUNICULTURAS DA REGIÃO DE TRÁS OS MONTES
E ALTO DOURO**

Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

Milene Sofia Lopes Quinteiro

Orientador

Prof. Dr. Vitor Pinheiro

Co- orientador

Prof. Dra Ana Cláudia Coelho



Vila Real, 2015

Às minhas filhas Cristiana e Beatriz.

Aos meus pais

“As doutrinas apresentadas no presente trabalho são da exclusiva responsabilidade do autor”

AGRADECIMENTOS

Ao PROFESSOR VICTOR PINHEIRO, orientador, pela leitura e correção desta tese, por todo o apoio, orientação e amizade.

À Professora ANA CLÁUDIA COELHO, co-orientadora, pela leitura e correção desta tese, por todo apoio, orientação e suas palavras amigas.

A todos os CUNICULTORES contactados, pela sua disponibilidade e pelos dados fornecidos sem os quais não seria possível realizar esta tese.

A todos os funcionários do laboratório de microbiologia: D. Fátima Fraga, D. Fátima Ôlo, D. Sónia e D. Lurdes. Todo o meu agradecimento pela atenção e apoio dados, pela amizade, disponibilidade e todos os ensinamentos preciosos que me foram dados.

A minha FAMÍLIA, por tudo, principalmente pelo incentivo constante de conseguir chegar cada vez mais longe.

O meu agradecimento especial às minhas FILHAS, CRISTIANA E BEATRIZ. Por todo o apoio que sempre me deram, pelo tempo que lhe foi retirado para a realização desta dissertação, pela sua compreensão, amor e carinho.

Aos meus PAIS, por todo o apoio que sempre me deram. Pela paciência que tiveram comigo e que sempre me incentivaram na concretização deste sonho e realização pessoal.

A todos os professores do Mestrado de Medicina Veterinária, pelos ensinamentos transmitidos.

Aos meus amigos ALEXANDRA, SÉRGIO, MAGDA, EUGÉNIA, PAOLA, SÓNIA, DIOGO, MÓNICA e a todos os outros. Muito obrigada pelo apoio, incentivo, carinho e amizade em todos os momentos, principalmente nos mais difíceis.

O meu agradecimento a todos os que contribuíram para a realização desta dissertação e no percurso de todo o curso.

RESUMO

Este estudo pretende avaliar a qualidade microbiológica da água fornecida aos coelhos das explorações do nordeste de Portugal. As 130 amostras de água foram recolhidas em 15 cuniculturas entre os meses de Outubro de 2014 e Março de 2015. Em cada exploração, a colheita era realizada em diversos lugares, desde a origem até ao final de cada linha do pavilhão (em média 9 amostras por exploração), com a finalidade de avaliar as características da água ao longo do seu percurso e disponibilizada efetivamente aos animais. Foi também realizado um inquérito aos cunicultores com o objetivo de caracterizar a origem da água, assim como os tratamentos e métodos de desinfeção utilizados.

Os resultados das amostras de água das cuniculturas foram negativos para a presença de coliformes totais e coliformes fecais (*E. coli*) em 13 das 15 explorações e enterococos fecais (*Enterococcus*) em 12 de 15 cuniculturas avaliadas. Em relação ao número de microrganismos totais a 22 °C foi inferior a 100 UFC/ ml e a 37°C foi inferior a 10 UFC/ ml em 14 cuniculturas. Os resultados da avaliação do pH encontraram-se dentro dos valores considerados normais.

A maioria da água das explorações provém de redes de abastecimento privadas, poços ou furos, e os tratamentos mais utilizados para o controlo e manutenção da qualidade da água são o cloro, maioritariamente, mas também o peróxido de hidrogénio.

Com base nos resultados deste estudo pode observar-se que a qualidade microbiológica da água consumida pelos coelhos das cuniculturas da região de Trás os Montes é bastante satisfatória.

Palavras-chave: coelhos, cunicultura, água, Portugal, Trás-os-Montes.

ABSTRACT

This study aims to evaluate the microbiological quality of water supplied to rabbit farms situated in the northeastern of Portugal. One hundred and thirty water samples were collected in 15 farms between the months of October 2014 and March 2015. On each farm, the harvest was carried out in different places, from the beginning to the end of each line in the pavilion (an average of 9 samples per holding), in order to evaluate the characteristics of the water along its path and effectively available to the animals. An inquiry was also carried focusing Rabbit Breeders with the objective of characterizing the source of water as well as disinfection treatments and methods. The results of the farm's water samples were negative for the presence of total coliforms and fecal coliforms (*Escherichia coli*) in 13 of 15 farms and fecal streptococci (*Enterococcus*) in 12 of the 15 farms evaluated. Relating to the total number of microorganisms at 22°C it was less than 100 CFU / ml and at 37 °C it was less than 10 CFU / ml in 14 farms. PH results of the evaluation were within normal values. Most of farm's water originates from private networks, pits or holes and the used treatments for control and maintenance of water quality were mostly chlorine, but also hydrogen peroxide. Based on the results of this study it can be seen that the microbiological quality of water consumed by rabbits in the Trás os Montes region farms is quite satisfactory.

Keywords: rabbits, farms, water, Portugal, Trás-os-Montes.

Publicações resultantes do trabalho experimental

QUINTEIRO, M.; COELHO, A.C.; PINHEIRO, V. 2015. Calidad del agua de bebida en granjas cunículas del nordeste de Portugal. Livro de actas del *XL Simpósio de Cunicultura da ADESCU*, 82-87. (póster).

ÍNDICE

ÍNDICE DE TABELAS.....	xi
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xii
LISTA DE ABREVIATURAS.....	xiv
1 – INTRODUÇÃO.....	1
2 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	3
2.1 – CARACTERIZAÇÃO DO COELHO.....	3
2.1.1 – TAXONOMIA.....	3
2.1.2 – CARACTERÍSTICAS DO COELHO.....	4
2.1.3 – PRINCIPAIS PATOLOGIAS DO COELHO.....	5
3 – CARACTERIZAÇÃO DAS EXPLORAÇÕES CUNÍCULAS DA REGIÃO DE TRÁS-OS-MONTES.....	9
3.1 – IMPORTÂNCIA DA ÁGUA.....	11
3.1.1 – ELEMENTO ESSENCIAL DA VIDA.....	11
3.1.2 – A IMPORTÂNCIA DA ÁGUA NA EXPLORAÇÃO CUNÍCULA.....	13
3.1.3 – NORMAS DE QUALIDADE.....	14
3.1.4 – CONTAMINANTES DA ÁGUA.....	16
3.1.4.1 – CONTAMINANTES FÍSICOS.....	17
3.1.4.2 – CONTAMINANTES QUÍMICOS.....	17
3.1.4.3 – CONTAMINANTES MICROBIOLÓGICOS.....	18
3.1.5 – A INFLUÊNCIA DO Ph NA QUALIDADE DA ÁGUA.....	21
3.1.6 – CONTROLO MICROBIOLÓGICO DA ÁGUA.....	22
4 – TÉCNICAS MICROBIOLÓGICAS PARA DETECÇÃO DE MICRORGANISMOS.....	23
4.1 – MÉTODOS CONVENCIONAIS.....	23
4.2 – MÉTODOS RÁPIDOS.....	24
4.3 – TÉCNICA DA MEMBRANA FILTRANTE.....	25
5 – TRATAMENTOS REALIZADOS À ÁGUA.....	27
5.1 – CLORO.....	29
5.2 – DIÓXIDO DE CLORO.....	30
5.3 – PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO.....	30

6 – PARTE EXPERIMENTAL.....	33
6.1 – OBJETIVOS.....	33
6.2 – MATERIAL E MÉTODOS.....	33
6.2.1 – RECOLHA DE AMOSTRAS.....	33
6.2.2 – ANÁLISES LABORATORIAIS.....	34
6.2.2.1 – PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS PARA ANÁLISE.....	34
6.2.2.2 – PESQUISA E QUANTIFICAÇÃO DE ESCHERICHIA COLI E DE OUTRAS BACTÉRIAS COLIFORMES E DE ENTEROCOCCUS FECAIS.....	36
6.2.2.3 – CONTAGEM TOTAL DE MICRORGANISMOS A 22 E 37°C.....	37
6.2.2.4 – MEDIÇÃO DE pH.....	37
6.2.3 – ANÁLISE E TRATAMENTO DOS DADOS.....	38
7 – RESULTADOS.....	39
7.1 – CARACTERIZAÇÃO DAS EXPLORAÇÕES VISITADAS E DAS AMOSTRAS.....	39
7.2 – QUALIDADE DA ÁGUA DAS EXPLORAÇÕES.....	44
7.2.1 – RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS GERAIS.....	44
7.2.2 – RELAÇÃO ENTRE A QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DA ÁGUA E AS CARACTERÍSTICAS DA EXPLORAÇÃO.....	45
8 – DISCUSSÃO.....	51
8.1 – CARACTERÍSTICAS DO ABASTECIMENTO DA ÁGUA ÀS EXPLORAÇÕES.....	51
8.2 – QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DA ÁGUA.....	51
9 – CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	56
10 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	57
ANEXOS.....	64
ANEXO 1 – INQUÉRITO REALIZADO AOS CUNICULTORES.....	64
ANEXO 2 – ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DA ÁGUA PARA CONSUMO.....	65
ANEXO 3 – MEIOS UTILIZADOS.....	69

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1- Ingestão de água em coelhos.....	5
Tabela 2- Principais doenças veiculadas pela água.....	13
Tabela 3- Parâmetros microbiológicos da água potável.....	15
Tabela 4- Principais características dos microrganismos que podemos encontrar na água.....	21
Tabela 5- Vantagens e desvantagens dos diferentes tratamentos a aplicar na água de abeberamento.....	32
Tabela 6- Local e número de colheitas efetuadas em cada exploração.....	39
Tabela 7- Distribuição do número de análises pelo ponto de colheita.....	40
Tabela 8- Resultados da qualidade microbiológica da água (fornecimento) em 130 amostras de água de explorações cunículas transmontanas.....	44
Tabela 9- Resultados da qualidade microbiológica da água (fornecimento) em explorações cunículas transmontanas (n= 15 explorações)	44

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1- Esquema representativo da origem do coelho.....	3
Figura 2- Exploração com pavilhões fechados.....	10
Figura 3- Distribuição da água no planeta terra.....	11
Figura 4- Membrana de acetato de celulose usada na Técnica Membrana Filtrante.....	26
Figura 5- Contagem manual de colónias de bactérias.....	26
Figura 6- Região de Portugal onde se realizaram as colheitas de água.....	33
Figura 7- Esquema representativo dos pontos de colheita das amostras nas cuniculturas.....	34
Figura 8- Câmara de fluxo laminar utilizada na Técnica Membrana Filtrante.....	35
Figura 9- Kitasato e bomba de vácuo utilizados na filtração.....	36
Figura 10- Localização das cuniculturas.....	39
Figura 11- Origem da água nas cuniculturas.....	41
Figura 12- Tratamento da água consumida pelos coelhos.....	42
Figura 13- Periodicidade da limpeza dos depósitos e tubagens realizada pelos cunicultores...	43
Figura 14- Colónias de <i>Escherichia coli</i> em meio Endo.....	44
Figura 15- Relação entre a presença de <i>E. coli</i> e a origem da água.....	46
Figura 16- Colónias de Coliformes Totais em meio Endo.....	47
Figura 17- Relação entre a presença de Coliformes Totais e a origem da água.....	47
Figura 18- Colónias de <i>Enterococcus</i> em meio Slanetz.....	48
Figura 19- Relação entre a presença de <i>Enterococcus</i> e a origem da água.....	49

LISTA DE ABREVIATURAS

ETAR- Estação de Tratamentos de Águas e Resíduos

FNS- Fundação Nacional Saúde

HC- Hidratos Carbono

IC- Intervalo Confiança

INE- Instituto Nacional Estatística

IRAR- Instituto Regulador de Águas e Resíduos

KAA- Kanamycin Aesculin Azide

Kg- quilograma

ml- mililitro

OMS- Organização Mundial Saúde

OPAS- Organização Pan-Americana da Saúde

PAC- Política Agrícola Comum

PCA- Plate Count Agar

ppm- partes por milhão

S- B- Slanetz-Bartley

TMF- Técnica Membrana Filtrante

TSA- Tryphone Soy Agar

TSD- Técnica Substratos Definidos

UE- União Europeia

UFC- Unidades Formadoras Colónias

UTAD- Universidade Trás-os-Montes e Alto Douro

VMA- Valor Máximo Admissível

VMR- Valor Máximo Recomendado

WHO- World Health Organization

µm- micrometro

1 – INTRODUÇÃO

Nos últimos anos tem-se assistido a um aumento da produtividade com o objetivo de manter ou melhorar a rentabilidade das explorações cunícolas, para o que em muito contribuiu a melhoria das condições ambientais, genéticas, alimentares e de manejo.

Desde a última década do século XX, questões ambientais têm tido um grande relevo em todo o mundo, envolvendo instituições públicas e privadas e a sociedade de um modo geral.

O homem pode empregar a água em diversas situações para se beneficiar, tais como atividades diárias domésticas, agrícolas, industriais, depósito de resíduos, além do consumo direto para sobrevivência de todo ser vivo. O sector agrícola e pecuário é o principal consumidor de água.

Os dados obtidos através de pesquisas da Organização Mundial da Saúde (OMS) revelam que 80% das doenças que ocorrem nos países subdesenvolvidos são ocasionados pela contaminação das águas destinadas ao consumo humano.

A má qualidade da água afeta a saúde do homem e dos animais. Aos animais pode causar redução dos ganhos médios diários e levar mesmo à morte destes, acarretando elevados prejuízos económicos.

Praticamente todas as águas naturais contêm bactérias devido à sua exposição ao ar e ao solo ou a outros elementos, sofrendo assim algumas contaminações. Na sua maioria, tratam-se de microrganismos que não são prejudiciais à saúde pública, cujo número e natureza variam consideravelmente de acordo com o lugar e as condições ambientais. No entanto, ao longo do seu percurso, as águas naturais, superficiais ou subterrâneas, podem ser contaminadas com microrganismos patogénicos como, por exemplo, os protozoários *Giardia* e *Cryptosporidium*, as bactérias *Salmonella*, *Shigella*, *Vibrio* e *Mycobacterium*, ou vírus (hepatite A ou polio), o que vai piorar a sua qualidade (Efstratiou, 2001).

Quando contaminada, pode conter microrganismos capazes de causar doenças, debilitando os animais, resultando numa queda da produção ou mesmo na sua morte, levando a prejuízos avultados. Sendo um elemento essencial, a água pode trazer riscos à saúde, se for de má qualidade, servindo de veículo para vários agentes biológicos e químicos (Carvalho e Recco Pimentel, 2007).

A qualidade microbiológica da água deve ser monitorizada, pois, se contaminada, é um importante veículo para a introdução de agentes patogénicos numa exploração pecuária (Coimbra, 2007) incluindo a cunícula.

Existem parâmetros físicos, químicos e microbiológicos que permitem determinar a qualidade da água. De entre os parâmetros microbiológicos, para avaliar a água, destacam-se a identificação e isolamento de bactérias coliformes totais e fecais, enterococos fecais, *Clostridium perfringens*, assim como, pela presença de microrganismos viáveis a 37°C e a 22°C (Amaral *et al.*, 2003).

A água da exploração deve ser abundante, limpa, fresca e com uma carga microrganismos reduzida. Deve ser avaliada periodicamente e com rigor de modo a minimizar os diversos problemas que daí resultam para os animais.

A pluviosidade e a estação do ano podem afetar a qualidade da água de consumo dos coelhos: nos meses mais chuvosos há maior contaminação das águas no ponto de captação, devido ao arrastamento de bactérias presentes no solo provocado pela lixiviação, que contaminam os poços e conseqüentemente, a água de consumo dos coelhos (Rosell-Pujol, 2000) e nestas ocasiões terá de haver atenção redobrada.

2 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 - CARACTERIZAÇÃO DO COELHO

2.1.1 - TAXONOMIA

As origens do coelho selvagem, das quais deriva o coelho doméstico, são ainda hoje objeto de especulação (Sandford, 1987). As primeiras referências históricas, relativas ao coelho datam de 1000 a.C. e são mencionadas pelos Fenícios (Mourão, 2003). Mas o coelho só foi domesticado muito mais tarde, no século V ou VI. Desde essa data, o homem foi o responsável pela difusão do coelho doméstico por toda a Europa (Mourão, 2003).

Os coelhos são mamíferos que pertencem à ordem *Lagomorfos* e família *Leporidae* (Figura 1). Na família *Leporidae* enquadram-se os seguintes gêneros: *Lepus* (lebres que se encontram em várias partes do planeta), *Caprolagus* (coelho asiático), *Sylvilagus* (coelho americano), *Poelagus* (coelho africano) e o *Oryctolagus* (coelho europeu) (Mourão, 2003). Pelas suas características e semelhanças, no entanto os coelhos, são incluídos erradamente muitas vezes na ordem dos roedores.

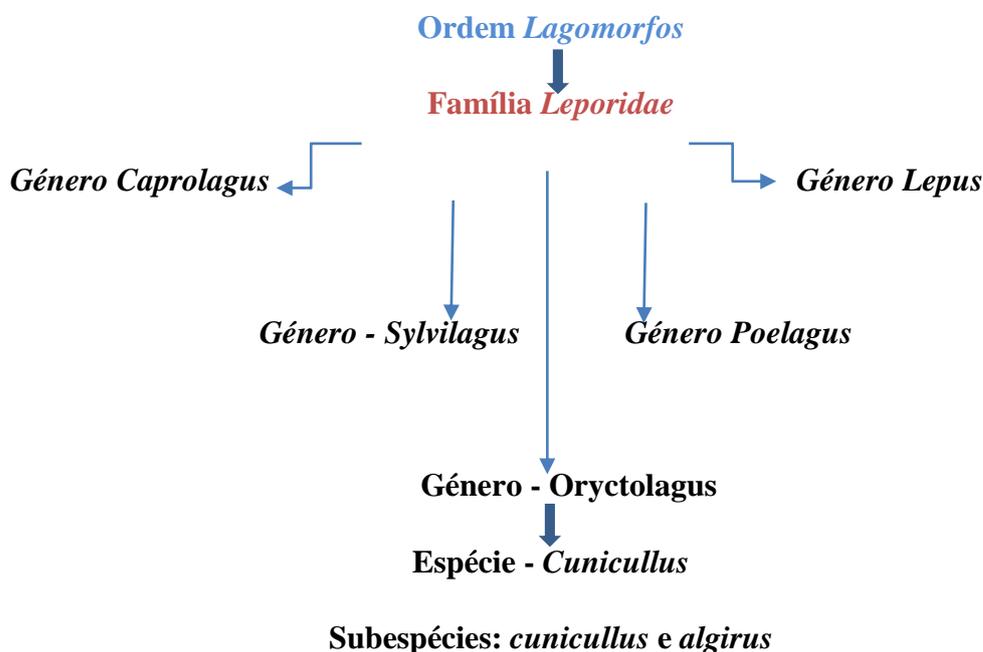


Figura 1 - Esquema representativo da filogenia do coelho (adaptado de Mourão, 2003)

Dentro da espécie *cunicullus* temos as subespécies *cunicullus* e *algiurus*, tendo a primeira uma distribuição mundial e a última uma distribuição restritiva à parte ocidental da península ibérica

e ilhas baleares. As várias raças do coelho que são utilizadas na cunicultura derivam da sub espécie *Cunicullus cunicullus*. (Mourão e Pinheiro, 2004).

2.1.2 - CARACTERÍSTICAS DO COELHO

São animais com uma fisiologia digestiva bastante peculiar, caracterizada por uma dupla excreção fecal, o que permite um melhor aproveitamento de vários nutrientes, nomeadamente a energia, proteínas e vitaminas do complexo B dos alimentos que são ingeridos (Oliveira, 2009)

Como animais sensíveis que são, as condicionantes ambientais que os rodeiam desde ruídos, cheiros, temperatura, humidade, manejo, condições de higiene, podem ter um impacto negativo na sua produtividade, necessitando de algum tempo para se habituarem a novas condicionantes ambientais (Rego, 2012).

As coelhas são fêmeas poliéstricas, com ovulação induzida pela cópula. Os coelhos são animais sazonais, variando a sua atividade reprodutiva com o fotoperíodo e época do ano (Mourão e Pinheiro, 2004).

Alguns fatores influenciam diretamente a prolificidade: o número de partos, a intensidade reprodutiva, a exposição a temperaturas elevadas (Mourão e Pinheiro, 2004). O número de lárparos na produção intensiva oscila num intervalo de 7,8 a 10,5. Segundo os autores referidos anteriormente, a prolificidade diminui com a intensidade reprodutiva e com temperaturas elevadas.

A temperatura de conforto térmico dos coelhos encontra-se no intervalo de 15 a 21 °C (Mourão e Pinheiro, 2004).

Quando existem amplas variações de temperatura nas explorações, o coelho para manter uma temperatura corporal estável realiza um esforço extra, o que implica um acréscimo energético (Finzi *et al.*, 1992) e também um impacto elevado na sua fertilidade, taxa de crescimento e produtividade da exploração (Eschborn, 1985). As flutuações de temperatura também podem originar vários tipos de patologias, entre as quais se destacam as enterites. No entanto, os coelhos toleram melhor as temperaturas baixas do que as elevadas (Lebas e Matheron, 1982). A partir dos 40 °C surgem desmaios, salivacão e um grau de exaustão conduzindo à morte (Lebas *et al.*, 1986).

A qualidade do ar é também muito importante numa exploração cunícola. Humidades relativas elevadas ($\geq 80\%$), com uma elevada concentração de amoníaco e elevada circulação de ar levam ao aparecimento de patologias respiratórias. Mas tem de haver sempre uma ventilação mínima de modo a eliminar os gases tóxicos, excesso de humidade e dissipar o calor no Verão (Silva, 2002).

A água é de extrema importância para os coelhos e varia de acordo com o seu estado fisiológico como podemos observar na tabela 1.

Tabela 1 - - Ingestão de água em coelhos (Adaptado de Manzano e Torres, 2005).

Idade animal	Quantidade de água ingerida
Animais jovens	120- 200 ml/dia
Coelhas em lactação	1000 ml/ dia
Coelhas secas	400 ml/ dia

A necessidade diária de água para um coelho é de 125 ml/kg de peso corporal. Quando ele está doente, tende a consumir maior quantidade. Fêmeas em lactação consomem mais água do que as fêmeas não lactantes, pois este líquido constitui o principal componente do leite. Se houver restrição da quantidade, a produção de leite pode diminuir ou até mesmo parar. Além disso, as matrizes, após o parto, podem praticar o canibalismo, ingerindo as suas crias para suprir a falta de água. Em gestantes, a falta de água pode ocasionar aborto (Rios, 2011)

Outros fatores influenciam também a ingestão de água, nomeadamente, o teor de matéria seca dos alimentos compostos, a temperatura ambiental, a humidade relativa. Segundo Manzano e Torres (2005) quando se utilizam alimentos compostos que tenham um elevado teor de matéria seca (85%), o consumo de água pode ser muito elevado. Temperaturas elevadas associadas a teores de humidade relativa baixas (60%) levam a um aumento brusco no consumo de água (Lebas *et al.*, 1997). Por estas razões os coelhos têm geralmente água *ad libitum* e esta deve reunir uma série de requisitos qualitativos de modo a não afetar a saúde e não causar problemas sanitários.

2.1.3 - PRINCIPAIS PATOLOGIAS DO COELHO

Nos últimos anos observaram-se grandes progressos no sector da produção cunícola, que conduziram a mudanças de manejo, instalações e técnicas de reprodução. Esta evolução

conduziu também ao aparecimento de novas patologias com carácter multifatorial (Van Rooij *et al.*, 2006). Em seguida serão abordadas algumas das patologias mais frequentes nas cuniculturas e que podem acarretar graves prejuízos económicos.

Pasteurolose

A Pasteurelose, cujo agente etiológico é *Pasteurella multocida* que se encontra no trato respiratório dos coelhos de forma comensal, é uma patologia muito frequente na cunicultura e contribui bastante para a mortalidade dos coelhos (Rosell *et al.*, 1992). A elevada densidade populacional associada a más condições de ventilação levam ao aparecimento desta patologia (Camps, 1995). Também as variações bruscas de temperatura, alimento poeirento e doenças concomitantes contribuem para o seu aparecimento. Os sinais clínicos que se observam mais frequentemente são espirros e descargas nasais e ocular. Os animais que sobrevivem tornam-se portadores assintomáticos (Frymus *et al.*, 1991). O seu tratamento passa por administração de antibacterianos na ração, água de bebida ou mesmo injetável: tetraciclina, sulfamidas potenciadas, penicilina e estreptomicina, macrólidos, florfenicol, tiamulina, amoxicilina com ácido clavulâmico e cefalosporinas (Simões, 2008).

Síndrome Digestivo

O Síndrome Digestivo dos coelhos provoca perdas económicas importantes na produção intensiva, com elevada mortalidade e morbilidade. Más condições de higiene, desvios de manejo e alimentação, alterações químicas e microbiológicas da água são os principais fatores para o seu aparecimento (Rego, 2012). Os agentes etiológicos associados a esta síndrome são serotipos de *E. coli* e protozoários de *Eimeria* spp.

Coccidiose

Esta patologia é causada por protozoários, cujas várias espécies pertencem ao género *Eimeria*, tais como *Eimeria perforans*, *Eimeria media*, *Eimeria magna* e *Eimeria stiedai*. Todas estas espécies, exceto a última, reproduzem-se no epitélio intestinal e causam enterites, má nutrição e diarreia, cuja gravidade depende da intensidade da parasitação e das espécies implicadas. As lesões intestinais consistem em manchas brancas, semelhantes a grãos de arroz. *Eimeria stiedai*

aloja-se nas células epiteliais dos canalículos biliares, onde completa o seu ciclo de vida, causando grandes danos nas vias biliares e conseqüentemente grandes danos hepáticos ao hospedeiro (Poeta, 2010). A contaminação ocorre por ingestão de alimentos ou água contaminada. Afeta preferencialmente os coelhos de 2 a 4 meses. Os coelhos adultos são mais resistentes, tornando-se muitas vezes portadores desta patologia (Azevedo, 2008) Os sintomas associados à coccidiose são transtornos digestivos, gases e diarreia (Gama, 2010), os animais deixam de comer e beber, acabando por morrer por desidratação. O tratamento exige uma correta higiene das instalações e a prevenção desta doença deve ser feita mediante a administração de coccidiostáticos na alimentação (Borges, 2007).

Necrobacilose

A Necrobacilose plantar provocada por *Fusobacterium necrophorum* e *S. aureus*, *Corynebacterium* conduz a um desconforto geral do animal e conseqüentemente a uma baixa taxa produtiva. Leva a uma dificuldade de apoio dos membros na jaula, à rejeição dos láparos por parte das mães e conseqüente emagrecimento e diminuição da taxa de crescimento. As jaulas de malha inadequada, um elevado peso dos animais e ambientes húmidos com excesso de amoníaco predispoem os animais na exploração a um desconforto geral e conseqüentemente a uma baixa taxa produtiva. Os coelhos apresentam zonas ulceradas, hemorrágicas e crostas na zona plantar e palmar do pé. Devem-se eliminar os animais muito afetados A prevenção desta patologia é muito simples, passando unicamente pela colocação de um tapete de plástico no fundo da jaula e evitar os fatores predisponentes (Ruiz *et al.*, 2001). Como tratamento podem ser aplicados sprays de oxitetraciclina e violeta de genciana (Simões, 2008).

Estafilocócia

A Estafilocócia é provocada pelo *Staphylococcus aureus*. Existem vários fatores predisponentes: ventilação insuficiente associada a humidade do ar elevada, levam a um excesso de amoníaco; utilização de desinfetantes irritantes; deficiências vitamínicas e em alguns oligoelementos; introdução de animais infetados.

A patologia manifesta-se de 2 formas diferentes: uma cutânea com a presença de furúnculos no abdómen, membros, pescoço e dorso de láparos lactantes, com elevada mortalidade e uma forma sistémica com mamites purulentas, otites médias e internas e infecções da conjuntiva ocular e pálpebras (Rossi *et al.*, 1995).

Como tratamento deve ser feita uma rigorosa eliminação das reprodutoras afetadas com abscessos, metrite, mamite, mal de patas e sintomatologia respiratória, assim como dos seus láparos. Devem ser aplicados antibióticos na ração ou por via injetável (Simões, 2008).

Mixomatose

A Mixomatose (causada pelo vírus *Leporipoxvirus*) e a Doença Vírica Hemorrágica (causada por um *calicivirus*) são as patologias víricas mais conhecidas. Estas duas patologias causam elevadas taxas de mortalidade e, conseqüentemente, elevadas perdas económicas (Simões, 2008).

A Mixomatose transmite-se por picadas de mosquitos e tábanos, contato direto, alimentos contaminados, iatrogénica e manuseamento incorreto dos animais. Como sinais clínicos temos na forma nodular cutânea: edema, blefaroconjuntivite bilateral serosa a mucopurulenta. O animal deixa de ver e comer. As lesões estendem-se posteriormente ao ânus e órgãos genitais. Passados 5 a 7 dias o animal morre por asfixia ou inanição. A forma respiratória, que tem como sinal clínico mais característico a epífora tem um período de incubação de 7 a 21 dias. Evolui de forma subaguda ou crónica em explorações de elevada densidade animal (Simões, 2008).

Doença vírica hemorrágica

A doença Vírica Hemorrágica transmite-se por via respiratória, digestiva e por feridas. Tem um período de incubação de 2 a 3 dias, afeta os láparos a partir dos 45 dias de idade com uma mortalidade de 80 a 100 %. Podem ser observados em alguns animais abatimento, dispneia intensa, incoordenação motora, convulsões. Todos os animais morrem em poucas horas (Pinheiro e Mourão, 2004).

Existem no mercado várias vacinas que permitem efetuar um bom plano vacinal, o qual contribui para manter a saúde dos animais e evitar assim os elevados prejuízos a que estas doenças conduzem (Simões, 2008).

Existem ainda outras patologias que se podem encontrar nas explorações cunícolas intensivas nomeadamente: a Dermatofitose que é provocada por fungos do género *Tricophyton* e *Microsporum* e a Enteropatia Epizzótica, que poderão também causar elevados prejuízos.

3 - CARACTERIZAÇÃO DAS EXPLORAÇÕES CUNÍCULAS DA REGIÃO DE TRÁS OS MONTES

A nível mundial, a Europa é o principal produtor de coelho. A nível europeu os maiores produtores são a Itália, França e Espanha. Portugal é responsável por cerca de 3,5% da produção europeia e 1,8% da produção mundial (Colin e Lebas, 2000).

A cunicultura como ramo da pecuária, é um setor importante em Portugal. O coelho é um animal do qual se podem obter vários produtos. O produto principal é a carne mas também se podem produzir coelhos para a produção pele e pêlo, dependendo da espécie e também para fins científicos e experimentais.

Em 2007, Xiccato e Trocino referem que a produção anual média de carne de coelho em Portugal era de 20 mil toneladas. No entanto, segundo o Instituto Nacional de Estatística, a produção de carne de coelho tem vindo a diminuir ao longo dos últimos anos (INE, 2008).

Segundo a Política Agrícola Comum PAC (2013), o coelho é a segunda espécie em número de cabeças abatidas e a quinta em peso de carne na produção animal nacional. É um setor bem estruturado, em constante evolução e modernização das estruturas produtivas. Tem a preocupação da constante melhoria nos fatores produtivos, diminuição dos custos, melhorar/respeitar o meio ambiente e reduzir a produção de gases com efeito estufa.

Em Portugal, a produção intensiva de coelhos concentra-se principalmente no Norte e Centro do país. De acordo com estudos feitos por Pereira (2000) e Pinho (2001), o maior número de coelhas localizava-se na região Oeste (30%). Atualmente, a maioria das explorações cunícolas encontra-se na região da Beira Litoral e Entre Douro e Minho. Na região de Trás-os-Montes assume uma elevada importância a nível económico pois tem um efetivo significativo de fêmeas reprodutoras.

Na década de 90 assistiu-se, na Região de Trás os Montes, a um desenvolvimento mais acentuado da cunicultura intensiva. Existiam explorações do tipo semi ar livre e também do tipo fechados (Mourão e Pinheiro, 2004).

Segundo um estudo realizado por Carvalho em 2008, existiam em funcionamento 44 explorações e cerca de 27420 fêmeas. A maioria das explorações encontram-se no distrito de Vila Real. Mais de metade dos proprietários dedicava-se exclusivamente a esta atividade. Neste estudo foi observado que a média de coelhas reprodutoras nas explorações da região

transmontana ronda as 625, com 520 ninhos. As explorações tinham geralmente um pavilhão para a engorda e outro para a maternidade.

Na maioria das explorações, os pavilhões cunículas são fechados, permitindo assim controlar melhor as condições ambientais (Figura 2). Têm sistemas de renovação de ar, de iluminação artificial e remoção automática de dejetos, assim como sistemas de alimentação e abeberamento automático. Estes equipamentos automáticos permitem reduzir o consumo de alimento, controlar os fatores ambientais e conseqüentemente reduzir os gastos económicos (Mateo, 2004).



Figura 2 - Exploração com pavilhões fechados (fonte; Autor).

Relativamente ao tipo de jaulas encontradas nas explorações predomina o modelo “Flat- deck” ou plano único. A água é fornecida através de bebedouros de taça ou chupeta. Todo o equipamento deve ser de fácil limpeza, de modo a minimizar riscos de contaminação (Mourão, 2003).

No maneiio tecnológico, podemos dizer que Portugal está na vanguarda, mais de 85% das explorações fazem inseminação artificial (dados fornecidos pelos centros de Inseminação a laborar em Portugal). Associado à inseminação artificial estão outras práticas de maneiio reprodutivo, nomeadamente a estimulação da foliculogênese, mediante a prévia administração de uma gonadotrofina e a indução da ovulação no momento da inseminação mediante o uso de hormonas hipotalâmicas ou análogos sintéticos.

Na parte da produção, as cuniculturas sofreram alterações no maneiio. Passaram de um sistema de trabalho com vários grupos de animais em contínuo (trabalho de ciclo), para a aplicação da banda única, contribuindo para a prática da inseminação artificial com animais agrupados. Inicia-se assim uma nova era na área na cunicultura, com explorações que embora mais

pequenas têm ritmos produtivos intensificados, reduzindo o intervalo entre o parto e a cobertura (Carvalho, 2008).

3.1 - IMPORTÂNCIA DA ÁGUA:

3.1.1 - ELEMENTO ESSENCIAL DA VIDA

A água pura é formada por dois átomos de hidrogénio e um de oxigénio. Acredita-se que apareceu no planeta Terra há cerca de 4,5 biliões de anos. É devido ao ciclo hidrológico que existe renovação da água em todo o planeta (Cetesb, 2010). No entanto, na natureza não existe água pura, devido à sua capacidade de dissolver quase todos os elementos e compostos químicos. Segundo o referido anteriormente, o volume total da água permanece constante na Terra. Cerca de 97,4% da água está nos oceanos (Figura 3), mas apenas uma pequena percentagem da restante água encontra-se na forma de água subterrânea, em lagos, rios e na atmosfera (na forma de vapor).

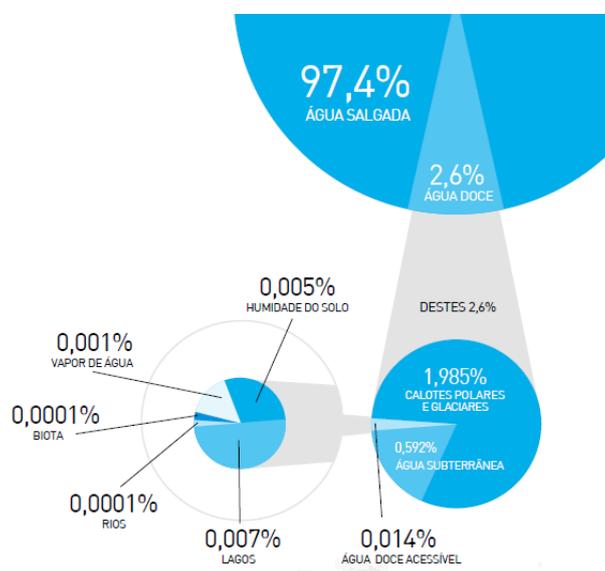


Figura 3 - Distribuição da água no planeta Terra (Adaptado de Póvoas, 2012).

A água é um recurso essencial à vida, um nutriente essencial e indispensável para a humanidade mas também para todos os outros seres vivos (Ferreira, 2010).

Segundo Melo (2006), a água apresenta as seguintes propriedades e funções:

- É o componente corporal com maior taxa de reciclagem;
- Representa cerca de 70% da carcaça dos animais adultos;
- É veículo dos nutrientes na digestão, absorção e transporte para as células e excreção;
- Manutenção da pressão osmótica intracelular;
- Participa ativamente no equilíbrio ácido- base;
- Faz parte das reações enzimáticas;
- É o constituinte principal de líquidos orgânicos.

Devido à atividade do Homem, esta torna-se imprópria para determinados fins devido à perda de qualidade. Este fato observa-se quando existe poluição por falta de proteção das nascentes, uso inadequado do solo, recurso excessivo a pesticidas e fertilizantes, tratamento impróprio de esgotos e efluentes (Freitas *et al.*, 2001).

Como a água é usada em múltiplas situações, o conceito de qualidade a ela associada é, por vezes, relativo. A qualidade da água é definida, para fins específicos, como o conjunto de características físicas, químicas e biológicas adequadas à sua utilização para determinado uso. Para cada uso da água é necessário estabelecer as exigências relativas à sua qualidade, isto é, definir parâmetros de qualidade e estabelecer valores limite (Ferreira, 2010).

Quando não é tratada, a água é um importante veículo de transmissão de doenças, nomeadamente as que estão relacionadas com aparelho intestinal (cólera, amebiose, desintéria bacilar, febre tifóide, hepatite) (Efstratiou, 2001).

A OMS define como água potável a água límpida e transparente, inodora, sem gosto e livre de qualquer tipo de microrganismo ou substância química em concentrações que possam causar risco à saúde humana.

Ainda segundo OMS, a causa de morte de humanos e animais, devido à água contaminada, tem um impacto elevado. São várias as doenças veiculadas através da água e dos agentes que nela se encontram como se pode observar a seguir na tabela 2:

Tabela 2- Principais doenças veiculadas pela água

Doenças	Agentes patogênicos
Origem bacteriana Febre tifóide e paratifóide Disenteria bacilar Cólera Gastroenterites agudas e Diarréias	<i>Salmonella typhi</i> <i>Salmonella paratyphi A e B</i> <i>Shigella sp</i> <i>Vibrio cholerae</i> <i>Escherichia coli enterotóxica</i> <i>Campylobacter</i> <i>Yersinia enterocolítica</i> <i>Salmonella sp</i> <i>Shigella sp</i>
Origem viral Hepatite A e E Poliomielite Gastroenterites agudas e Crônicas	Vírus da hepatite A e E Vírus da poliomielite Vírus Norwalk Rotavirus Enterovirus Adenovirus
Origem parasitária Disenteria amebiana Gastroenterites	<i>Entamoeba histolytica</i> <i>Giárdia lâmblia</i> <i>Cryptosporidium</i>

Fonte: Opas, 1999

3.1.2 - A IMPORTÂNCIA DA ÁGUA NA EXPLORAÇÃO CUNÍCULA

A quantidade de água ingerida pelos animais, e nomeadamente, pelos coelhos, é influenciada por vários fatores: temperatura ambiente, peso, idade, fase reprodutiva e produtiva. Se o fornecimento da água for inadequado na quantidade e na qualidade irá diminuir o consumo de alimento, prejudicando o desempenho do animal (Marino, 2006). A água representa 70% do peso corporal do coelho, constituindo o principal componente do corpo. É extremamente importante para a sobrevivência de tal modo que, se o animal perder aproximadamente 10% de água, pode morrer. Por esse motivo, a diarreia em coelhos causa elevada taxa de mortalidade, especialmente em animais jovens (Rios, 2011).

A falta de água ou o seu consumo insuficiente conduz a uma diminuição do consumo de alimento seco, o que leva a perdas de ganhos médios diários e no caso das fêmeas lactantes a uma subalimentação dos láparos (Coelho, 2011).

Coimbra (2007) diz que a necessidade de água por parte dos animais depende de vários fatores como o crescimento corporal, fetal e lactação e que a perda de água ocorre através da excreção de urina, fezes, suor e evaporação na respiração e pele.

Dependendo do tipo de exploração agropecuária, a água ingerida pelos animais pode constituir um risco de contaminação por diversos agentes que causam doenças de veiculação hídrica.

O excesso de alguns elementos na água podem causar sintomas diversos: sólidos dissolvidos totais - diarreia; redução do consumo de água e da produtividade - morte; cloro - redução da ingestão de alimento; ferro - altera a palatabilidade da água e conseqüentemente a produtividade animal (Palhares, 2005).

A água é um veículo de transmissão e fonte de contaminação de numerosas doenças, pelo que para além da qualidade inicial da água é necessário ter em atenção a limpeza dos bebedouros e sistemas de distribuição, que deve ser realizada com uma periodicidade que permita a sua permanente potabilidade. Assim sendo, é importante que sejam feitas análises para evitar a presença de agentes contaminantes, quer sejam químicos (amónia, sulfitos, nitritos e nitratos) ou microbiológicos (coliformes totais e fecais, salmonelas) (Alves, 2010). A maioria das cuniculturas localiza-se no meio rural e a água que é utilizada para o abeberamento dos coelhos provém muitas vezes de poços ou furos, que podem estar próximos de fontes de contaminação (fossas, pastagens ocupadas por animais. O fato de nos meios rurais se utilizarem estrumes e chorumes na fertilização das terras, aumenta muito o risco de contaminação das águas subterrâneas (Freitas *et al.*, 2001).

3.1.3 - NORMAS DE QUALIDADE DA ÁGUA

Inicialmente, no início do século XX, a qualidade da água era avaliada qualitativamente: devia estar límpida, sem cheiro e com sabor agradável. Hoje em dia, a qualidade da água é avaliada através da quantificação de algumas propriedades, e depois é comparada com valores de referência. As normas de qualidade são características mínimas que a água deve possuir para ser consumida pelo Homem.

De entre estas características podem-se destacar:

- A água não pode conter microrganismos patogénicos nem substâncias químicas em concentrações tóxicas;
- A água deve apresentar-se límpida, incolor, inodora, fresca de sabor e sem microrganismos.

Na União Europeia (UE) não existe, atualmente, nenhum regulamento específico para o controlo de qualidade microbiológica, física e química das águas administradas aos animais de produção. Isto acontece também no caso das explorações cunícolas, onde na maioria o fornecimento da água provém de poços ou furos. Contudo, vários autores defendem que a água destinada ao consumo animal deve ter as mesmas características da água potável, consumida pelo Homem.

O decreto-lei nº 236 / 1998 de 1 de Agosto estabelece valores mínimos que devem ser tidos como guias. O Valor Máximo Recomendado (VMR) é o valor da norma de qualidade que deve ser respeitado e não excedido de modo a não por em risco a saúde. O Valor Máximo Admissível (VMA) é o valor norma da qualidade que não pode ser nunca ultrapassado pois implica já a existência de contaminação.

Atualmente, em Portugal, o controlo da qualidade da água é efetuado de acordo com o decreto-lei nº 306/ 2007 de 27 de Agosto, o qual veio substituir o decreto-lei nº 243/ 2001 de 5 de Setembro. Este decreto tem como objetivos estabelecer normas, critérios que protejam o meio aquático e melhorar a qualidade da água.

O decreto-lei agora em vigor, em relação ao anterior, modificou a lista dos parâmetros a realizar e alterou alguns valores paramétricos. Mas a alteração mais significativa foi a criação de uma autoridade competente, o Instituto Regulador de Águas e Resíduos (IRAR), responsável pela coordenação e implementação do diploma. A água destinada ao consumo humano deve respeitar os valores paramétricos que constam das partes I, II e III do anexo I do decreto - lei em vigor. Na maioria das explorações cunícolas, a água provém de furos ou poços privados, não havendo legislação aplicável nestes casos. Os parâmetros microbiológicos que devem ser tidos em conta são os mesmos da água destinada para o consumo humano, os quais podem ser visualizados na tabela 3:

Tabela 3 - Parâmetros microbiológicos da água potável (Fonte: adaptado de Decreto-Lei 306/2007).

Microrganismos	Unidade	Concentração máxima admissível
Microrganismos viáveis 37°C	UFC/ml	<20
Microrganismos viáveis 22°C	UFC/ml	<100
Coliformes totais	UFC/100ml	0
<i>Escherichia coli</i>	UFC/100ml	0
Enterococos intestinais	UFC/100ml	0
<i>Clostridium perfringens</i>	UFC/100ml	0

3.1.4 - CONTAMINANTES DA ÁGUA

A poluição na água pode ser pontual ou difusa. A poluição pontual é aquela que está associada a resíduos domésticos ou industriais, geralmente relacionado com o saneamento básico. Pode ser minimizado ou eliminado através de estações de tratamento de águas residuais. A poluição difusa está relacionada com o escoamento de águas provenientes das chuvas, as quais podem conter vários contaminantes: pesticidas, fertilizantes e bactérias (Lima, 2001).

A água pode sofrer contaminação por mau manejo ou por contaminação dos solos. A contaminação pode incluir microrganismos patogénicos ou não, metais pesados, excesso de nutrientes, elementos orgânicos voláteis e não voláteis, explosivos, isótopos radioativos e fibras inaláveis (Moretti, 2008).

O uso de poços pode ser mais problemático que o de furos devido à captação a menor profundidade e ao diâmetro ser superior. A água proveniente de poços ou furos, ocasionalmente é mais rica em sais, podendo causar transtornos intestinais (Coelho, 2011)

Segundo Ayer e Westcot (1994), os principais sintomas descritos são a perda de apetite. No entanto, se existir um elevado nível de magnésio, podem-se observar diarreias nos animais. Segundo os mesmos autores, há uma série de fatores que influenciam a palatibilidade da água:

- Origem da água: poços rasos são mais suscetíveis de serem contaminados ou produzir água de má qualidade; as águas subterrâneas podem ser quimicamente desequilibradas comparadas com as águas de superfície;
- As mudanças sazonais: a qualidade da água pode ser inadequada em períodos quentes e de seca devido ao aumento da salinidade. No entanto, quando há uma elevada pluviosidade também pode haver contaminação microbiológica devido ao arrastamento de microrganismos ao nível do solo para os lençóis de água.

O regime das chuvas também pode influenciar na carga microbiana presente, pois quanto maiores os níveis de precipitação maior será o arrasto. Este fato indica que o ambiente aquático é bastante instável e pode influenciar no metabolismo microbiano, deixando-os mais adaptáveis ao meio (Chaves, 2004).

3.1.4.1 - CONTAMINANTES FÍSICOS

Os contaminantes físicos afetam o aspeto da água e quando se encontram em suspensão ou sob a forma de sedimentos interferem com a flora e a fauna aquáticas. Os contaminantes físicos da água estão geralmente associados a características organolépticas desta (odor, sabor e cor) mas também com a turbidez e sólidos dissolvidos. A temperatura também influencia a qualidade da água, porque temperaturas mais elevadas levam a um maior crescimento bacteriano (Tucci e Cabral, 2003). Geralmente os contaminantes físicos resultam das atividades desenvolvidas pelo Homem.

3.1.4.2 - CONTAMINANTES QUÍMICOS

Os contaminantes químicos distinguem-se daqueles de carácter infeccioso ou parasitário, por serem prejudiciais à saúde do homem por sua exposição prolongada, diferenciando-se como alvo de preocupação aqueles com propriedades tóxicas cumulativas, como os metais pesados e os agentes cancerígenos. De um modo geral, a toxicidade desses elementos está relacionada com a concentração na água, tempo de exposição e suscetibilidade individual. A contaminação química da água para consumo humano também pode ser ocasionada pela utilização das substâncias empregues no seu tratamento resultando na formação de produtos secundários, alguns deles com potencial de risco para a saúde bastante significativo. As substâncias empregues nas práticas de cultivo e controle de pragas da agricultura ou utilizadas no combate aos vetores de certas doenças também contribuem para a poluição das águas subterrâneas ou superficiais e são determinantes de sérios problemas de saúde. Destacam-se ainda como elementos de poluição os despejos das indústrias e os poluentes das chaminés das fábricas quando carregados para os cursos de água (Alves, 2010).

No controlo químico são quantificadas o teor de substâncias inorgânicas, como o cádmio e o arsénio, e substâncias orgânicas, como o benzeno e acrilamina. São também pesquisados agroquímicos e desinfetantes, nomeadamente o cloro (Alves, 2010).

3.1.4.3 - CONTAMINANTES MICROBIOLÓGICOS

São diversos os microrganismos que poderão ser encontrados na água. Em seguida descrevemos as características principais dos que são mais frequentemente encontrados.

COLIFORMES

O grupo dos coliformes é formado por um número de bactérias pertencentes à família *Enterobacteriaceae*, incluindo os géneros *Klebsiella*, *Escherichia*, *Citrobacter*, *Serratia*, *Erwinia* e *Enterobacteria*. Todas estas bactérias coliformes são gram- negativas, de hastes não esporuladas, forma de bacilos e estão associadas com as fezes de vários animais homeotérmicos e com o solo. Este grupo de bactérias coliformes tem a designação de termotolerantes porque se reproduzem ativamente a 44,5° C e conseguem fermentar os Hidratos de Carbono (HC), o que os distingue dos não fecais (Edberg *et al.*, 2000). São oxidase negativa e crescem em condições aeróbias ou anaeróbias facultativas. Conseguem sintetizar a enzima β - galactosidase, fermentar lactose a 35 - 37°C com libertação de gás, ácido e aldeído em 24 a 48 horas. A contagem do seu número constitui um indicador da eventual presença de bactérias patogénicas com origem no trato intestinal.

ESCHERICHIA COLI

A bactéria *E coli* é geralmente a mais utilizada como indicador de contaminação fecal neste grupo, já que está presente frequentemente nas fezes dos mamíferos e aves em grande quantidade. Não se encontra na água ou no solo, exceto se estes forem expostos a alguma contaminação fecal (Fujioka *et al.*, 1999).

Tal como as outras bactérias que pertencem ao grupo dos coliformes, *E. coli* tem a capacidade de fermentar a lactose ou manitol a 44,5°C durante 24 horas devido à presença das enzimas β -galactosidase e β - glucuronidase. É uma bactéria lactase positiva, oxidase negativa, produz indol a partir do triptofano, não usa citrato, não produz H₂S ou lípase e também não hidrolisa a ureia (Edberg *et al.*, 2000).

Segundo Kuhnert *et al.* (2000), existe uma grande diversidade de linhagens de *Escherichia coli* comensal pertencentes a diferentes sorotipos, e que podem ser isoladas das fezes de indivíduos

saudáveis. Estas linhagens são eliminadas maciçamente no ambiente e podem contaminar os alimentos, a superfície da água e os sedimentos, geralmente sem causar nenhum efeito adverso à saúde humana. *E. coli* comensal da microbiota intestinal é considerada inofensiva para o hospedeiro e é um agente patogénico oportunista.

Escherichia coli é exclusivamente de origem fecal (Edberg *et al.*, 2000), sendo o principal coliforme termotolerante que é utilizado como indicador desde 1992 (Evangelista-Barreto *et al.*, 2006) e a sua presença sugere que as condições de higiene são insuficientes. Normalmente é uma bactéria comensal do aparelho digestivo mas existem estirpes que são patogénicas causando intoxicações alimentares e outras patologias fora do intestino, o que implica gastos económicos consideráveis.

Além da sua utilização como indicador de contaminação fecal é utilizada também para avaliar a eficácia dos tratamentos realizados à água, visto que é sensível à desinfecção.

É um parâmetro indicador da possibilidade da existência de microrganismos patogénicos, os quais podem transmitir doenças como a febre tifóide, desintéria bacilar e cólera (Michelina *et al.*, 2006). Pode também estar em outras partes do corpo, como o trato urinário ou meninges (Okura e Siqueira, 2005).

ENTEROCOCCUS

Os enterococos são cocos gram positivos, agrupando-se aos pares ou em cadeias curtas. Os *Enterococcus faecalis* e *Enterococcus faecium* são os que mais se observam. São catalase negativos e oxidase negativos, não esporulam e crescem em condições de aerobiose ou anaerobiose facultativa, tal como o grupo dos coliformes. Crescem em meio de cultura que contém maltose ou lactose, utilizando-os como fonte de carbono e energia. Os meios que mais se utilizam para o seu isolamento são o Slanetz- Bartley (S-B) e o Kanamycin aesculin azide agar (KAA). As características destes meios possibilitam o seu isolamento e identificação eficaz e preciso.

Podem estar presentes muitas vezes nos solos, alimentos, águas e animais e têm elevada resistência aos agentes físicos.

Estes cocos são comensais no trato intestinal e no aparelho urinário dos animais homeotérmicos e por isso são utilizados também como indicadores de contaminação fecal da água.

Apesar de não se multiplicarem na água, são bastante resistentes às condições ambientais, persistindo durante mais tempo no ambiente, nomeadamente nas águas. Estes dados podem ser úteis na indicação de uma contaminação mais antiga na água ou em qualquer recurso hídrico (WHO, 2008).

MICROORGANISMOS TOTAIS A 22°C E A 37°C

O número de Unidades Formadoras de Colónias (UFC) a 37°C e a 22°C permite uma contagem das populações bacterianas heterotróficas na água. O número de colónias a 22°C corresponde, em geral, às bactérias presentes naturalmente na água, tendo pouco significado na saúde pública. As colónias detetadas a 37°C, quando comparadas com as observadas a 22°C, podem constituir um indicador precoce da deterioração da qualidade da água.

Não é um indicador específico de contaminação fecal mas são úteis na avaliação da eficiência do tratamento das águas, processos de filtração, qualidade da desinfecção e coagulação. São usados muitas vezes nas Estações de Tratamento de Águas Residuais (ETAR). No caso das explorações animais, e nomeadamente nas cuniculturas, permitem avaliar o grau de limpeza e integridade dos sistemas de distribuição de águas. Uma elevada contagem de colónias ocorre sobretudo em locais de maior estagnação dos sistemas de distribuição de água. Após desinfecção, a presença destes microrganismos indica que o tratamento foi ineficaz (WHO, 2008). A maioria destes microrganismos não causa doenças em pessoas que estejam saudáveis, mas podem conduzir a alterações organoléticas na água.

PSEUDOMONAS AERUGINOSA

Tem sido utilizada como indicador ultimamente. Apesar de não ser específico do intestino, aparece em 12% da população. É uma bactéria oportunista, gram negativa, patogénica e tem elevada resistência aos antibióticos (Ferreira, 2010).

Pseudomonas aeruginosa é considerado um microrganismo metabolicamente mais versátil que os coliformes, capaz de persistir por mais tempo na água e tende a resistir aos agentes cáusticos do ambiente por mecanismos ainda desconhecidos (Smith e Iglewski, 2003).

As doenças transmissíveis que ocorrem em animais domésticos e de produção podem causar elevados prejuízos econômicos e muitos dos agentes causais podem ser transmitidos ao Homem (Souza, 1983).

As características dos microrganismos que podemos encontrar na água e que podem afetar a saúde dos coelhos estão resumidas na tabela 4.

Tabela 4 – Principais características dos microrganismos que podemos encontrar na água.

Características	
Coliformes	Presentes animais homeotérmicos no trato intestinal. Bactérias gram- negativas, bacilos. Oxidase negativa e fermentam HC. Crescem em aerobiose ou anaerobiose facultativa. Sintetizam enzima β galactosidase. Indicador de contaminação fecal recente.
Enterococcus	Presentes em animais homeotérmicos e comensais no trato intestinal. Bactérias Gram-positivas, cocos. Oxidase negativas e catalase negativas. Indicadores de contaminação fecal mais antiga.
Microrganismos Totais	Bactérias heterotróficas presentes naturalmente água (22°C). Se presentes a 37°C indicam deterioração da qualidade água. Avaliam eficiência tratamentos, grau de limpeza e integridade sistemas distribuição. Não são indicadores específicos.
Pseudomonas aeruginosa	Bactéria oportunista e patogénica. Elevada resistência a antibióticos. Ultimamente utilizada como indicador da qualidade da água.

3.1.5 - A INFLUÊNCIA DO pH NA QUALIDADE DA ÁGUA

O pH pode influenciar em diversos equilíbrios químicos que ocorrem naturalmente, ou em processos de tratamento de água. A sua influência sobre os ecossistemas aquáticos naturais dá-se diretamente devido aos seus efeitos sobre a fisiologia das diversas espécies (Cetesb, 2010).

A variação do pH na água é devido a vários fatores: quantidade e natureza dos gases dissolvidos, formação geológica do solo que a água atravessa e o tipo de poluição que existe. O pH é o principal responsável pelas características agressivas ou incrustantes que a água apresenta e que vão danificar as canalizações.

O pH baixo (acidez) aumenta a dissolução dos metais das tubagens, válvulas e equipamento metálicos, um valor de pH baixo propicia a dissolução de acessórios metálicos, podendo alterar o sabor da água original. Por outro lado, valores de pH acima de 8 tornam a água menos agradável ao paladar e podem propiciar a precipitação de sais ou outros compostos, favorecendo o desenvolvimento de incrustações nas tubagens (Allioux, 2003).

3.1.6 - CONTROLO MICROBIOLÓGICO DA ÁGUA

A avaliação da qualidade microbiológica da água destinada ao consumo humano através da pesquisa de agentes contaminantes, principalmente os de origem entérica, representa a possibilidade de diminuição de inúmeros surtos de doenças (Giombelli *et al.*, 1998)

Ainda não existe um indicador ideal de qualidade sanitária da água, mas os coliformes totais são hoje os mais utilizados por evidenciarem a contaminação com fezes de animais e dos homens (Tortora, 2012).

A qualidade microbiológica da água de consumo é avaliada através de indicadores bacterianos de poluição fecal, as quais provêm do metabolismo dos animais homeotérmicos. A sua concentração é tanto maior quanto maior for o grau de poluição fecal da água.

Na matéria fecal estão presentes muitos microrganismos, muitos dos quais são comensais do aparelho digestivo do hospedeiro. Existem também microrganismos patogénicos na matéria fecal, que irão representar um risco de contaminação da água (Tortora, 2012).

Para o controlo da qualidade da água são muitas vezes utilizados microrganismos denominados de indicadores, os quais obedecem a determinados critérios:

- Estar presente em águas poluídas e ausentes nas não poluídas;
- Estar presente quando estão presentes microrganismos patogénicos;
- Sobreviver melhor e por mais tempo na água do que os patogénicos;
- Deve ser mais resistente aos agentes desinfetantes do que os microrganismos patogénicos;
- Ser apropriado para a análise de todos os tipos de água;
- Ser inofensivo ao Homem;
- Ser facilmente e rapidamente detetado por testes laboratoriais rápidos.

Franco e Landgraf, 2006 acrescentam ainda:

- O seu número deve ter uma correlação com o microrganismo patogénico;
- Apresentar necessidades de crescimento e velocidade semelhantes às do patogénico;
- Ter elevada resistência ao ambiente extra- entérico.

Uma grande preocupação relativamente aos microrganismos indicadores é se estes conseguem abranger populações patogénicas de origem não fecal. Alguns microrganismos como *Legionella pneumophila* e *Mycobacterium* podem não ser detetados nas técnicas baseadas em métodos que utilizam certos meios de cultura, por serem de difícil isolamento e quantificação (Vaehewick *et al.*, 2005).

Os indicadores mais utilizados são o grupo de coliformes fecais e não fecais, os *Streptococcus fecais* e também o grupo dos *Enterococcus spp*, *Clostridium perfringens* e o número total de microrganismos que crescem a 22°C e a 37°C.

4 - TÉCNICAS MICROBIOLÓGICAS PARA DETEÇÃO DE MICRORGANISMOS

4.1 - MÉTODOS CONVENCIONAIS

Os métodos convencionais para caracterização de um determinado microrganismo são baseados na observação da capacidade de realizar algumas reações bioquímicas.

Uma das técnicas tradicionais utilizadas designa-se “Técnica de Fermentação de Múltiplos Tubos” (TFMT). É uma maneira bastante utilizada para estimar alguns tipos de microrganismos, como coliformes totais, coliformes fecais, *Escherichia coli* e até mesmo *S. aureus* (Franco e Landgraf, 2006). No entanto esta técnica era um método trabalhoso, que empregava grande quantidade de meios de cultura e vidrarias, envolvendo repicagens e necessitando de longo tempo de incubação, chegando a 96 horas para enumeração de coliformes totais e fecais (Greggi, 2005).

A outra técnica usada é a “Técnica da Membrana Filtrante” (TMF) que permite a visualização do número de colónias de microrganismos existentes, expressando o resultado em unidades formadoras de colónias (UFC/100ml). É necessário um equipamento para filtração e não é

indicado para águas com turbidez elevada porque dificulta o processo de filtração (Silva *et al.*, 2000).

4.2 - MÉTODOS RÁPIDOS

Surgiram na década de 70, tinham como objetivo reduzir o tempo necessário para a obtenção de resultados, otimizando a produtividade dos laboratórios, reduzindo os custos e simplificando o trabalho. Estes métodos rápidos tinham maior sensibilidade e especificidade do que os métodos convencionais (Franco e Landgraf, 2006).

A Técnica de Substratos Definidos (TSD) foi publicada em 1992 pela American Public Health Association no Standar Methods for the Examination of Water and Wastewater. Esta técnica é usada na determinação da qualidade bacteriológica de águas para consumo humano.

Ao longo dos últimos tempos, têm sido desenvolvidas várias técnicas baseadas em substratos enzimáticos fluorogênicos e/ou cromogênicos. Estas baseiam-se no princípio de detetar a presença de enzimas específicas (produzidas por alguns microrganismos) com o emprego de substratos apropriados (Greghi, 2005).

A deteção e identificação dos coliformes totais e de *Escherichia coli* pela Técnica do Substrato Cromogênico Enzimático Colilert[®] (Idexx) e Coliquick[®] (Hach) é fundamentada no substrato orto-nitrofenil- β -D-galactopiranosídeo (ONPG), que é hidrolizado a orto-nitrofenol através da ação da enzima β -galactosidase produzida pelos coliformes totais. A constatação da presença de *Escherichia coli* é obtida através da ação da enzima β -glucoronidase, que é caracteristicamente produzida pela *Escherichia coli*, sobre o substrato 4-metilumbeliferil- β -D-glucoronídeo (MUG); quando o MUG é degradado, o produto resultante 4-metilumbeliferona apresenta fluorescência azul sob luz ultravioleta (360nm). Nesta técnica, a presença de coliformes totais é confirmada pela alteração da coloração do meio, de incolor para amarelo (Greghi, 2005).

Na técnica Colisure[®] (Idexx), os coliformes totais hidrolisam o substrato vermelho de clorofenil- β -galactopiranosídeo (CPRG), transformando-o em vermelho de clorofenol. A presença de coliformes totais é confirmada pela alteração na coloração do meio, de amarelo para vermelho (APHA, 1998).

A presença de *Escherichia coli* é detectada pela fluorescência azul do meio sob luz ultravioleta (360nm); isto se deve à ação da enzima β -glucoronidase sobre o substrato 4-metilumbeliferil- β -D-glucoronídeo (MUG), que quando este é degradado o produto resultante é a 4-metilumbeliferona (APHA, 1998).

Outro método rápido utilizado para a detecção e identificação dos coliformes totais, coliformes fecais e *Escherichia coli* é o produto denominado ReadyCult Coliformes[®] (Merck) que apresenta em sua composição 5-bromo-4-cloro-3-indol- β -D-galactopiranosídeo (X-GAL), substrato cromogênico para a enzima β -galactosidase, produzida pelos coliformes totais hidrolizando-o em bromo-cloro-indigo.

Nesta técnica a presença de coliformes totais é confirmada pela alteração na coloração do meio, de levemente amarelo para azul esverdeado.

A presença de *Escherichia coli* é detectada pela observação de fluorescência azul, sob luz ultravioleta (360nm); isto se deve à ação da enzima β -glucoronidase sobre o substrato 4-metilumbeliferil- β -D-glucoronídeo (MUG); o produto resultante 4-metilumbeliferona é fluorescente sob luz ultravioleta. Para confirmar a presença de *Escherichia coli* deve ser adicionado 2,5mL do reativo de Kovac's aos tubos; a formação de um anel vermelho indica prova de indol positiva confirmando a presença de *E. coli* (Merck, 2003).

Uma vantagem destas técnicas é que permitem a detecção, enumeração e identificação de forma direta nas placas, não necessitando de usar subculturas e testes bioquímicos para a identificação de alguns microrganismos (Manafi, 2000).

Como *E. coli* e os coliformes são os indicadores mais importantes, no que diz respeito à contaminação da água, algumas destas técnicas são capazes de detectar rapidamente estes microrganismos através da adição de substratos enzimáticos para detecção de β -D-Galactosidase, que indica a presença de Coliformes Totais, e de β -D-Glucoronidase, que indica a presença de *E. coli* (Silva *et al.*, 2000).

O uso das técnicas referidas anteriormente, permite determinar e quantificar simultaneamente Coliformes Totais e Coliformes Fecais presentes na amostra de água que se quer analisar, utilizando apenas um meio de cultura.

4.3 - TÉCNICA DA MEMBRANA FILTRANTE

A TMF é a mais utilizada e é bastante eficaz. Nesta técnica é utilizada uma membrana de acetato de celulose ou nitrocelulose com poros de $0,45\mu\text{m}$ de diâmetro (Figura 4), permitindo a passagem de líquidos retendo todos os microrganismos (Standard methods for the examination of water and wastewater, 2012).

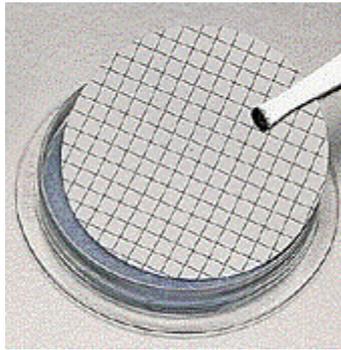


Figura 4 - Membrana de acetato de celulose usada na Técnica Membrana Filtrante (Adaptado de Greggi, 2005).

Depois colocam-se na superfície de meios de cultura sólidos os quais são seletivos para o grupo de bactérias que pretende quantificar e identificar. Em seguida, as placas são colocadas numa estufa, à temperatura ideal para que haja incubação das colónias de bactérias.

As colónias são visualizadas (Figura 5) e contabilizadas manualmente ou com a ajuda de aparelhos automáticos nas 48 a 72 horas seguintes.

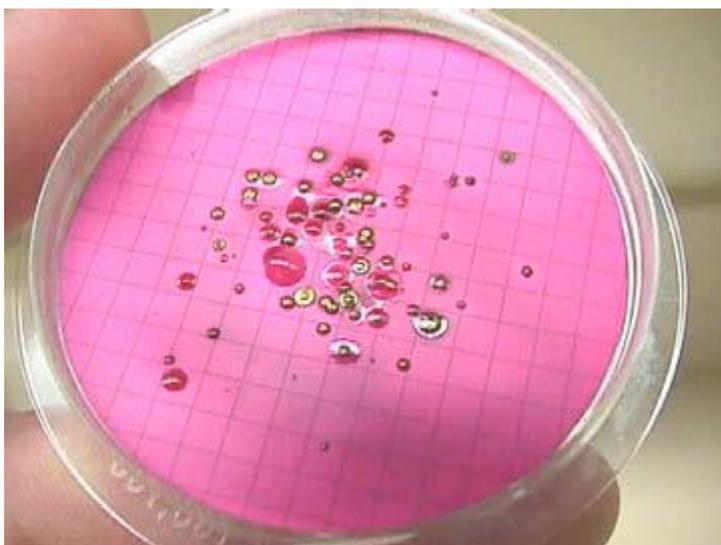


Figura 5 - Contagem manual de colónias de bactérias

Os resultados são expressos em UFC por 100ml de amostra de água. É uma técnica de fácil execução e o seu custo não é elevado e utiliza-se para a avaliação de águas de abastecimento, águas naturais de superfície ou subterrâneas, mas com turvação reduzida.

A contagem de heterotróficos em placas é usada para medir os efeitos do tratamento da água e indicar se a mesma está segura para consumo. Nestes procedimentos geralmente são utilizados meios ricos como o Plate Count Agar (PCA) ou o Tryphone Soy Agar (TSA) (Reasoner e Geldreich, 1985). A contagem de heterotróficos é muito importante porque pertencem a um grupo muito diverso com ampla capacidade metabólica e a sua presença em grande quantidade apresenta sérios riscos para a saúde pública, pois a maioria deles é patogénica e oportunista (Garrity, 2001).

5 - TRATAMENTOS REALIZADOS À ÁGUA

O tratamento de água tem como principais objetivos evitar:

- O aparecimento de água contaminada com microrganismos e que se torne imprópria para o consumo;
- O aparecimento de problemas com as canalizações e equipamentos.

A desinfecção da água assegura a proteção contra o risco de contrair doenças infecciosas de origem hídrica (IRAR, 2007).

A água para consumo humano ou animal deve estar livre de microrganismos patogênicos ou substâncias que possam prejudicar a saúde (Parsekian, 1998).

Existem vários tratamentos que podem ser realizados à água como forma de prevenir a existência de microrganismos, ou que estes estejam em concentrações tão baixas que não constituam perigo para a saúde.

A desinfecção da água é realizada através de diferentes processos, os quais podem ser químicos (cloro, dióxido de cloro, ozono, peróxido de hidrogênio) ou físicos (ebulição, ultrassons, raios ultravioleta, raios gama) (Alves, 2010).

Os mais realizados nas águas para consumo humano são:

- Microtamisação: remoção de algas ou partículas finas em suspensão em águas superficiais.
- Coagulação: tem por objetivo transformar as impurezas que se encontram em suspensão fina, em estado coloidal e algumas que se encontram dissolvidas, em partículas que possam ser removidas por decantação (sedimentação) e filtração.
- Floculação: refere-se aos processos de tratamento de água que combinam ou “coagulam” partículas pequenas em partículas maiores, que se separam da água como um sedimento.
- Sedimentação: É um processo de separação de partículas em suspensão na água. Estas partículas, sendo mais pesadas que a água, tendem a depositar-se no fundo do decantador, “clarificando” a água e reduzindo, em grande percentagem, os sólidos suspensos. É um processo gravítico que remove as partículas floculadas da água.
- Filtros de areia e antracite: remoção de sólidos suspensos e de microrganismos. Tem como finalidade eliminar matéria suspensa que não tenha sido removida nas fases de sedimentação, coagulação ou floculação.
- Amaciamento: é um processo que tem como objetivo a eliminação parcial ou total da dureza de uma água. Implica a remoção parcial ou total de íões de cálcio ou de magnésio.

Segundo o autor referido anteriormente, o desinfetante ideal ou processo de desinfecção deve apresentar as seguintes características:

- ✓ Ser tóxico, a baixas concentrações, para os microrganismos;
- ✓ Não ser tóxico para os seres humanos e animais;
- ✓ Ser solúvel em água;
- ✓ Ser eficaz às temperaturas normais da água de consumo;
- ✓ Ser estável, permitindo a manutenção de concentrações residuais durante longos períodos de tempo;
- ✓ Não reagir com outra matéria orgânica que não seja a dos microrganismos;
- ✓ Não ser agressivo a metais e vestuário;
- ✓ Existir em grandes quantidades e a um preço acessível;
- ✓ Ser fácil de manipular;
- ✓ Permitir um controlo fácil das suas concentrações.

Nas explorações cunículas, os tratamentos químicos são os mais realizados. Os produtos mais utilizados são o cloro, dióxido de cloro e também o peróxido de hidrogénio.

5.1 - CLORO

O uso do cloro na desinfeção da água foi iniciado com a aplicação de hipoclorito de sódio (NaOCl). O cloro era utilizado como agente desinfetante apenas em casos epidémicos. A partir de 1902, a cloração foi instituída como prática de rotina na Bélgica (Alves, 2010).

O cloro é usado no tratamento da água para a desinfeção (destruindo os microrganismos patogénicos) e oxidação dos compostos presentes na água. Tem um forte poder oxidante mas o seu poder reativo diminui com o aumento do pH e a diminuição da temperatura (Bazzoli, 1993). Reage mais rapidamente com compostos inorgânicos do que em contato com compostos orgânicos. A sua reação com certos compostos orgânicos pode originar produtos tóxicos e cancerígenos (trihalometanos, clorofórmio) para os animais e os humanos (Souza *et al.*, 2008).

O cloro é o desinfetante mais utilizado, geralmente sob a forma de pastilhas, as quais são colocadas nos reservatórios de água. Tem um custo reduzido e é fácil de aplicar. Apesar das vantagens, é difícil de quantificar pelo produtor, tem um tempo de semivida curto e baixa eficácia.

Segundo Alves (2010) o cloro tem também outros propósitos: controlo do sabor e odor e manutenção da qualidade da água no sistema de distribuição controlando o crescimento de limos.

A OMS considera que uma concentração de 0,5 mg/l de cloro livre residual na água, depois de um tempo de contato de 30 minutos, garante uma desinfecção satisfatória. Por outro lado, a OMS salienta que não se observa nenhum efeito nocivo à saúde no caso de concentrações de cloro livre que cheguem a 5 mg/l.

Os derivados clorados de origem orgânica, são comercializados na forma de pó, possuem uma maior estabilidade ao armazenamento do que os compostos clorados inorgânicos, que possuem um prazo de validade que varia de 3 a 6 meses, chegando a no máximo 1 ano, enquanto os orgânicos, chegam a alcançar um prazo de validade de 3 a 5 anos. Por serem mais estáveis, os derivados clorados orgânicos, em solução aquosa implica uma liberação mais lenta de ácido hipocloroso e conseqüentemente permanecem efetivos por períodos de tempos maiores, mesmo na presença de matéria orgânica (Macêdo, 1997).

Os derivados clorados são utilizados há décadas e sendo corretamente utilizados não apresentam nenhum risco toxicológico.

5.2 - DIÓXIDO DE CLORO

O dióxido de cloro (ClO_2) é um gás que não pode ser armazenado, dilui-se facilmente em água e as soluções aquosas têm uma cor esverdeada (cor de laranja em concentrações elevadas).

A utilização do dióxido cloro como desinfetante tem as seguintes vantagens:

- ✚ Gama de aplicação extensa: pH 5 a 10;
- ✚ Não deixa cheiro e sabor na água;
- ✚ Remove o biofilme e as bactérias presentes neste.

No entanto tem como desvantagens:

- ✚ O seu custo elevado;
- ✚ O gás do dióxido de cloro é explosivo;
- ✚ Decompõe-se com a luz;
- ✚ Origina subprodutos específicos: clorito e clorato (Ribeiro, 2008).

5.3 - PERÓXIDO DE HIDROGÉNIO

O peróxido de hidrogénio é um agente oxidante com elevado poder biocida e que ultimamente tem sido bastante utilizado na higiene e desinfeção das canalizações da água consumida pelos animais de produção.

Tem uma maior eficiência a valores de pH menores do que 5 (Neyens e Baeyens, 2003), o qual não se verifica na maioria das águas utilizadas nas explorações cunícolas.

Tem um elevado poder quando está em contato com matéria orgânica, não é corrosivo para as tubagens e é estável a qualquer temperatura. Elimina biofilmes e não deixa odor ou altera o sabor da água. Estas são as principais vantagens no que diz respeito à sua utilização comparando com as pastilhas de cloro.

Nas explorações cunícolas, a sua concentração depende do objetivo para o qual é usado: 30 ppm para água de consumo e 50 ppm para tubagens e canalizações. Como geralmente as águas das cuniculturas têm um pH que ronda o neutro a alcalino, já existem no mercado formulações associadas a acidificantes.

O peróxido de hidrogénio, se estiver em elevadas concentrações pode neutralizar o efeito dos antibióticos, isto porque tem um poder oxidativo bastante grande. Mas geralmente tal não acontece devido à sua concentração estar bastante diluída.

Tem efeitos sobre os probióticos, neutralizando o seu efeito e impede a multiplicação das bactérias, quer sejam estas comensais ou não, ao nível do trato digestivo.

Para a sua utilização nas explorações é necessário um doseador. Isto permite dosar a quantidade de peróxido de hidrogénio que existe em toda a água da exploração, quer se trate da água das tubagens ou dos depósitos. Esta é outra vantagem em relação à utilização do cloro. Porém, e devido ao seu elevado poder oxidativo, deve ser bastante diluído. A sobredosagem pode levar à morte dos coelhos. Os sinais visíveis associados a uma sobredosagem são: úlceras na boca, congestão cardíaca, congestão renal, congestão vascular periférica, hepatomegalia e urina com cor acastanhada (Rego, 2012).

Por vezes é utilizado um tratamento alternativo para evitar microrganismos patogénicos e que consiste na acidificação da água com ácido acético (0,5 a 1 litros de ácido acético por 1000 litros de água) (Torres e Manzano, 2005). Como exemplo de tratamento físico são utilizados os raios ultra violeta.

Outros desinfetantes químicos são considerados alternativos: hipoclorito de sódio ou de cálcio ozono (O₃), dióxido de cloro permanganato de potássio (KMnO₄), mistura ozono/peróxido de hidrogénio (O₃/H₂O₂), ião ferrato (FeO₂⁻⁴) e ácido paracético (CH₃COOOH)

Em resumo, com o objetivo de garantir a qualidade da água podem ser utilizados diversos tratamentos cujas vantagens e desvantagens são apresentadas resumidamente na seguinte tabela (Tabela 5):

Tabela 5 - Vantagens e desvantagens dos diferentes tratamentos a aplicar na água de abeberamento.

	Vantagens	Desvantagens
Cloro	<p>Forte poder oxidante</p> <p>Custo reduzido e fácil de aplicar</p> <p>Permite o controlo de sabor e odor</p>	<p>Pode originar produtos tóxicos</p> <p>Difícil de quantificar pelo produtor</p> <p>Tempo de semi vida curto e baixa eficácia a concentrações baixas</p> <p>Poder oxidativo diminui com o aumento do pH</p>
Dióxido de cloro	<p>Não deixa sabor nem odor na água</p> <p>Gama de extensa de pH 5- 10</p>	<p>Custo elevado</p> <p>É um gás explosivo</p> <p>Origina cloritos e cloratos</p> <p>Decompõe-se com a luz</p>
Peróxido de hidrogénio	<p>Agente oxidante com elevado poder biocida</p> <p>Gama de aplicação extensa mesmo a pH ≤ 5</p> <p>Não é corrosivo e é estável a qualquer temperatura</p> <p>Elimina biofilmes</p> <p>Não deixa odor nem sabor na água</p>	<p>Custo mais elevado que o cloro e necessita de equipamento adequado</p> <p>Em concentrações elevadas neutraliza o efeito de antibióticos e pró- bióticos</p> <p>Sobredosagem causa a morte dos coelhos</p>

6 - PARTE EXPERIMENTAL

6.1 – OBJETIVOS

O principal objetivo deste trabalho foi a avaliação da qualidade da água das cuniculturas, tendo em atenção os parâmetros microbiológicos quantificando os Coliformes Totais e Fecais, *Enterococcus* e Microrganismos Totais a 22 e 37°C e pH.

Outro objetivo foi o de avaliar e caracterizar, através de um inquérito realizado aos cunicultores, o sistema de fornecimento de água e quais os tratamentos realizados às águas utilizadas no abeberamento das cuniculturas da região de Trás os Montes e Alto Douro

6.2 - MATERIAL E MÉTODOS

6.2.1 - RECOLHA DE AMOSTRAS

Este estudo foi realizado entre o mês de Outubro de 2014 e Março de 2015, na região de Trás os Montes e Alto Douro (Figura 6).



Figura 6 - Região de Portugal onde se realizaram as colheitas de água.

Foram colhidas 130 amostras de água em 15 explorações, resultando numa média de 9 amostras por exploração. Em cada exploração foram colhidas amostras ao longo de todo o percurso que

a água fazia, ou seja, desde a sua origem até ao final de cada linha (Figura 7) Este procedimento tinha como objetivo avaliar a qualidade microbiológica da água no seu percurso e detetar alguma suposta contaminação.

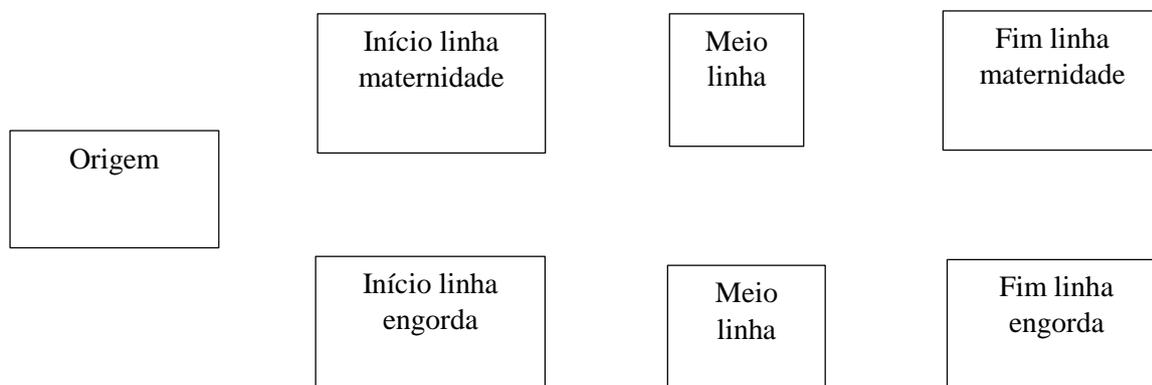


Figura 7- Esquema representativo dos pontos de colheita das amostras nas cuniculturas.

Foi também realizado um pequeno questionário ao proprietário (Anexo 1), de modo a obter um melhor enquadramento da cunicultura e das medidas profiláticas realizadas com a água e com os seus sistemas de fornecimento.

Todas as amostras de água obtidas nas explorações foram colhidas de forma asséptica e acondicionadas em frascos de vidro com volumes que rondavam 1 litro. As amostras foram devidamente identificadas com o local onde foram colhidas e nome da exploração e transportados em bolsas térmicas até à sua chegada ao laboratório, mantendo assim uma temperatura desejável que rondava os 2 a 4 °C.

6.2.2 – ANÁLISES LABORATORIAIS

6.2.2.1. – PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS PARA ANÁLISE

No laboratório a água era analisada de imediato através da Técnica da Membrana Filtrante, a qual foi efetuada de acordo com os “Standard methods for the examination of water and wastewater (2012) para a deteção de coliformes e *Enterococcus*”, numa câmara de fluxo laminar (Figura 8).



Figura 8 - Câmara de fluxo laminar utilizada na Técnica Membrana Filtrante. (Fonte: Autor).

Esta consiste de um sistema de filtração por vácuo, que contém um copo graduado e um suporte para membrana, onde é colocada a membrana filtrante com poros de $0,45\ \mu\text{m}$.

Fazem parte deste sistema também um “Kitasato”, o qual está ligado a uma bomba de vácuo que permite a sucção da água (Figura 9)



Figura 9 - Kitasato e bomba de vácuo utilizados na filtração. (Fonte: Autor)

6.2.2.2 - PESQUISA E QUANTIFICAÇÃO DE ESCHERICHIA COLI E DE OUTRAS BACTÉRIAS COLIFORMES E DE ESTREPTOCOCOS FECAIS

As amostras de água foram agitadas 6 vezes, seguidamente 100 ml de água foram colocados nos copos de filtração graduados, onde se encontrava um filtro com porosidade 0,45 μ m.

Após a filtração, retiraram-se as membranas com uma pinça esterilizada sendo colocadas sobre o meio de cultura contido na placa de Petri (Slanetz para os Enterococos e Endo para os Coliformes Fecais e Totais), com o retículo virado para cima, evitando que, entre a membrana e o meio de cultura se instalassem bolhas de ar.

As várias placas para a deteção de *E. coli* foram colocadas numa estufa a 44,5°C, durante aproximadamente 48 horas.

As restantes placas eram colocadas numa outra estufa a 37°C, as quais ficariam a incubar também aproximadamente 48 horas.

No final da incubação, as placas foram retiradas das respetivas estufas e contabilizadas manualmente.

Caso os resultados fossem positivos, nos meios seletivos específicos, era realizada uma repicagem das colónias, para confirmação posterior.

O meio utilizado para a confirmação, no caso de *E. coli*, era a água triptonada para a pesquisa de indol positivo. As colónias repicadas eram colocadas em tubos contendo o meio referido anteriormente e colocadas a 44°C em banho-maria durante 24 horas. Após as 24 horas observou-se a presença de turvação no caldo verde brilhante e presença de gás. Adicionavam-se 2 gotas de reagente de Kovacs para confirmar a presença de coliformes fecais.

Para a confirmação dos enterococos, caso se observassem colónias rosa escuro ou acastanhadas nas placas com meio de Slanetz, estas eram repicadas para um meio de canamicina e colocadas numa estufa a 37°C durante 4 horas. Se se observassem colónias negras o resultado era positivo.

Este método pode ainda ser realizado colocando diretamente o filtro da placa de Slanetz no meio de canamicina ou passando 100 ml de água a testar pelo filtro e colocando diretamente no meio de canamicina.

6.2.2.3 - CONTAGEM TOTAL DE MICRORGANISMOS A 22 E 37°C

A metodologia de incorporação em meio sólido constitui uma medida quantitativa direta do número de microrganismos viáveis (que são capazes de se multiplicar) num determinado volume de água.

As amostras foram agitadas vigorosamente, de modo a obter uma completa homogeneização.

Cerca de 1 ml da amostra de água foi incorporado em meio líquido de PCA. As placas foram agitadas cuidadosamente, mantendo-as em posição horizontal na superfície da bancada, com suaves movimentos rotativos, até completa homogeneização do meio com a amostra. As placas foram deixadas em repouso na bancada até o meio solidificar. Posteriormente foram a incubar, numa posição invertida, a 22 e 37°C, durante 2 a 3 dias.

No final da incubação, todas as colónias formadas foram contabilizadas e calculado o número de unidades formadoras de colónias (UFC) por ml de amostra.

6.2.2.4 – MEDIÇÃO DE pH

Para a medição do pH das amostras foi utilizado o aparelho JENWAY (Model 350 pH Meter). A medição do pH das amostras foi realizada depois da recolha para as análises microbiológicas.

6.2.3 - ANÁLISE E TRATAMENTO DOS DADOS

A análise estatística de dados foi efetuada recorrendo ao programa SPSS® 19.0. O estudo da associação entre variáveis foi efetuado através da análise do qui-quadrado e pelo teste exato de Fisher com um nível de probabilidade $(p) < 0,05$.

Foi calculada a prevalência e o respetivo intervalo de confiança (IC) para 95% de probabilidade.

Tabela 6- Local e número de colheitas efetuadas em cada exploração.

Exploração	Localidade	Nº amostras colhidas
1	Vila Real	9
2	Bragança	9
3	Campeã	10
4	Campeã	8
5	Romeu	9
6	Couto	9
7	Borbela	6
8	São Martinho de Anta	11
9	Torre de Pinhão	7
10	Sobrados	10
11	Pegarinhos	5
12	Jales	11
13	Parada de Aguiar	9
14	Telões	9
15	Cidadelhe	9

A distribuição no número de amostras pelo ponto de colheita encontra-se na Tabela 7. No ponto de colheita 10 (meio linha 1 maternidade) e no ponto 11 (meio linha 1 engorda) colheram-se poucas amostras e foram realizadas apenas nas explorações de menor dimensão para completar um número mínimo de amostras.

Tabela 7- Distribuição do número de análises pelo ponto de colheita.

Ponto de Colheita	N.º; %
1. Origem	15 (11,5%)
2. Início linha 1 pavilhão maternidade	15 (11,5%)
3. Fim linha 1 pavilhão maternidade	15 (11,5%)
4. Início linha 2 pavilhão maternidade	15 (11,5%)
5. Fim linha 2 pavilhão maternidade	15 (11,5%)
6. Início linha 1 pavilhão engorda	14 (10,8%)
7. Fim linha 1 pavilhão engorda	13 (10,0%)
8. Início linha 2 pavilhão engorda	12 (9,2%)
9. Fim linha 2 pavilhão engorda	11 (8,5%)
10. Meio linha 1 maternidade	3 (2,3%)
11. Meio linha 1 engorda	2 (1,5%)

A maioria das explorações já se encontra instalada há mais de 20 anos, tendo a exploração mais velha 35 anos e a mais recente 20 anos.

Apenas 5 explorações tinham outras explorações por perto num raio de 3 a 7 Km. Quanto à dimensão das explorações esta foi muito variável desde 90 a 3100 coelhas reprodutoras, com uma média de 965,2 animais. Na maioria das explorações, a reprodução era feita por inseminação artificial, sendo realizada por empresas especializadas. Apenas numa exploração o proprietário usava como método de reprodução a cobrição natural, tendo para o efeito vários machos.

Quanto à origem das águas para consumo das cuniculturas, 60% (n=9) foram colhidas de furos, 20% (n=3) da rede pública e 6,7% (n=1) em poços e 13,3% (n=2) em minas (Figura 11). Este resultado é semelhante ao do estudo realizado por Coelho e Pinheiro em 2014 e pode ser explicado pelo fato de as explorações estarem localizadas nas áreas limítrofes das aldeias, sendo muito mais prático, fácil e barato para os proprietários obter a água através de lençóis freáticos subterrâneos.

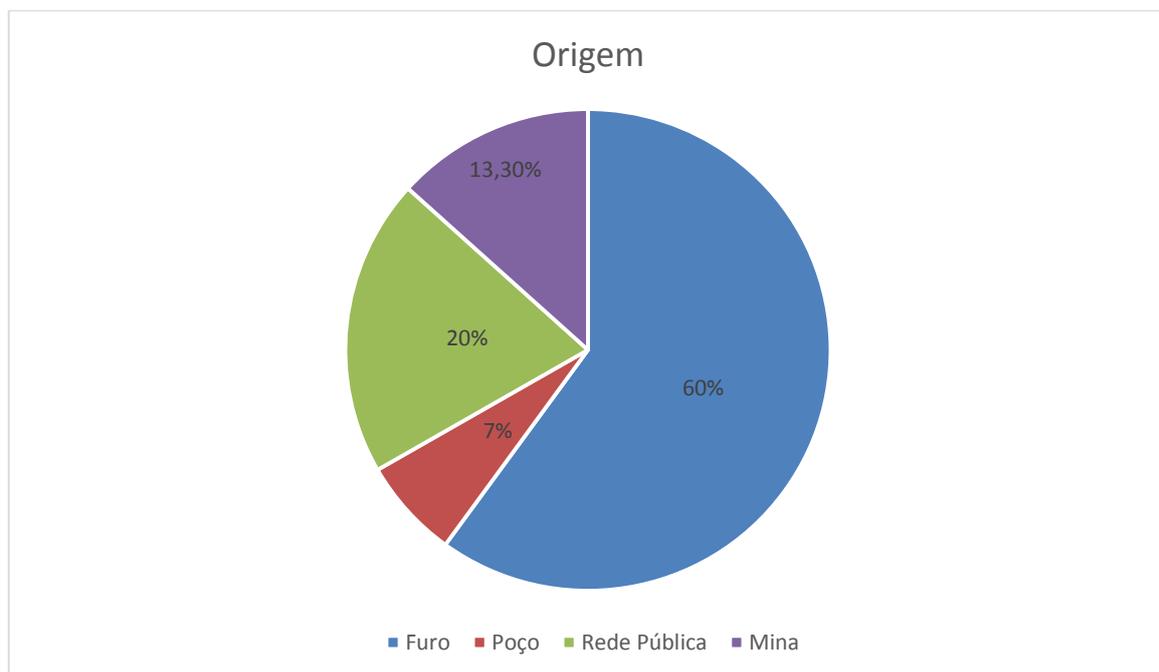


Figura 11 - Origem da água nas cuniculturas.

Relativamente ao armazenamento em depósito, 72,3% (n=94) das amostras eram provenientes de explorações onde não se fazia o armazenamento em depósito e 27,7% (n=36) de explorações onde ocorria o armazenamento.

A maioria das amostras de água era conduzida da origem até à exploração por tubagem em PVC (79,2%; n=103), seguida de tubagem em inox (13,8%; n=18) e apenas numa pequena percentagem (6,9%; n=9) a água era trazida por manilhas.

Quanto ao tipo de tratamento realizado na água, 13,1% (n=17) das amostras não sofriam qualquer tipo de tratamento, 19,2% (n=25) sofriam tratamento, embora não tenha sido identificado, 48,5% (n=63) eram tratadas com cloro derretido, 12,3% (n=16) com peróxido e 6,9% (n=9) eram tratadas com uma combinação de cloro e peróxido (Figura 12).

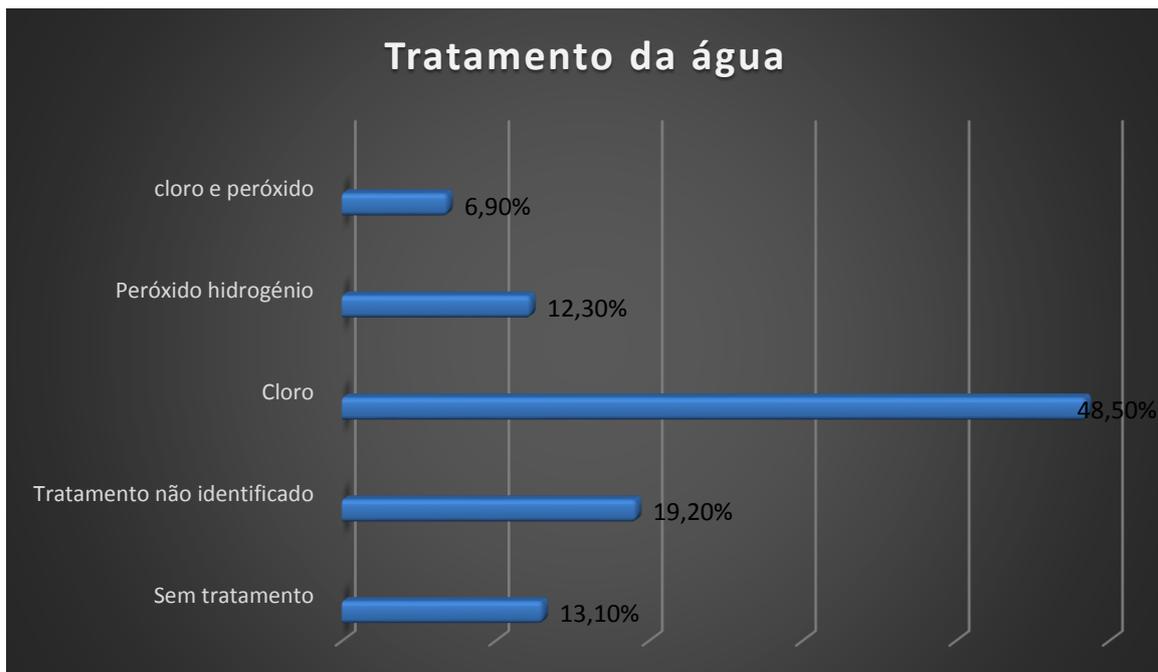


Figura 12 - Tratamento da água consumida pelos coelhos

A grande maioria das amostras de águas (86,9%; n=113) eram provenientes de explorações que as submetiam a análise regular e 13,1% (n=17) de amostras de água pertenciam a cuniculturas que não faziam análises periódicas. A maioria das cuniculturas que efetuavam análises referiu que os resultados eram normais e nenhuma, das que efetuavam análises, referiu má qualidade microbiológica das águas, embora duas cuniculturas das 15 dissessem não saber qual o resultado.

Relativamente à periodicidade das análises, a maioria das explorações efetuavam análises 2 vezes no ano (40,0%; n=6), seguida de 1 vez ao ano (33,3%; n=5) e em menor número fazia análises 1 a 2 vezes no ano (13,3%; n=2). Duas explorações (13,3%; n=2) não realizavam qualquer tipo de análises à água.

Em 66,7% (n=10) das explorações a água era veículo de antibióticos, e em 13,3% (n=2) destas explorações a água era veículo de antibióticos e também de vitaminas. Em 20% (n=3) a água não era utilizada como veículo de qualquer tipo de fármaco ou vitaminas.

Relativamente à periodicidade da limpeza dos depósitos e tubagens, 73,3% (n=11) das explorações faziam a limpeza no fim de cada ciclo de produção, 13,3% (n=2) das explorações faziam a limpeza duas vezes ao ano, 6,7% (n=1) das amostras pertenciam a explorações que faziam a limpeza uma vez ao ano e 6,7% (n=1) pertenciam a explorações que não faziam qualquer limpeza (Figura 13).

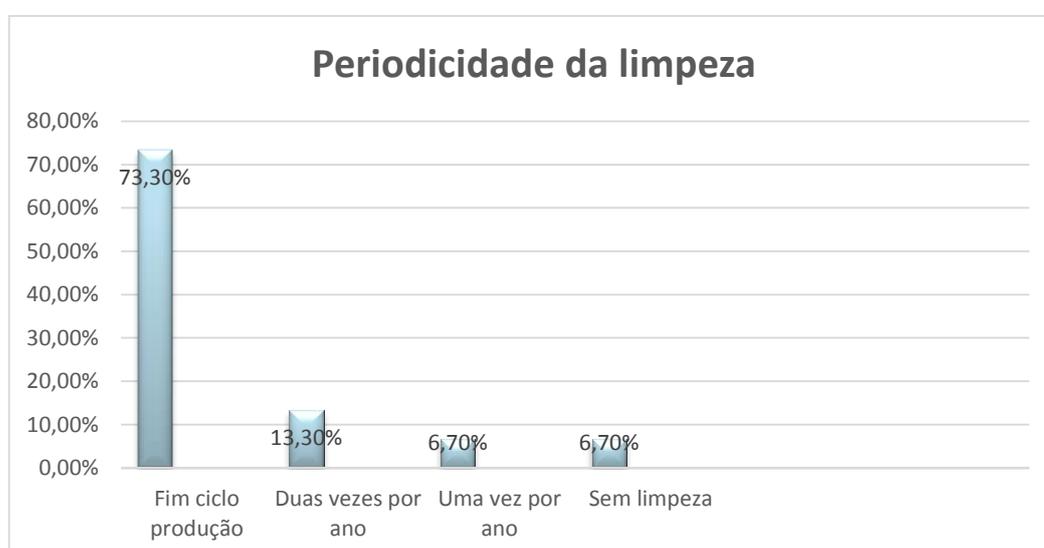


Figura 13 - Periodicidade da limpeza dos depósitos e tubagens realizada pelos cunicultores.

Quanto aos produtos usados na limpeza dos depósitos e tubagens, 26,7% (n=4) das explorações faziam a limpeza com água e lixívia, 46,7% (n=7) pertenciam a explorações que limpavam com água, 13,3% (n=2) pertenciam a explorações que limpavam com lixívia, 6,7% (n=1) a explorações que limpavam com peróxido e 6,7% (n=1) pertenciam a uma exploração que não sabia identificar o desinfetante.

7.2 - QUALIDADE DA ÁGUA DAS EXPLORAÇÕES

7.2.1 - RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS GERAIS

Das 130 amostras analisadas 13 foram positivas para *Escherichia coli*. A prevalência de *Escherichia coli* nas amostras analisadas foi de 10% (IC 95%: 4,91%-15,09%).

Das 130 amostras analisadas 20 foram positivas para *Enterococcus*. A prevalência de *Enterococcus* nas amostras analisadas foi de 20% (IC 95%: 13,21%-26,79%).

Em 121 das 130 amostras analisadas o número total de microrganismos a 22°C foi inferior a 100 UFC/ml e a 37°C inferior a 10 UFC/ml. Como tal, a maioria das águas das explorações analisadas estavam próprias para consumo (Tabela 8).

Tabela 8 - Resultados da qualidade microbiológica da água (fornecimento) em 130 amostras de água de explorações cunículas transmontanas.

Parâmetros microbiológicos	Unidades	Resultado	Amostras com resultado negativo	Amostras com resultado positivo	Concentração máxima admissível*
Microrganismos viáveis 37°C	UFC/ml	< 10	121	9	<20
Microrganismos viáveis 22°C	UFC/ml	< 100	121	9	<100
Coliformes totais	UFC/100ml	0	117	13	0
<i>Escherichia coli</i>	UFC/100ml	0	117	13	0
Enterococos intestinais	UFC/100ml	0	110	20	0

*(Valores de referência: Decreto-Lei 306/2007).

Relativamente aos resultados microbiológicos por exploração, das 15 explorações analisadas 2 (13,3%) foram positivas para *E. coli* e 3 (20,0%) foram positivas para *Enterococcus*. Em apenas 1(6,7%) das 15 amostras analisadas o número total de microrganismos a 22°C foi maior do que 100 UFC/ml e a 37°C maior do 10 UFC/ml. Como tal, a maioria das águas das explorações analisadas estavam próprias para consumo (Tabela 9).

Tabela 9 - Resultados da qualidade microbiológica da água (fornecimento) em explorações cunícolas transmontanas (n= 15 explorações).

Parâmetros microbiológicos	Unidades	Resultado	Expl. com resultado negativo	Expl. com resultado positivo	Concentração máxima admissível*
Microrganismos viáveis 37°C	UFC/ml	< 10	14	1	<20
Microrganismos viáveis 22°C	UFC/ml	< 100	14	1	<100
Coliformes totais	UFC/100ml	0	13	2	0
<i>Escherichia coli</i>	UFC/100ml	0	13	2	0
Enterococos intestinais	UFC/100ml	0	12	3	0

*(Valores de referência: Decreto-Lei 306/2007).

7.2.2 – RELAÇÃO ENTRE A QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DA ÁGUA E AS CARACTERÍSTICAS DA EXPLORAÇÃO

Nesta parte do trabalho procuramos averiguar se algumas características das explorações, como a origem do fornecimento da água, o tipo de tubagem e armazenamento estavam relacionadas com a qualidade microbiológica da água, nomeadamente com a concentração de *E. coli*, *coliformes totais* e *enterococcus*.

ESCHERICHIA COLI

Depois de retiradas da estufa a 44°C, na qual ficaram cerca de 48 horas, as amostras positivas a *E coli*, cultivadas em placas com meio Endo, apresentavam colónias com uma coloração característica verde brilhante (Figura 14), e eram confirmadas por repicagem no meio de água triptonada.



Figura 14- Colônias de *Escherichia coli* em meio Endo (Fonte: www.pall.com).

Todas as amostras positivas a *E. coli* (13) eram provenientes de água com origem em poços (9/13; 69,2%) ou da rede pública (4/13; 30,8%) (Figura 15). Não houve nenhum resultado positivo em furos. As diferenças encontradas foram estatisticamente significativas ($p < 0,0001$) entre a origem da água e a sua qualidade microbiológica.

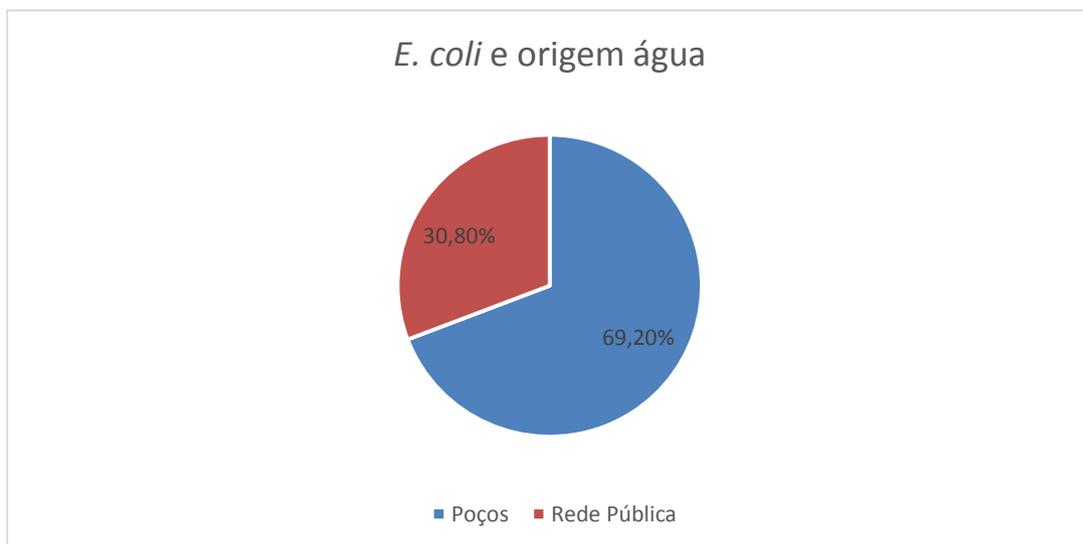


Figura 15- Relação entre a presença de *E. coli* e a origem da água.

Todas as amostras positivas a *E. coli* eram provenientes de tubagem em PVC (13/13; 100%). As diferenças encontradas foram estatisticamente significativas ($p = 0,040$). Isto poderá indicar-

nos que este tipo de tubagem não é o mais adequado para o percurso da água de abeberamento dos coelhos.

A maioria das amostras positivas a *E. coli* eram provenientes de explorações que armazenavam água em depósitos de maiores dimensões (9/13; 69,2%). As diferenças encontradas foram estatisticamente significativas ($p=0,001$). Estas amostras provinham de explorações que não faziam nenhum tipo de tratamento à água e a limpeza dos depósitos e tubagens era realizada unicamente com água. e eram também provenientes de explorações que tinham outras explorações por perto (9/13; 69,2%). As diferenças encontradas foram também estatisticamente significativas ($p=0,007$).

Todas as amostras de água positivas eram provenientes de explorações que não faziam tratamento (13/13; 100%). Estas diferenças foram estatisticamente significativas ($p=0,0001$).

Todos os resultados positivos foram observados em explorações que faziam lavagem apenas com água, na limpeza do depósito e na limpeza da tubagem. As diferenças encontradas foram estatisticamente significativas ($p=0,0001$). Este resultado é expectável pois está relacionada com a eficiência das medidas profiláticas executadas.

COLIFORMES TOTAIS

As colónias de Coliformes Totais, quando em meio Endo e colocadas numa estufa a 37°C, durante 48 horas, apresentam uma coloração rosa (Figura 16). A diferença destas colónias e as de *E. coli* é que somente as últimas crescem no meio referido a uma temperatura de 44°C.

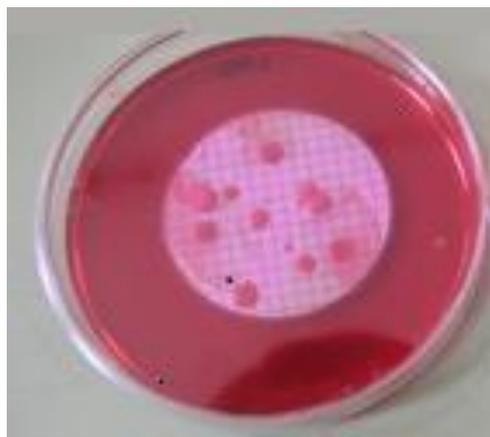


Figura 16- Colónias de Coliformes Totais em meio Endo. (Fonte: www.pall.com).

Todas as amostras positivas aos coliformes totais eram provenientes do poço (9/13; 69,2%) ou da rede pública (4/13; 30,8%) (Figura 17). Não houve nenhum resultado positivo em furos ou minas. As diferenças encontradas foram estatisticamente significativas ($p=0,0001$).

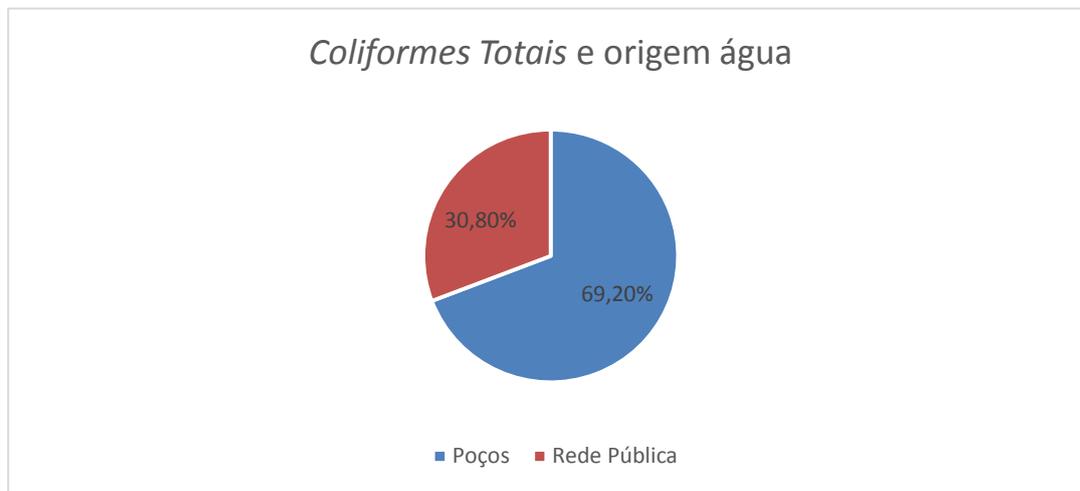


Figura 17- Relação entre a presença de Coliformes Totais e a origem da água.

Todas as amostras positivas aos coliformes totais eram provenientes de tubagem em PVC (13/13; 100%). As diferenças encontradas foram estatisticamente significativas ($p=0,040$). Isto poderá indicar-nos que este tipo de tubagem não é o mais adequado para o percurso da água de abeberamento dos coelhos.

A maioria das amostras positivas aos coliformes totais eram provenientes de explorações que armazenavam em depósitos (9/13; 69,2%). As diferenças encontradas foram estatisticamente significativas ($p=0,001$). A maioria das amostras positivas aos coliformes totais eram provenientes de explorações que tinham outras explorações por perto (9/13; 69,2%). As diferenças encontradas foram estatisticamente significativas ($p=0,007$).

Todas as amostras de água positivas eram provenientes de explorações que não faziam tratamento (13/13; 100%). Estas diferenças foram estatisticamente significativas ($p=0,0001$). Este resultado reflete a necessidade de se realizar um tratamento adequado à água de abeberamento dos animais, para evitar uma possível contaminação.

Todos os resultados positivos foram observados em explorações que faziam lavagem apenas com água, na limpeza do depósito e na limpeza da tubagem. As diferenças encontradas foram estatisticamente significativas ($p=0,000$). Este resultado é expetável.

ENTEROCOCCUS

Quando as colónias de enterococcus eram observadas no meio Slanetz (Figura 18), a membrana era retirada deste meio e colocada numa placa com um meio de canamicina. Eram novamente incubadas numa estufa a 37°C e, passadas 24 horas eram visualizadas colónias com coloração característica negra.

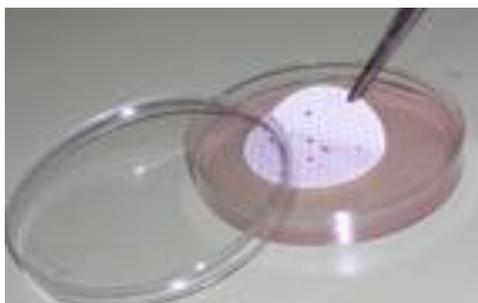


Figura 18- Colónias de Enterococcus em meio Slanetz (Fonte: www.esb.ucp.pt)

As amostras positivas a *Enterococcus* eram provenientes do poço (9/20; 45,0%), da rede pública (3/20; 15,0%) ou de furo (8/20; 40,0%) (Figura 19). Não houve nenhum resultado positivo em minas. As diferenças encontradas foram estatisticamente significativas ($p=0,0001$). Estes resultados indicam-nos que terá havido uma contaminação fecal mais remota.

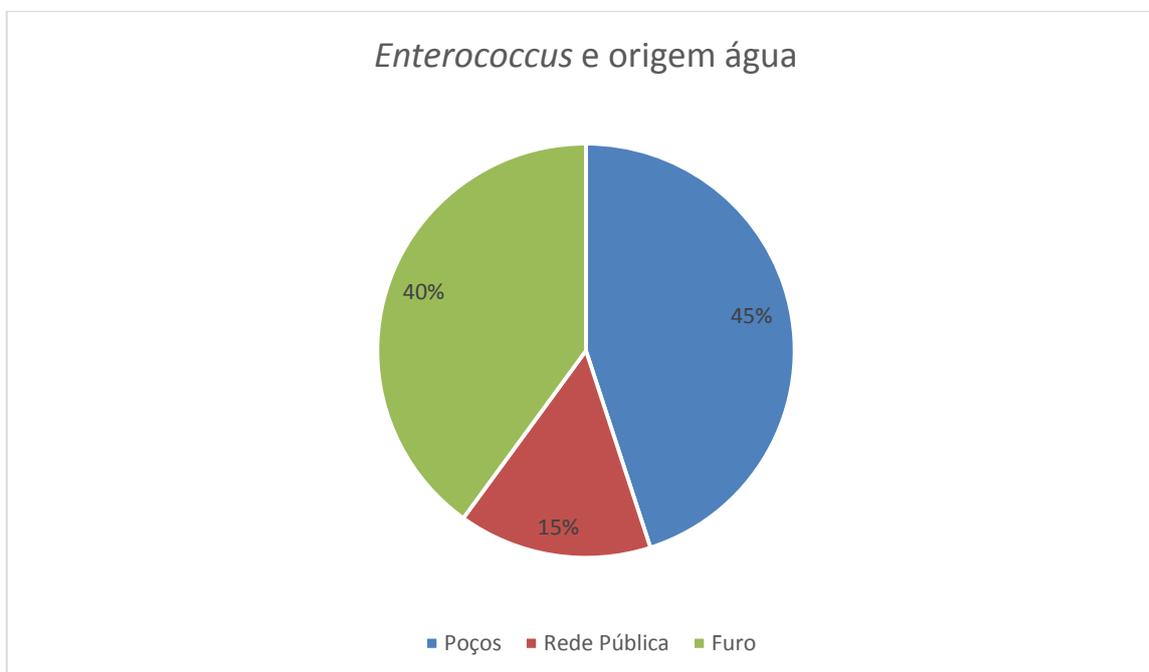


Figura 19- Relação entre a presença de *Enterococcus* e a origem da água.

Todas as amostras positivas a *Enterococcus* eram provenientes de tubagem em PVC (20/20; 100%). As diferenças encontradas foram estatisticamente significativas ($p=0,006$).

A maioria das amostras positivas a *Enterococcus* eram provenientes de explorações que não armazenavam em depósitos (11/20; 55,0%) e que não tinham outras explorações por perto (11/20; 55,0%). A contaminação poderá ter-se dado na origem da água e que posteriormente passou, através da tubagem para o restante percurso.

A maioria de amostras de água positivas eram provenientes de explorações que não faziam tratamento (12/20; 60%). Nove amostras positivas eram provenientes de explorações que faziam tratamento com cloro derretido. Estas diferenças foram estatisticamente significativas ($p=0,004$). A não realização de tratamento permite crescimento de microrganismos

Todos os resultados positivos foram observados em explorações que faziam lavagem apenas com água, na limpeza do depósito e na limpeza da tubagem. As diferenças encontradas foram estatisticamente significativas ($p<0,0001$).

8 - DISCUSSÃO

8.1 – CARACTERÍSTICAS DO ABASTECIMENTO DA ÁGUA ÀS EXPLORAÇÕES

A água utilizada no abeberamento dos coelhos, das cuniculturas visitadas, provém na maioria de furos ou poços privados e os cunicultores já pedem para serem realizadas análises periódicas para avaliar a qualidade da água.

Na maioria das explorações já é realizado tratamento à água de consumo dos animais, sendo o cloro, na forma de pastilhas, o desinfetante de eleição na produção cunícola, devido ao seu baixo custo aliado a um bom poder oxidante e facilidade de utilização. No entanto, o peróxido de hidrogénio também já começa a ter uma melhor divulgação, devido ao seu bom poder biocida, ser facilmente controlado e quantificado, através de tiras reativas. Relativamente à limpeza dos depósitos e tubagens, esta é realizada na maioria das explorações ao fim de cada ciclo produtivo com água ou com uma mistura de água e lixívia. Esta ação de limpeza permite manter todo o trajeto da água limpo, minimizando assim contaminações por microrganismos.

Os valores de pH das amostras de água, compreendido entre 5,85 e 7,64, encontram-se dentro dos valores limites ($\geq 6,5$ e ≤ 9 , segundo o decreto lei 306/ 2007) considerados normais para a água de consumo. Segundo Allieux (2003) o pH baixo (acidez) aumenta a dissolução dos metais das tubagens, válvulas e equipamento metálicos. Um valor de pH baixo propícia a dissolução de acessórios metálicos, podendo alterar o sabor da água original. Por outro lado, valores de pH acima de 8, tornam a água menos agradável ao paladar e podem propiciar a precipitação de sais ou outros compostos, favorecendo o desenvolvimento de incrustações nas tubagens. O valor do pH também influencia a eficiência da desinfeção, já que a eficiência dos agentes utilizados nos diversos tratamentos depende do valor de pH.

8.2 - QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DA ÁGUA

A maioria das explorações visitadas neste estudo obtinha a água a partir de rede de abastecimento privada (poço ou furo) e encontravam-se nas proximidades das aldeias.

A presença de bactérias *E coli* e coliformes totais em amostras provenientes da rede pública não é um resultado expetável, visto que a água proveniente da rede pública é sujeita a uma análise periódica e também a alguns tratamentos de acordo com o decreto-lei em vigor. No

entanto, se as canalizações forem obsoletas há a possibilidade de haver alguma falha ou degradação, permitindo assim a entrada e multiplicação de microrganismos.

As amostras em que foi detetada *E coli* e coliformes totais provinham também de poços. Isto pode sugerir que houve uma contaminação na origem, relativamente recente, e que esta é de origem fecal. Conboy e Goss (2000) citam que a deposição diária de resíduo orgânico animal no solo, prática muito disseminada no meio rural, aumenta o risco da contaminação das águas subterrâneas. Ayer e Westcot (1994) referem que a contaminação da água em poços é superior do que em furos ou minas, devido à sua menor profundidade e maior diâmetro, havendo um menor processo de filtração dos microrganismos por parte do solo e maior suscetibilidade de sofrer contaminação e também que as águas subterrâneas podem ser quimicamente desequilibradas quando comparadas com as águas de superfície.

Todas as amostras positivas a *E. coli* eram provenientes de tubagem em PVC Isto poderá indicar-nos que este tipo de tubagem não é o mais adequado para o percurso da água de abeberamento dos coelhos. Neste tipo de tubagem podem alojar-se algas ou outros detritos que permitem a colonização de bactérias ou a formação de biofilmes, os quais se mostram mais resistentes aos desinfetantes que costumam ser utilizados. Segundo Chaves (2004), o crescimento microbiano, principalmente o crescimento sob a forma de biofilmes, assume um papel primordial nas alterações súbitas da qualidade da água nos sistemas de distribuição de água potável, que resulta da erosão e do desprendimento de porções do biofilme para a água circulante, influenciando diretamente a qualidade da água.

A proximidade de outras explorações agropecuárias pode influenciar a qualidade da água. De acordo com Stukel *et al.* (1990), no meio rural há uma maior probabilidade de ocorrer contaminação microbiológica das águas, captadas por poços ou furos, que podem estar próximos de potenciais fontes de contaminação (fossas, pastagens ocupadas por animais, estrumes e chorumes, esgotos domésticos). Se há uma elevada pluviosidade também pode haver contaminação microbiológica devido ao arrastamento de microrganismos ao nível do solo para os lençóis de água. Como estas amostras foram recolhidas num período de maior pluviosidade (Outubro a Março), esta também pode ter alguma influência nos resultados obtidos. Segundo Chaves (2004), o regime das chuvas também pode influenciar na carga microbiana presente, pois quanto maiores os níveis de precipitação maior será o arrasto. Também segundo estudos realizados por outros autores (Kistemann *et al.*, 2002; Amaral *et al.*, 2003) a precipitação elevada contribui para o arrastamento dos microrganismos que por

lixiviação, seguem para camadas mais inferiores do solo. Assim sendo, nos meses de maiores pluviosidades regista-se um teor médio mais elevado de bactérias. Estes microrganismos poderão não ser neutralizados com os habituais tratamentos realizados à água visto que a concentração destes poderá não ser a suficiente.

O tratamento de água com cloro, peróxido de hidrogénio ou outro agente desinfetante é muito importante para o controlo microbiano e assegurar a qualidade da água para o abeberamento dos coelhos. As concentrações dos agentes desinfetantes também devem ser monitorizadas, através de aparelhos de dosagem, já que baixas concentrações podem não neutralizar a carga microbiana presente na água. Concentrações elevadas podem também influenciar na quantidade de água ingerida, pois podem conferir-lhe sabor ou odor. Concentrações elevadas de peróxido de hidrogénio podem causar a morte dos animais, e interferem também com os antibióticos e próbióticos que muitas vezes são utilizados nas cuniculturas. A carência em cloro da água corresponde à quantidade de cloro que reage inicialmente com agentes redutores e outros compostos presentes no meio, e que, num caso limite, pode resultar numa quantidade nula de cloro residual na água para a inativação microbiana, sendo o seu valor variável e dependente de vários fatores (Connell, 1996). Assim quanto maior for a quantidade de matéria orgânica em suspensão na água, maior será a carência em cloro da água, visto que o cloro reage rapidamente com a matéria orgânica. Há também menor suscetibilidade das bactérias presentes nos biofilmes das paredes das canalizações ao cloro, devido à dificuldade de difusão deste nas matrizes poliméricas que as protegem (Chaves, 2004). No caso do cloro, concentrações elevadas levam à formação de produtos tóxicos.

Nas explorações observadas, o cloro era utilizado sob a forma de pastilhas, as quais eram substituídas quando derretiam na totalidade. Este método, no entanto não permite uma quantificação e doseamento eficiente do cloro na água, podendo não ser o mais eficaz para assegurar a qualidade contínua da água. Quando era utilizado o peróxido de hidrogénio, este era doseado por um aparelho apropriado, resultando numa concentração constante ao longo da duração do tratamento.

As amostras de água onde se observaram *E coli* e coliformes totais eram provenientes de explorações que não faziam qualquer tipo de tratamento. Este resultado reflete a necessidade de se realizar um tratamento adequado à água de abeberamento dos animais, para evitar uma possível contaminação, mantendo a qualidade da água com os parâmetros adequados para a saúde animal.

A limpeza e desinfecção dos depósitos e tubagens mostra-se essencial para o controlo de microrganismos, pois a *E. coli* e os coliformes totais foram observados em amostras de água de explorações que realizavam esta ação somente com água. Segundo Freitas *et al.* (2001) a qualidade da água pode sofrer alterações durante o seu percurso, desde a origem até ao local onde é consumida. Estas alterações podem ser causadas por variações químicas, microbiológicas ou por perda de integridade de reservatórios ou tubagens. Se não houver uma correta limpeza e desinfecção dos depósitos, vai haver acumulação de resíduos orgânicos e sólidos, que se tornam um substrato para as bactérias. É necessário fazer uma limpeza regular dos depósitos e tubagens com água adicionada a um produto desinfetante e desincrustante que permita eliminar microrganismos, mas também materiais que aí se depositam ao longo do tempo, impedindo uma boa passagem da água. As substâncias que ficam depositadas podem também servir de substrato para os microrganismos, para posterior formação de um biofilme que os protege dos desinfetantes.

A análise microbiológica da qualidade da água mostra-se muito importante no controlo microbiano, pois foi observada a presença de microrganismos em explorações onde esta não era realizada ou a sua frequência era menor.

Todos os resultados obtidos para os coliformes totais foram iguais aos observados para a *E. coli*. No entanto, quando existe a presença de coliformes totais na água, esta nem sempre é de origem fecal, isto porque, estes microrganismos podem estar presentes no solo e/ou serem arrastados através das chuvas.

A presença de *Enterococcus* nas amostras de água indicam-nos que terá havido uma contaminação fecal mais remota. Apesar de não se multiplicarem na água, são bastante resistentes às condições ambientais, persistindo durante mais tempo no ambiente, nomeadamente nas águas. Estes dados podem ser úteis na indicação de uma contaminação mais antiga na água ou em qualquer recurso hídrico (WHO, 2008). A contaminação poderá dar-se no ponto de origem da água e posteriormente passar, através da canalização para toda a água da exploração.

O tratamento da água com agentes desinfetantes mostra-se ser, novamente, essencial para a manutenção da qualidade da água, já que nas explorações onde este não era realizado observaram-se *Enterococcus*. Estes microrganismos também foram detetados em explorações em que se utilizavam pastilhas de cloro. Porém, como este não é doseado de maneira eficiente,

poderá estar abaixo da concentração que será a ideal para neutraliza-los ou a carga microbiana poderá ter tido um aumento devido a uma maior pluviosidade.

A desinfecção da tubagem e depósitos deve ser realizada com agentes desinfetantes e com alguma frequência, de modo a a eliminar os microrganismos ou neutraliza-los para que não haja formação de biofilmes, deposição de matéria orgânica, algas e manter a integridade das tubagens. Nas explorações em que esta era realizada no fim de cada ciclo de produção, não se verificaram microrganismos, sugerindo que esta é a frequência ideal para a realização de limpeza e desinfecção dos depósitos e canalizações.

Apesar de serem realizadas análises regulares à água, na maioria das amostras positivas, pode ter ocorrido no intervalo dessas análises uma contaminação fecal mais remota, aliada a tratamentos à água insuficientes ou ineficazes.

A contagem de microrganismos totais não é um indicador específico de contaminação fecal. Uma elevada contagem de colónias ocorre sobretudo em locais de maior estagnação dos sistemas de distribuição de água, o que acontece em poços com baixa profundidade e maior diâmetro. Serve também para avaliar a eficácia da desinfecção. A maioria destes microrganismos não causa doenças em pessoas que estejam saudáveis, mas podem conduzir a alterações organoléticas na água.

Nas explorações em que era utilizada o peróxido de hidrogénio como agente desinfetante, a qualidade da água era bastante satisfatória.

Já nas explorações em que era utilizada o cloro este não é doseado de forma eficaz, o que conduz a uma não neutralização eficiente dos microrganismos.

Podemos assim sugerir que o tratamento com o peróxido de hidrogénio, apesar de ser um pouco mais dispendioso, é mais eficaz para o tratamento e manutenção da qualidade da água.

De acordo com os resultados obtidos existe uma necessidade de se realizar um tratamento adequado à água de abeberamento dos animais, para evitar uma possível contaminação, mantendo a qualidade da água com os parâmetros adequados para a saúde animal

9 - Considerações Finais

O tratamento das águas e o seu controlo microbiológico devem ser sempre efetuados nas explorações de produção intensiva de coelhos. A monitorização da qualidade da água é um fator de extrema importância na produção animal e não é difícil, mas depende muito também do empenho dos cunicultores. Estes deveriam fazer uma desinfeção periódica da água que garanta qualidade ao longo de todo o seu trajeto, com produtos que possam ser controlados e quantificados facilmente, tal como análises periódicas de qualidade, de modo a verificar se os seus tratamentos estão a ser os mais adequados.

Deveriam ser criados instrumentos legais sobre a qualidade e sobre os controlos microbiológicos das águas de consumo para espécies pecuárias.

Os resultados do presente estudo são muito favoráveis para as explorações cunícolas amostradas, revelando elevada qualidade microbiológica da água de consumo das explorações. A boa qualidade da água encontrada nas explorações poderá estar relacionada positivamente com as medidas profiláticas realizadas, nomeadamente as limpezas e desinfeções frequentes dos depósitos e tubagens e os tratamentos realizados à água continuamente, que nos parecem adequados.

Apesar do número reduzido de explorações amostradas julgamos serem representativas e os resultados extrapolados para a generalidade das explorações. Todavia, seria importante alargar a zona de estudo aumentando o número de explorações. Também seria importante a monitorização da qualidade da água ao longo do ano, para averiguar a variação ou manutenção da qualidade e tentar encontrar alturas críticas onde as análises deveriam ser realizadas.

10 - REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alves, C. (2010) Tratamento de águas de abastecimento. Pubindústria, Edições Técnicas, 3ª Edição, p. 5- 45.

Allioux, F. (2003) Tratamientos correctores de la calidad bacteriológica y química del agua. Boletim Cunicultura. Oct-Nov, nº 129,p. 1- 10.

Amaral, L., Nader, A., Rossi Junior O. D., Ferreira, FL., Barros, L.S. (2003) Drinking water in rural farms as a risk factor to human health. Revista de Saúde Pública, 37, p. 510- 514.

American Public Health Association. (1998). Standard methods for the examination of water and wastewater. 20th ed. Washington,d.c. p. 9-140.

Azevedo, R. (2008) Como criar coelhos. [S.l.]. Disponível em: <<http://www.zootecniabrasil.com.br/sistema/modules/smartsection/item.php?itemid=2>>. Acesso em: 16 mar. 2015.

Ayers, R. S., Westcott, D. W. (1994) Water quality for agriculture. Fao Irrigation And Drainage, p. 174

Bazzoli, N. (1993) O Uso da Desinfecção no Combate à Cólera. Apostila da Fundação Nacional de Saúde – Coordenação Regional de Minas Gerais. Recife: FNS/Opas

Borges A.F. (2007). Criação de coelho-bravo e perdiz vermelha em cativeiro. Biblioteca Agrícola Litex.

Camps J. (1995) “Le lapin est d’origine ibérique” Cuniculture nº22, p. 118-120.

Carvalho, R.C. (2008) Caracterização da produção cunícula nas regiões de Trás –os- Montes. Minho e Galiza. Tese de Mestrado. Engenharia Zootécnica. Universidade de Trás os Montes e Alto Douro, p. 182.

Carvalho, H. F. Recco-Pimentel, S. M. (2007) Moléculas importantes para a compreensão da célula e do seu funcionamento. In: A célula. 2. ed. São Paulo: Manole. cap. 2, p. 7-28

Cetesb (2010). Ciclo da água. Disponível em <<http://www.cetesb.sp.gov.br/Agua/rios/ciclo.asp>>. Acesso em 17 de Março de 2015.

Chaves, L. C. D. (2004) Estudo da cinética de formação de biofilmes em superfícies em contato em água potável. Dissertação (Mestrado em Tecnologia do ambiente). Universidade do Minho, p. 189.

Coelho, A.C. (2011), Qualidade da água nas explorações Cunículas. III Jornadas da ASPOC V Jornadas Internacionais de Cunicultura da APEZ, p. 21-26.

Coelho A.C., Pinheiro V. (2014) Características microbiológicas da água em cuniculturas do nordeste de Portugal. Livro de actas do 39 symposium da ASESCU, p. 37-39.

Coimbra, P.A.D. (2007) Aspectos extrínsecos do comportamento de bebida de bovinos em pastoreio. Dissertação de Mestrado em Agroecossistemas. Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, p. 103.

Colin M., Lebas F. (1996) “Rabbit meat production in the world. A proposal for every country” in Proc. 6th World Rabbit Cong., Toulouse, France, p. 323-330.

Conboy, M.J., Goss, M.J. (2000) Natural protection of groundwater against bacteria of fecal origin. J Contam Hydrol, 43, p. 1-24.

Connell, G. F. (1996) The Chlorination/Chloramination Handbook. AWWA. Denver, CO, p. 171.

Decreto-Lei nº 236/1998 de 1 de Agosto publicado em Diário da República — I Série -A nº 176, 3676.

Decreto-Lei 306/2007, de 27 de Agosto Disponível em/ <http://dre.pt/pdf1sdip/2007/08/16400/0574705765.pdf>. Acessado a 15 de Março de 2015.

Edberg S.C., Rice E.W., Karlin R.J., Allen M.J. (2000) “*Escherichia coli*: The Best Biological Drinking Water Indicator for Public Health Protection” J. Appl. Microbiol. nº 88, p. 106-116.

Efstratiou, M.A. (2001) Managing Coastal Bathing Water Quality: The Contribution of Microbiology and Epidemiology. *Marine Pollution Bulletin*. 37(6): p. 425-432.

Eshborn (1985) “A compendium of rabbit production appropriate for conditions in developing countries” Deutsche Gesellschaft fur Technische Zusammenarbeit (GTZ) BmbH, Federal Republic of Germany, p. 9-12.

Evangelista-Barreto, N. S., Vieira, R. H. S. Dos F., Lima, E A., Sousa, D. B. R.; Nunes, V. V. F., Rodrigues, D. dos P. (2006) Avaliação microbiológica de águas de lagoa e açude em Fortaleza, CE e sua relevância em saúde pública. *Revista Higiene Alimentar*, São Paulo, v. 20, n. 139, p. 99-103.

Ferreira W.F.C, Sousa J.C.F., Lima N. (2010) “Microbiologia” Lidel-Edições técnicas Lda, Lisboa, p. 506-522.

Finzi A., Valentini A., Filippi G. (1992) “Alimentary, excretory and motorial behaviour in rabbit at different ambient temperatures” *Journal Applied Rabbit Research* nº15, p. 732-738.

Franco, B. D. G. De M.; Landgraf, M. (2006) Microrganismos patogênicos de importância em alimentos. In: *Microbiologia dos alimentos*. São Paulo: Atheneu, cap. 4, p. 33-82.

Freitas, M. B., Brilhante, O. M.; Almeida, L. M. (2001) Importância da análise de água para a saúde pública em duas regiões do estado do Rio de Janeiro: enfoque para coliformes fecais, nitrato e alumínio. *Cad. Saúde Pública*, Rio de Janeiro, v.17, p. 651-660.

Frymus T., Bielecki W., Jakubowski T. (1991) “Toxigenic *Pasteurella multocida* in rabbits with naturally occurring atrophic rhinitis” *Zentralbl Veterinarmed B.* n°38, p. 265-268.

Fujioka R., Sian-Denton C., Borja M., Castro J., Morphey K. (1999) “Soil: the environmental source of *Escherichia coli* and enterococci in Guam’s streams” *Journal of Applied Microbiology Symposium Supplement* n°85, p. 83-89.

Gama A., (2010) Módulo 5 – Sanidade e Saúde Pública. Coelho bravo: lesões. Curso de Formação Avançada Actividade Cinegética. Utad. Vila Real.

Greghi, S. Q. (2005) Avaliação da eficiência de métodos rápidos usados para detecção de coliformes totais e coliformes fecais em amostras de água, em comparação com a Técnica de Fermentação em Tubos Múltiplos. Tese de Mestrado. Faculdade de Ciências Farmacêuticas, p. 104.

Garrity, G. M.; Boone, D. R.; Castenholz, R. W. (2001) *Bergey’s manual of systematic bacteriology*, 2 ed., Hardcover, p. 721.

Giombelli, A., Rech, H., Torres, V.S. (1998) Qualidade microbiológica da água proveniente de poços e fontes de dois municípios da região do Alto Uruguai Catarinense. *Hig. Alim.*, v.12, p. 49-51.

INE (2008) “Estatísticas Agrícolas 2007” Instituto Nacional de Estatística, Lisboa, Portugal, p. 1-115.

IRAR (2007) “Desinfecção da Água destinada ao consumo humano” Recomendação IRAR n°05.

Kistemann, T. Classen, T., Koch, C., Dangendorf, F., Fischeder, R., Gebel, J., Vacata, V., Exner, M. (2002) Microbial load of drinking water reservoir tributaries during extreme rainfall and runoff. *Applied and environmental microbiology*. 68: 5, p. 2188-2197.

Kuhnert, P.; Boerlin, P.; Frey, J. (2000) Target genes for virulences assessment of *Escherichia coli* isolates from water, food and the environment. *FEMS Microbiol. Rev.* v. 24, p. 107-117.

Lebas F., Matherom G, (1982) “Livestock Production Perspectives and prospects VIII Rabbits” *Livestock production science* n°9, p. 235-259.

Lebas F., Coudert P., Rouvier R., Rochambeau H. (1986) “Reproduction and environment, I The rabbit husbandry, health and production” *Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Animal Production and Health Series* n° 21, p. 60-62.

Lebas F., Coudert P., Licois D. (1997), “Une nouvelle pathologie ravage les élevages : la profession se mobilise”, *Cuniculture* n°24, p. 225-229.

Lebas F., Colin M. (2000) “Production et consommation de viande de lapin dans le monde estimation en l’an 2000” I Jornadas Internacionais de Cunicultura, Vila Real, Portugal, p. 3-12.

Lima, E. B. N. R. (2001) “*Modelação integrada para gestão da qualidade da água na bacia do rio Cuiabá*”, Tese de Doutoramento. Universidade Federal Rio de Janeiro, p. 206.

Macêdo, J. A. B. (1997). Determinação de trihalometanos em águas de abastecimento público e indústria de alimentos. Viçosa. Dissertação. Universidade Federal de Viçosa, p. 90.

Manafi, (2000) M. New developments on chromogenic and fluorogenic culture media Int. J. Food Microbiol., v. 60, p. 205-218.

Manzano, J., Torres, A. (2005) La instalacion del agua en las granjas de conejos. Boletim de Cunicultura. Mar- Abr 2005, nº 138, p. 1-10.

Marino, C.T. (2006) Água na produção animal. Macal Nutrição Animal, Informe Técnico. Disponível em <<http://www.macal.com.br/uploads/1719242139.doc>>. Acesso em 21 de Fevereiro de 2015.

Mateo A.C. (2004) “Passado, presente y futuro de la cunicultura” Revista Boletín de Cunicultura Jan-Fev 2004 nº 131, p. 6-11.

Melo, S.K. DE. (2006) Fatores de virulência e resistência a antibióticos em amostras de *Escherichia coli* isoladas de lagoas do Parque Estadual do Rio Doce, Minas Gerais. Ouro Preto. Departamento de Engenharia Ambiental, UFOP. P. 98.

Merck products. Disponível em: <<http://pb.merck.de/>>. Acesso em: 13 jan. 2015.

Michelina, A. De F., Bronharoa, T. M.; Daréb, F., Ponsanoc, E. H. G. (2006) Qualidade microbiológica de águas de sistemas de abastecimento público da região de Araçatuba, SP. Revista Higiene Alimentar, São Paulo, v. 20, n. 147, p. 90-95.

Moretti, L. R. (2008) Apostila. Curso de Especialização em gerenciamento Ambiental (CEGEA). Piracicaba, p. 30.

Mourão J.L.M. (2003) “Produção de Leporídeos: O coelho em zootecnia” Série Didática nº 217, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, p. 62-63.

Mourão J.L.M., Pinheiro V.M.C. (2004) “Produção de carne em cunicultura” Série Didáctica nº 257, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, p. 103.

Neyens E., Baeyens J. (2003) “A review of classic Fenton’s peroxidations as an advanced oxidation technique” Journal of Hazardous Materials nº98, p. 33-50.

Oliveira, C. E. A, 2009. Dietas simplificadas na alimentação de coelhos e seus efeitos na reprodução e produção. Tese Doutorado. Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária, p. 91.

Okura, M. H.; Siqueira, K. B. (2005) Enumeração de coliformes totais e coliformes termotolerantes em água de abastecimento e de minas. Revista Higiene Alimentar, São Paulo, v. 19, n. 135, p. 86-91.

Palhares, J.C. P. (2005). Qualidade da água para suínos e aves. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária; Embrapa suínos e aves, p. 6.

Parsekian, M. P.S. (1998) Análise e proposta de formas de gerenciamento de estações de tratamentos de águas de abastecimento completo em cidades de porte médio do estado de São Paulo. Dissertação (Mestrado em Hidráulica e Saneamento) Universidade de São Paulo, p. 194

Pereira S. (2000) “Organização da Produção em Portugal” Livro de Comunicações das I Jornadas Internacionais de Cunicultura, p. 5-45.

Pinheiro V., Mourão J.L., (2004) Tratamentos e Profilaxia Sanitária e Patologia em Cunicultura. Apontamentos das aulas. UTAD, Vila Real.

Pinho, J. (2001). Produção e resultados de gestão técnica em Portugal. I Symposium Iberico de Cunicultura. Aveiro, Portugal, p. 11-14.

Poeta P. (2010). Módulo 5 – Sanidade e Saúde Pública. Doenças infecciosas e parasitárias em animais domésticos. Curso de Formação Avançada Actividade Cinegética. UTAD. Vila Real.

Póvoas, M. J. C. (2012) Água: Qualidade e Tratamento: Manual do Professor, p. 52.

Quinteiro, M., Coelho, A.C., Pinheiro, V. (2015). Calidad del agua de bebida en granjas cunículas del nordeste de portugal. Livro de actas del *xl simpósio de cunicultura da ASESCU*, p. 82-87. (póster).

Reasoner, D. J., Geldreich, E. E. (1985) A new medium for the enumeration and subculture of bacteria from potable water. Applied and Environmental. Microbiology, v 49, p. 1-7.

Rego, D.P.A., (2012) Monitorização da qualidade microbiológica das águas em explorações cunículas e estudo sobre manipulação da flora entérica em coelhos. Relatório Final Estágio. ICBAS. Porto, p. 58.

Ribeiro, L. (2008) Aplicação de Dióxido de Cloro como Alternativa para Desinfecção de Esgotos Sanitários Tratados Através de Lagoas de Estabilização. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) – Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental. Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis.

Rios, D. M (2011) Manual de cunicultura. Trabalho acadêmico (Graduação em Engenharia Agrônômica) – Universidade do Estado da Bahia, Barreiras, p. 46.

Rossel J.M., Badiola J.I., de La Fuente L.F., Carmenes P. (1992) “Rhinitis of the domestic rabbit. An epidemiological survey during the period 1986-1991” J. Applied Rabbit Res. n°15, p. 1382-1388.

Rosell-Pujol JM. (2000) Enfermedades del conejo. Tomo I. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid, Espanha, p. 41-263.

Rossi G., Stanzel C., Witte W. (1995) “*Staphylococcus aureus* infections in the rabbit and the transmission of the pathogens with the sperma” Proc. Arbeitstagung über Haltung und Krankheiten der Kaninchen n°9, Pelztier und Heimtiere, Celle, p. 251-257.

Ruiz J., Camps J., Tudela F., Garreau H. (2001) “Incidência del añadido de um reposa patas sobre la produccion de las conejas” I Symposium Iberico de Cunicultura, Aveiro, Portugal, p. 168-173.

Sandford J.C. (1987) “Manual do Criador de Coelhos” Editorial Presença, Lisboa, p. 215.

Silva A. (2002) “Controle Ambiental em Cunicultura Industrial” II Jornadas Internacionais de Cunicultura, Vila Real, Portugal, p. 103-110.

Silva, N., Silveira, N. F. A., Junqueira, V. C. A., Catanúsio Neto, R. (2000) Manual de métodos de análise microbiológica da água. Campinas: ITAL/ Núcleo de Microbiologia, (Manual Técnico), p 99.

Simões, J. (2008) Medicina de Produção- Módulo Leporídeos. Mestrado Integrado Medicina Veterinária. UTAD. Disponível em www.veterinária.com.pt. Acesso em 23 de Fevereiro de 2015.

Smith, R.S.; Iglewski, B.H. (2003) *P.aeruginosa* quorum-sensing systems and virulence. Curr. Opin. Microbiol, v.6, n.1, p.56-60.

Souza, L.C. (1983) Bactérias coliformes totais e coliformes de origem fecal em águas usadas na dessedentação de animais. Revista Saúde Pública, São Paulo: v.7, p.112-22.

Souza A.L.P., Kawano M., Martins M.L., Handa E.M. (2008) “Toxicologia dos Trihalometanos formados em Águas de Abastecimento” VI Semana de Estudos da Engenharia Ambiental, Campus Irati.

Standard methods for the examination of water and wastewater (2012). 22 ed. part 9000. American Public Health Association. Washington, p. 9-110.

Stukel, T.A., Greenberg, E.R., Dain, B.J., Reed, F.C., Jacobs, N.J. (1990) A longitudinal study of rainfall and coliform contamination in small community drinking water supplies. Environ Sci Technol, 24, p. 571-5.

Tortora, G. J. (2012) Microbiologia. 10.ed. Porto Alegre, RS: Artmed, p. 157.

Tucci, C. E. M.; Cabral, J. J. S. P. (2003) Qualidade da água subterrânea. Porto Alegre: IPH/UFRGS; Recife: CT/UFPE, p 53.

Vaerewijck, M. J. M., Huys, G., Palomino, J. S., Portaels, F. (2005) Mycobacteria in drinking water distribution systems: ecology and significance for human health. FEMS, Microbiology Reviews. v29, p. 911- 934.

Van Rooij P., Detandt M., Nolard N. (2006) “*Trichophyton mentagrophytes* of rabbit origin causing family incidence of kerion: an environmental study” Mycoses n°49, p. 426-430.

WHO (World Health Organization) (2008) “Guidelines for Drinking-water Quality” Incorporating 1st and 2nd Addenda, Volume 1, Recommendations, 3rd ed., Geneva, Switzerland.

Xiccato G., Trocino A. (2007) “Italy, a system of integrated rabbit production” Livro de Comunicações do II Congresso Ibérico de Cunicultura, p. 175-184

ANEXOS

ANEXO 1- INQUÉRITO REALIZADO AOS CUNICULTORES

Nome:

Localização

- 1- Há quanto tempo tem a exploração cunícola/ data de instalação
- 2- Dimensão da exploração: número de inseminações realizadas
- 3- Existem outras explorações nas imediações da cunicultura?
 - a. A que distância
- 4- De onde provém a água fornecida aos animais?
 - Furo/ Poço/ Rede pública
- 5- É armazenada em algum depósito(s)? Quantos?
- 6- A água passa por que tipo de tubagem desde que sai da origem até à cunicultura?
- 7- É realizado algum tratamento à água? Se sim, que tipo de tratamento e com que periodicidade?
- 8- São realizadas análises microbiológicas/ químicas à água consumida pelos coelhos?
 - a. Sim, quais os parâmetros analisados?
 - b. Com que periodicidade
 - c. Resultados habituais
- 9- A água é utilizada como meio para a administração de algum fármaco aos coelhos?
 - a. Desparasitante; antibiótico, outros
- 10- Periodicidade da limpeza dos depósitos
- 11- Periodicidade da limpeza das tubagens
- 12- Que produtos são usados para a limpeza dos depósitos e tubagens

ANEXO 2 - ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DA ÁGUA PARA CONSUMO

Material

- Meio de Endo agar
- Meio de Slanetz agar
- Meio de kanamicina
- Meio de Plate Count Agar (PCA)
- Caldo verde brilhante
- Água triptonada
- Reagente de Kovacs
- Banho-maria
- Estufas a 22°C, 37°C e a 44°C
- Zaragatoas
- Pinças
- Pipetas
- Câmara de fluxo laminar
- Rampas de filtração
- Filtros
- Bomba de vácuo
- Lamparina
- Álcool a 96°
- Algodão hidrófilo

Metodologia

Recolha de amostras para análise microbiológica

- Utilizar um frasco esterilizado, com um volume de 500 ml.
- Realizar a recolha da amostra em condições de assepsia de acordo com as condições específicas do local.
- Abrir a torneira e deixar correr a água durante alguns minutos. Fechar a torneira e limpá-la com algodão embebido em álcool. A seguir flamejar a torneira. Abrir o frasco de amostragem e encher com água.
- É importante que a análise seja efetuada no próprio dia da recolha da água. Nos dias de verão, é aconselhável o transporte das amostras em mala térmica, equipada com termoacumuladores, para evitar crescimento microbiano entre o momento da recolha e da análise da amostra.

Recolha de amostras para análise microbiológica a partir de depósitos

1. Lavar e desinfetar as mãos (ou usar luvas estéreis);
2. Segurar o frasco numa zona perto da sua base e mergulhá-lo na massa de água com a boca virada para baixo. Deve mergulhar-se até cerca de metade da altura da coluna líquida ou pelo menos até cerca de 20 cm abaixo da superfície da água;
3. Virar o frasco até que o gargalo aponte ligeiramente para a superfície e a boca esteja voltada contra a corrente. Se não existir qualquer corrente (por exemplo, no caso de um reservatório) empurrar o frasco horizontalmente;
4. Recolher a amostra e fechar imediatamente o frasco;
5. Seguir os passos indicados para a água recolhida de uma torneira.

Contagem total de microrganismos – Técnica de incorporação

Metodologia

- Colocar o meio de PCA em banho-maria a 45°C até à sua utilização.
- Agitar vigorosamente a amostra até completa homogeneização.
- Introduzir 1 ml da amostra (ou de diluições decimais, no caso de água poluída) numa placa de Petri vazia e adicionar 10 ml de meio PCA a 45°C (condições de assepsia). Fazer em duplicado.

-Agitar cuidadosamente as placas, com suaves movimentos rotativos, até completa homogeneização do meio com a amostra e deixar solidificar.

- Incubar uma placa a 22°C e outra a 37°C.

- No final da incubação, contar todas as colónias formadas com o auxílio de um contador.

Interpretação dos resultados

A água própria para consumo humano não deve apresentar um número de colónias superior a 100 após incubação a 22°C e um número de colónias superior a 20 após incubação a 37°C.

Pesquisa de *Escherichia coli* e de outras bactérias coliformes fecais

Metodologia

-Agitar vigorosamente a amostra até completa homogeneização.

-Proceder à esterilização e montagem do conjunto de filtração.

-Com o auxílio de uma pinça previamente mergulhada em álcool e flamejada, colocar uma membrana estéril (filtro de porosidade 0.45µm) entre o copo de filtração e o seu suporte, com o retículo virado para cima.

-Introduzir 100 ml de água a analisar no copo de filtração e filtrar, utilizando uma bomba de vácuo.

-Após a filtração, retirar a membrana com uma pinça esterilizada e colocá-la sobre o meio de Endo agar na placa de Petri, na estufa a 44°C durante 24 horas.

-Observar a presença de colónias vermelhas metalizadas e vermelho escuro.

-Inocular estas colónias em caldo verde brilhante com tubo de Durham.

-Inocular as colónias em água triptonada.

-Colocar a 44°C em banho-maria durante 24 horas.

-Após as 24 horas observar a presença de turvação no caldo verde brilhante e presença de gás.

-Adicionar 2 gotas de reagente de Kovacs para confirmar a presença de coliformes fecais.

Pesquisa de coliformes totais

Metodologia

-Repetir o procedimento anterior até à filtração.

-Colocar uma placa com o meio de Endo na estufa a 37°C durante 24 horas.

-Verificar de houve crescimento. Em caso positivo inocular estas colónias em caldo verde brilhante com tubo de Durham, a 37°C durante 24 horas.

-Após a s 24 horas observar a presença de turvação no caldo verde brilhante e presença de gás.

Pesquisa de estreptococos fecais ou enterococos

Metodologia

-Repetir o procedimento anterior até à filtração.

-Colocar uma placa de Slanetz na estufa a 37°C durante 24-48 horas.

-Se houver crescimento repicar a colónia (colónia rosa escuro ou acastanhada) para o meio de canamicina agar e colocar na estufa a 37°C durante 4 horas.

- Confirmação através da presença de colónias negras.

Este método pode ainda ser realizado colocando diretamente o filtro da placa de Slanetz no meio de canamicina ou passando 100 ml de água a testar pelo filtro e colocando diretamente no meio de canamicina.

ANEXO 3- MEIOS UTILIZADOS

Meio Slanetz

Meio usado para a identificação e pesquisa de estreptococos fecais. Estes, quando presentes, reduzem o cloreto de tetrazolium presente no meio, a formazona que vai ser responsável pela coloração avermelhada das colónias. A azida sódica, outro componente do meio, vai inibir o desenvolvimento de outros microrganismos. Para a preparação deste meio, começa-se por pesar o meio desidratado e suspende-se o mesmo em água destilada. De seguida deve-se ferver o meio até à completa dissolução deste e não vai a autoclavar. Em ambiente de assepsia, deve distribuir-se o meio por placas de Petri identificando-as e datando-as. Quando estas atingirem a temperatura ambiente devem ser arrumadas no frigorífico.

Meio Endo

O meio Endo é um meio usado para a diferenciação e identificação de bactérias coliformes baseadas na fermentação da lactose água usando o método de filtração por membrana. É possível retirar bactérias de líquidos passando-as através de filtros com poros de tamanhos pequenos nos quais as bactérias são retidas. Esta técnica de filtração permite a passagem rápida de grandes volumes de água através da pressão negativa, mas impede a passagem de qualquer bactéria presente no líquido.

Meio Plate Count Agar

Este é o meio usado para a enumeração da flora aeróbia total das águas. O crescimento dos microrganismos é favorecido pelas substâncias nutritivas presentes neste meio. O seu modo de preparação passa por pesar a quantidade indicada pelo fornecedor e suspender o meio em água destilada. Distribui-se o meio preparada em frascos de 500mL e leva-se a esterilizar em autoclave a 121°C durante 15 minutos. Por fim, identificam-se os frascos, marca-se a data e arruma-se no frigorífico depois de atingir a temperatura ambiente.