

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

**Sobrevivência de microrganismos mesófilos e
perfil físico-químico
em estação de tratamento de dejetos suínos.**

Verônica Schmidt

PORTO ALEGRE

2002

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

**Sobrevivência de microrganismos mesófilos e
perfil físico-químico
em estação de tratamento de dejetos suínos.**

Verônica Schmidt*

Tese apresentada ao programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da UFRGS com um dos requisitos para obtenção do grau de Doutor na área de bacteriologia.

Orientadora: Prof.a Dra. Marisa Ribeiro de
Itapema Cardoso

PORTO ALEGRE

2002

* Médica Veterinária

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

Verônica Schmidt

**Sobrevivência de microrganismos mesófilos e
perfil físico-químico
em estação de tratamento de dejetos suínos.**

Tese apresentada como requisito parcial para a obtenção do grau de Doutor no Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, pela comissão formada pelos professores:

Prof.a. Dr. Marisa Ribeiro de Itapema Cardoso
Orientadora e Presidente da Comissão

Prof.a. Dra. Carla Cristine Lange
Membro da Comissão

Prof. Dr. Marco Antônio Zachia Ayub
Membro da Comissão

Prof.a. Dra. Sueli Van der Sand
Membro da Comissão

Porto Alegre, 21 de junho de 2002

À Julia Kaori

AGRADECIMENTOS

Meu doutoramento chega ao final, após uma longa jornada. Iniciado em agosto de 1993 junto a FFFCMPA, foi interrompido pela minha viagem ao Japão e o nascimento da Julia Kaori. Uma vez que aquele curso não foi reconhecido pela CAPES, em 1998 ingressei neste PPGCV. Um projeto de tese foi desenvolvido durante 94 e 95, o qual foi ampliado em 98 e fez parte da primeira fase da minha qualificação. Entretanto, um novo projeto de tese foi iniciado em 99, resultando neste trabalho.

Feita esta pequena introdução, é possível entender meu agradecimento à minha orientadora, Marisa, que esteve comigo durante esta "Longa jornada". Não somente como orientadora, mas como colega, amiga e pesquisadora, ela é um exemplo a ser seguido. Posso resumi-lo dizendo: "é assim que eu quero ser quando crescer!"

Muitas pessoas, às quais eu gostaria de agradecer, participaram desta fase da minha vida, direta ou indiretamente. Entretanto, é impossível nominá-las todas. Por outro lado, algumas merecem um agradecimento especial: Carina e Kati - co-autoras do trabalho; Marjo e Sandra - parceiras de orientação; Ge, Pati, Re, Si, Nad, Luis, Lucas, Jalu e Ale - companheiros (e sobreviventes) no laboratório da Preventiva.

À Sadia S.A., em especial à Mônica, por oportunizar a realização deste trabalho.

À Epagri, por disponibilizar os dados meteorológicos.

A todos os professores, às gurias do PG e aos amigos que, de alguma forma, estiveram presentes.

Aos meus pais, Erna e Helvino, e todos da família, por acreditarem que seria possível.

À Julia, por ter suportado minha ausência e mau humor e, mesmo assim, aceitar que valeria a pena.

SUMÁRIO

Lista de tabelas	6
Lista de figuras	7
Resumo	9
Abstract	11
Capítulo 1	Introdução	13
Capítulo 2	Material e Métodos Gerais	37
Capítulo 3	Perfil físico-químico e microbiológico de uma estação de tratamento de dejetos suínos.....	43
Capítulo 4	Resistência a antimicrobianos de amostras de <i>Escherichia coli</i> isoladas em estação de tratamento de dejetos de suínos.....	60
Capítulo 5	Sobrevivência e perfil de resistência a antimicrobianos de <i>Salmonella</i> sp. isoladas em um sistema de tratamento de dejetos de suínos.....	78
Capítulo 6	Caracterização da microbiota mesófila isolada em estação de tratamento de dejetos de suínos.....	94
Capítulo 7	Discussão Geral	107
Bibliografia	113
<i>Curriculum vitae</i>	120

LISTA DE TABELAS

TABELA 3.1:Valores médios das variáveis físico-químicas Demanda Bioquímica de Oxigênio, Demanda Químico de Oxigênio, sólidos totais, sólidos solúveis totais, sólidos voláteis, sólidos solúveis voláteis, fósforo total, ortofosfato, nitrogênio total, nitrato, nitrito, amônio e pH amostradas em seis pontos (P1, P3, P9, P10,P11 e P14) de um sistema de tratamento de dejetos suínos, no período de junho de 1999 a maio de 2000.....	58
TABELA 3.2: Valores da Correlação de Pearson (r) das variáveis físico-químicas Demanda Bioquímica de Oxigênio, Demanda Químico de Oxigênio, sólidos totais, sólidos solúveis totais, sólidos voláteis, sólidos solúveis voláteis, fósforo total, ortofosfato, nitrogênio total, nitrato, nitrito, amônio e pH amostradas em um sistema de tratamento de dejetos suínos, no período de junho de 1999 a maio de 2000.....	59
TABELA 4.1: Comparação do número de amostras resistentes a antimicrobianos, isoladas no afluente (P1) e efluente (P14) de um sistema de tratamento de dejetos suínos.....	73
TABELA 6.1: Número médio, mínimo e máximo de unidades formadoras de colônias por mL de dejetos liquefeitos em sete pontos (PA, P1, P3, P9, P10, P11 e P14) de um sistema de lagoas interligadas para o tratamento de dejetos suínos em duas estações climáticas (primavera/verão e outono/inverno), no sul da Brasil.....	105
TABELA 6.2: Número de tipos coloniais diversos (S), Diversidade (D) e Equitabilidade (E) médias de sete pontos de amostragem (PA a P14) de um sistema de lagoas interligadas para o tratamento de dejetos de suínos.....	116

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 2.1: Vista aérea do sistema de tratamento de dejetos suínos da Empresa Sadia S.A., em Faxinal dos Guedes/SC, com indicação dos pontos amostrados.....	41
FIGURA 2.2: Representação esquemática de sistema de tratamento de dejetos suínos.....	42
FIGURA 3.1: NMP mínimo, médio e máximo, transformado em Log 10, de coliformes totais (CT) e fecais (CF) em seis pontos (P1 a P14) de um sistema de tratamento de dejetos suínos, no período de junho de 1999 a maio de 2000.....	56
FIGURA 3.2: Valores médios, transformados em Log 10, do Número Mais Provável (NMP) de Coliformes Totais (CT) e Coliformes Fecais (CF), em duas estações climáticas (primavera/verão e outono/inverno) em seis pontos (P1, P3, P9, P10, P11 e P14) de um sistema de tratamento de dejetos suínos, no período de junho de 1999 a maio de 2000.....	57
FIGURA 4.1: Resistência antimicrobiana (%) de 186 amostras de <i>Escherichia coli</i> isoladas em diferentes pontos de um sistema de tratamento de dejetos suínos.....	74
FIGURA 4.2: Dendrograma do perfil antimicrobiano de 86 amostras de <i>Escherichia coli</i> isoladas após tratamento físico de um sistema de tratamento de dejetos suínos, determinado através da medida Euclidiana. Os seis grupos (A1 a A6) foram definidos na distância Euclidiana de 2,0.....	75
FIGURA 4.3: Dendrograma do perfil antimicrobiano de 25 amostras de <i>Escherichia coli</i> isoladas de lagoa anaeróbia um sistema de tratamento de dejetos	

suínos, determinado através da medida Euclidiana. Os seis grupos (B1 a B6) foram definidos na distância Euclidiana de 2,0.....	76
FIGURA 4.4: Dendrograma do perfil antimicrobiano de 75 amostras de <i>Escherichia coli</i> isoladas de lagoas facultativas e aeróbias de um sistema de tratamento de dejetos suínos, determinado através da medida Euclidiana. Os sete grupos (C1 a C7) foram definidos na distância Euclidiana de 2,0.....	77
FIGURA 5.1: Número de coletas com isolamento de <i>Salmonella</i> sp. dentre 20 realizadas em sete pontos de um sistema de lagoas interligadas para o tratamento de dejetos de suínos.....	91
FIGURA 5.2: Resistência antimicrobiana (%) de 161 amostras de <i>Salmonella</i> Typhimurium isoladas em diferentes pontos de um sistema de tratamento de dejetos suínos.....	92
FIGURA 5.3: Dendrograma do perfil de resistência antimicrobiana de 161 amostras de <i>Salmonella</i> Typhimurium determinadas através da medida Euclidiana. Os clusters foram definidos na distância Euclidiana de 2,0.....	93
FIGURA 6.1: Mapa de quadrantes com áreas pré-determinadas construído para a coleta de colônias a serem caracterizadas.....	103
FIGURA 6.2: Características de colônias isoladas de diferentes pontos de um sistema de tratamento de dejetos de suínos (P1: n =223; P3: n = 242; PA: n = 243; P9: n = 228; P10: n = 213; P14: n = 220).....	106

S354s Schmidt, Verônica

Sobrevivência de microrganismos mesófilos e perfil físico-químico em estação de tratamento de dejetos suínos. / Verônica Schmidt - Porto Alegre: UFRGS, 2002.

120 f.; il. – Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Porto Alegre, BR-RS, 2002. Marisa Ribeiro de Itapema Cardoso, Orient.

1. Dejetos suínos. 2. Lagoas de estabilização 3. Microrganismos mesófilos (*Escherichia coli*, *Salmonella*, diversidade bacteriana) 4. Resistência antimicrobiana 5. Parâmetros físico-químicos I. Cardoso, Marisa Ribeiro de Itapema, Orient. II. Título.

CDD 616.07581

Catálogo na fonte preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina Veterinária da UFRGS

RESUMO

As variáveis físicas, químicas e microbiológicas de um sistema de lagoas interligadas para o tratamento de dejetos suínos foram avaliadas. O sistema, composto por sete lagoas em séries (duas anaeróbias, uma facultativa, uma com aeração mecânica e três aeróbias), está localizado no sul do Brasil e recebe dejetos de cerca de 4.000 matrizes e 30.000 suínos em crescimento e terminação. Foram realizadas 20 coletas quinzenais, em sete pontos ao longo do sistema de tratamento.

Verificou-se a existência de diferença significativa ($p < 0,05$) na quantidade de fosfato (PO_4), nitrato (NO_3), fósforo total (PT), sólidos totais (ST) e sólidos voláteis (SV) entre os pontos iniciais do sistema, os quais são anteriores ao tratamento propriamente dito, e as demais fases do processo. A maior redução dos parâmetros analisados ocorreu após as lagoas anaeróbias, havendo uma contínua diminuição dos mesmos no decorrer do processo ($p < 0,05$). As reduções observadas foram de 97,5% para Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO), 97,2% para Demanda Bioquímica de Oxigênio (DQO), 74,8% PO_4 , 91,2% NO_3 , 70% PT, 77,4% ST, 86,7% SV, 99% de Coliformes Totais (CT) e 99% de Coliformes Fecais (CF) comparando-se os valores médios no início e no final do sistema. O sistema demonstrou, ainda, ser eficaz no controle de *Salmonella* sp. Das 20 coletas realizadas, foi possível isolar *Salmonella* sp. em 13 coletas no ponto correspondente ao início do sistema de tratamento e em apenas uma no ponto final do mesmo. Ao lado disto, verificou-se modificação da microbiota mesófila aeróbia ao longo do sistema onde, no afluente predominaram microorganismos Gram negativos com características de enterobactérias e no efluente, cocos Gram positivos catalase negativos. Entretanto, não houve redução significativa no número de unidades formadoras de colônias de mesófilos aeróbios ao longo do sistema. Das 161 amostras de *Salmonella* Typhimurium e 186 amostras de *Escherichia coli* isoladas, determinou-se o perfil de resistência pelo método de difusão em ágar, usando 14 antimicrobianos. Observou-se resistência contra sulfonamida (99,5% e 100%), tetraciclina (97,3% e 99,4%), ampicilina (96,8% e 76,4%), estreptomicina (96,2% e 90,1%), sulfa/trimetoprima (95,2% e 84,5%), ácido nalidíxico (82,8% e 77,6%),

cloranfenicol (70,4% e 29,2%), cefaclor (71,5% e 25,5%), neomicina (38,2% e 5%), gentamicina (37,1% e 6,2%), tobramicina (35,5% e 13,7%), ciprofloxacina (30,1% e 0%), amoxicilina/ácido clavulânico (11,8% e 5%) e amicacina (9,1% e 3,7%) para *E. coli* e *Salmonella* respectivamente, sendo que todas as amostras de *Salmonella* foram sensíveis à ciprofloxacina. A resistência a quatro ou mais antimicrobianos foi observada em 99,5% das amostras de *E. coli* e 94,5% das amostras de *Salmonella*. O padrão de multiresistência foi mantido ao longo do sistema, apesar de verificar-se uma tendência à menor resistência nas amostras de *E. coli* isoladas após a passagem pelas lagoas aeróbias. As amostras, tanto da afluyente como do efluente do sistema, apresentaram grande variabilidade nos perfis de resistência.

ABSTRACT

*Physical, chemical and microbiological parameters of a stabilization ponds system from a pig-breeding farm in South Brazil were evaluated. The slurry of 4,000 sows and 30,000 growers and finishers was received in the affluent of the system and undergone decomposition in seven serial stabilization ponds (two anaerobic lagoons, one facultative pond, one aerated lagoon, and three aerobic ponds). Samples (n=20) were taken, twice a month, in seven points of the system and submitted to physico-chemical and microbiological protocols. Comparing the affluent and the effluent samples, there was a statistic significant decrease ($P<0.05$) in the amount of phosphate (PO_4), nitrate (NO_3), total phosphorus (TP), total solids (TS) and volatile solids (VS) in the effluent. The greatest reduction was observed after the anaerobic lagoons, and this tendency of reduction was maintained through the subsequent pounds. The average reduction rate observed at the end of the system was 97.5% for BOD, 97.15% for COD, 91.18% for NO_3 , 86.67% for VS, 77.41 for TS, 74.84% for PO_4 , 70% for TP. Furthermore, an average reduction of 66% and 76.23% in the total and fecal coliforms counts, respectively, was observed. The stabilization ponds system proved to be efficient also in reduction of the *Salmonella* sp. population. In spite of the fact that *Salmonella* sp. was isolated from thirteen out of 20 affluent samples, only one of 20 effluent samples was positive. A different pattern of aerobic mesophilic bacteria was isolated in the effluent, compared to that found in the affluent of the system. In the affluent most bacteria showed characteristics similar to the family *Enterobacteriaceae*, while in the effluent predominated bacteria from the enterococci group. A reduction in total aerobic*

mesophilic bacteria counts could not be observed all over the system. The antibiotic resistance pattern of 186 *Escherichia coli* and 161 *Salmonella* Typhimurium isolates was evaluated. Strains were tested for their resistance against 14 antibiotics with the agar diffusion method. Resistance were found to sulfonamide (99.5% and 100%), tetracycline (97.3% and 99.4%), ampicillin (96.8% and 76.4%) streptomycin (96.2% and 90.1%), sulfamethoxazole/ trimethoprim (95.2% and 84.5%), nalidixic acid (82.8% and 77.6%), cefaclor (71.5% and 25.5%), chloramphenicol (70.4% and 29.2%), neomycin (38.2% and 5%), gentamicin (37.1% and 6.2%), tobramycin (35.5% and 13.7%), ciprofloxacin (30.1%), amoxicillin/clavulanic acid (11.8% and 5%) and amikacin (9.1% and 3.7%), respectively, in *E. coli* and *Salmonella* Typhimurium strains. All tested *Salmonella* strains were sensitive to ciprofloxacin. Most strains (99.5% of *E. coli* and 94.5% of *Salmonella*) were resistant to four or more antibiotics. The multi resistance pattern was found in strains isolated from all sampled points of the system, but a tendency of a lower resistance could be observed for *E. coli* strains after the aerobic lagoons. The antibiotic-resistance pattern of *E. coli* and *Salmonella* Typhimurium strains from both, affluent and effluent were highly variable.

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO GERAL

INTRODUÇÃO

A capacidade do suíno de transformar resíduos de origem vegetal e animal em proteínas de alto valor nutritivo para o homem, tornou a atividade atraente e fez com que as formas de criação se tornassem extremamente intensivas (Kieckhöfer, 1995).

A suinocultura no Brasil é contemporânea do movimento colonizador português já na época do descobrimento. A partir da década de 50, com a importação de animais, aprimorou-se a genética dos animais, as instalações, os equipamentos, a qualidade dos insumos e o nível sanitário (Crestani, 1995).

O Brasil tem na suinocultura um dos setores mais expressivos de sua atividade pecuária. Isto deve-se não só pelo fato dela representar algo em torno de 20% do valor bruto de produção, mas também pela sua importância social, em virtude da mão-de-obra que emprega. Cerca de 46,5% das 5,8 milhões de propriedades rurais de nosso país possuem suínos (Oliveira, 1993).

Excetuando-se a avicultura, poucas atividades estão apresentando, nos últimos tempos, um desenvolvimento tecnológico equivalente ao conseguido pela suinocultura. A busca de uma maior produtividade, na tentativa de minimizar os custos de produção, está levando o setor a sofrer alterações significativas nos seus sistemas de criação. Dessas alterações está resultando o surgimento progressivo de uma nova tecnologia que está modificando substancialmente as instalações, manejo, alimentação, genética e a sanidade dentro dos complexos produtivos. Essa evolução tende a fazer com que o setor suinícola se torne mais competitivo na disputa de mercados consumidores e a tornar a atividade mais lucrativa para o criador.

Nos Estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná estão instalados aproximadamente 11,5 milhões de suínos, representando 1/3 do rebanho nacional. Particularmente no Estado de Santa Catarina concentra-se o maior rebanho nacional, de ordem de 4 milhões, em 28.000 propriedades. Na região Sul predominam propriedades pequenas, com tamanho inferior a 50 hectares, com sistemas de criações dos animais confinados, proporcionando produção centralizada e excessiva de dejetos (Belli Filho et al., 2000).

Todo criador de suínos deve possuir um programa racional de controle de dejetos, visando sua correta utilização devendo, para tanto, considerar cinco etapas: produção, coleta, armazenagem, tratamento, distribuição e utilização dos dejetos (na forma sólida, líquida ou pastosa) (Perdomo, 1999).

Entre os usos propostos para os dejetos encontram-se a aplicação no solo e alimentação animal (Oliveira, 1993). A prática de alimentar ruminantes com dejetos suínos está amplamente difundida nos países da América Latina. Os dejetos são separados por meios mecânicos ou manuais, mesclados com grãos e outros ingredientes como melação, chegando a substituir os grãos em 40% nas etapas de engorde (Espejo, 1998). Entretanto, a reciclagem de excreta animal em alimento pode resultar como potencial via de transmissão de doenças. Há poucas informações sobre a persistência de patógenos durante o tratamento deste material. O risco potencial parece estar associado ao aproveitamento da excreta como alimento, sem tratamento e de uma espécie animal para outras (Jones, 1980). O que poderia ser exemplificado com a proibição na Europa, a partir de julho de 1988, ao uso de qualquer fonte protéica de origem animal na alimentação de ruminantes como medida preventiva na disseminação da Encefalopatia Espongiforme Bovina - BSE (Cruz, 2002).

Quando utilizados como fertilizante, os dejetos de suínos usualmente são aplicados sobre o solo arável ou pastagens; podendo ser utilizados frescos, após estocagem ou tratamento. Os potenciais riscos pela utilização de dejetos animais estão relacionados aos métodos de tratamento destes e aplicação sobre o solo (Jones, 1980).

Considera-se que, a nível mundial, vertem-se diariamente mais de 800 milhões de metros cúbicos de águas residuais, lixo e restos orgânicos e inorgânicos aos corpos d'água. Isto ocasiona a deterioração e diminuição da produtividade de rios e oceanos e limita os usos que se podem dar a estes recursos (Chará, 1998).

1.1 Importância dos dejetos

1.1.1 Impacto ambiental da produção de dejetos

Os impactos ambientais acarretados pela ação antrópica são decorrentes das relações de ordem física, biológica, política, social, comercial, econômica, tecnológica e cultural mantidas entre organização e o ambiente que a circunscreve (Tauk- Tornisielo, 1997).

A contaminação é causada por venenos ou ser patogênico que, lançados na água, solo ou ar torna-os diferentes e nocivos em um tal grau que crie e ofereça riscos reais à saúde e à vida (Pádua, 1997).

A busca pela eficiência no sistema produtivo suinícola tem feito da suinocultura uma atividade com alto potencial contaminante sobre os recursos hídricos, solo e ar. Existem quatro fatores que se identificam como determinantes do impacto ambiental desta atividade: 1. O confinamento de grande número de animais em espaços reduzidos; 2. O desenvolvimento de uma suinocultura especializada, sem vínculos com a atividade agrícola; 3. Um sistema de alimentação com elevado conteúdo protéico, não assimilado pelo aparelho digestivo do suíno; 4. O ineficiente uso das águas nas granjas. É muito importante estabelecer os riscos diretos e indiretos sobre a saúde humana e animal e o impacto sobre o meio ambiente, relacionados à disposição inadequada dos dejetos sólidos e líquidos gerados nos estabelecimentos suinícola (Ascecalidad, 1998).

Nos sistemas modernos de produção animal, o processo de liquefação dos dejetos tem sido preferido por exigir menor esforço humano, ser compatível com a automação e possibilitar uma aplicação sobre o solo de forma mais uniforme do que os dejetos sólidos. Por outro lado, os sistemas liquefeitos podem causar severa poluição das fontes hídricas além da emissão de odores desagradáveis (Strauch, 1987).

A mescla de resíduos sólidos e líquidos carreados pela água de lavagem é conhecida como água residual; seus principais ingredientes são as fezes, urina, água, alimento desperdiçado, cama, solo e outras partículas (Espejo, 1998).

O lançamento de grandes quantidades de dejetos em rios e lagos pode levar a sério desequilíbrio ecológico e poluição, em função da redução do teor de oxigênio dissolvido na água, devido a alta demanda bioquímica de oxigênio (DBO), a qual representa a quantidade de oxigênio requerida pelas bactérias para estabilizar a matéria orgânica decomponível em condições aeróbias, e da carga orgânica integrante. A

redução do poder poluente a níveis aceitáveis requer investimentos significativos, sem a garantia, no entanto, do atendimento das exigências da Saúde Pública e à preservação do meio-ambiente (Oliveira, 1993).

Para mensurar o potencial poluidor da atividade pecuária, pode-se considerar que uma propriedade rural de 40 hectares que possua 50 vacas leiteiras e 50 porcas é potencialmente responsável por uma poluição equivalente a de uma comunidade com 1.000 habitantes; e é nos sistemas intensivos de produção animal, onde os dejetos são liqüefeitos, que ocorrem os maiores problemas (Hawkins, 1978).

Devido à carga orgânica dos dejetos suínos ser 200 vezes maior que a carga orgânica das águas residuais urbanas, seu despejo em rios, mananciais e lençol freático ocasiona problemas como a eutrofização. Com o esgotamento do oxigênio, desaparece a vida aquática. Igualmente, o alto conteúdo de amônia e nitratos gera toxicidade para os organismos do sistema aquático (Ascecalidad, 1998).

O uso de dejetos como fertilizante orgânico é um foco fundamental de atenção por seu alto potencial como contaminante de corpos aquíferos (Giraldo, 1998).

Quando o esterco líquido é aplicado em grandes quantidades no solo ou armazenado em lagoas sem revestimento impermeabilizante durante vários anos, poderá ocorrer sobrecarga da capacidade de filtração do solo e retenção dos nutrientes do esterco. Quando isto acontece, alguns destes nutrientes podem atingir as águas subterrâneas ou superficiais acarretando problemas de contaminação. A aplicação permanente de esterco líquido excessivamente diluído, ou a precipitação constante após cada aplicação do esterco, acelera o carregamento dos nutrientes para as camadas do solo. O fósforo contido no esterco líquido difunde-se mais rapidamente nos solos altamente arenosos do que o fósforo contido nos fertilizantes comerciais, pois a matéria orgânica do esterco favorece a solubilização dos fosfatos. Outra substância que precisa ser considerada sob o aspecto da proteção ambiental é o nitrato. Os teores de nitrato detectados no lençol freático de terras tratadas com altos níveis de esterco líquido durante vários anos (160 metros cúbicos/ha) foram dez vezes maiores que os encontrados nas terras não tratadas (Oliveira,1993).

A qualidade da água é a principal preocupação ambiental associada à produção de suínos e está basicamente associada aos compostos de nitrogênio orgânico presentes nos microorganismos e na matéria orgânica em decomposição (Gutiérrez; Tamayo, 1998).

Por isso, os ambientes aquáticos próximos às granjas de produção de suínos enfrentam sérios problemas de qualidade. Se não existir nenhum tratamento às águas servidas, estas são vertidas nas fontes próximas à granja, gerando um problema sério de contaminação e produção de odores (Maldonado, 1998).

Para Hamond (1972), há cinco princípios a serem seguidos para reduzir o risco potencial de poluição por sistema de produção animal. São eles: 1. As instalações de produção animal intensiva deveriam ser isoladas de recursos hídricos, visando a eliminação da contaminação por coliformes fecais; 2. Os efluentes de sistemas de produção devem ser eliminados através de um mecanismo de controle, para que não haja dispersão através de áreas de confinamento animal ou adjacentes, evitando, assim, a contaminação por aluvião; 3. Nos sistemas extensivos de produção animal, estes devem ser mantidos a uma distância mínima de 7,6 metros dos recursos hídricos, o que previne o contato direto dos animais com os recursos hídricos, minimizando a erosão e possibilitando filtração de parte do material potencialmente poluidor; 4. Pastagens para suínos devem ser mantidas permanentemente com cobertura vegetal, sendo que o número de animais não deve exceder 20 cabeças por acre; 5. Se o número de cabeças for maior que 20 suínos por acre, os dejetos carreados por aluvião deverão ser direcionados à uma lagoa para posterior tratamento.

É necessário um programa educacional que envolva todas as pessoas interessadas na preservação dos recursos hídricos. Produtores devem conhecer o que é qualidade de água e quais as implicações e responsabilidades da produção animal na poluição dos recursos hídricos pela incorporação de matéria orgânica e coliformes fecais. Água não contaminada é boa e necessária para a produção animal. Nós podemos alterar minimamente o ciclo da água. O suprimento primário de água está firmemente fixado, mas nós podemos conservar e administrar os recursos hídricos mantendo-os viáveis. É

nossa obrigação retornar as águas servidas aos rios, lagos e oceanos tão limpas quanto possível e com o mínimo de resíduos (Hamond, 1972).

1.1.2 Características físico-químicas dos dejetos de suínos

Os suínos consomem alimentos de alto valor protéico, no entanto, são ineficientes transformadores e desperdiçam uma alta porcentagem das proteínas e micronutrientes disponíveis nos grãos que formam parte importante das dietas convencionais da suinocultura moderna. Por esta razão, cerca de 1,3% da excreta fresca contém nitrogênio, fósforo e potássio, que são fertilizantes primários; outros 1,2% estão constituídos por fertilizantes secundários como cálcio, cloro, enxofre, sódio, etc. Considerando-se somente os sólidos excretados, quase 10% destes tem valor como fertilizante (Espejo, 1998).

O pH dos dejetos de suínos varia de 6,2 a 8,0 (com média de 7,4) (Jones, 1980) e a composição química média de resíduos líquidos (sólido + urina) não decompostos produzidos por suínos é a seguinte: 0,60% Nitrogênio, 0,25% Fósforo e 0,12% potássio (FAO, 1977 apud Oliveira, 1993). Os dejetos podem apresentar grandes variações na concentração de seus componentes, dependendo da diluição e da modalidade como são manuseados e armazenados, sendo que estes dejetos apresentam 75 – 85% de umidade e DBO de 0,20 – 0,25 mg/l (Oliveira, 1993).

1.1.3 Volume de dejetos produzidos na suinocultura

As taxas de excreção de fezes e urina dependem de vários fatores: idade, maturidade fisiológica, quantidade e qualidade do alimento ingerido, volume de água consumida, clima (Espejo, 1998) e manejo adotado.

Os suínos produzem em média 6,7 Kg de dejetos/dia/ 100 Kg de peso vivo (Oliveira, 1993) e, de uma forma geral, estima-se que a produção de dejetos de suínos é de 100 L/matriz/dia em granjas de ciclo completo, 60 L/matriz/dia em granjas de

produção de leitões e 7,5 L/cabeça/dia em granjas de produção de terminados (Perdomo, 1999).

1.1.4 Características microbiológicas dos dejetos suínos

Os agentes causais de quase todas as doenças infecciosas são excretados direta ou indiretamente pelo animal infectado. Alguns patógenos são excretados por animais clinicamente saudáveis, aqueles que possuem infecção latente e nos casos de doenças multifatoriais (Strauch, 1991). Em muitos casos os patógenos deixam o corpo do animal com as fezes, sendo encontrados no esterco presente em currais/ apriscos e nos dejetos liqüefeitos (Strauch, 1988).

Dentre os problemas provocados pelo despejo de efluentes de animais nos rios, estão as doenças causadas por coliformes, a salmonelose, a leptospirose, tularemia, febre aftosa, hepatite e a peste suína clássica. Alguns coliformes, como a *Escherichia coli*, manifestam certa patogenicidade para pessoas adultas e animais, podendo ser fatal para crianças (Oliveira, 1993). Entre os agentes disseminados pelos dejetos e que podem afetar diferentes espécies animais, a *Salmonella* sp. parece ser um dos mais importantes (Jones, 1980).

As salmonelas podem ser encontradas nos dejetos de sistemas de produção animal, clinicamente não suspeitos de doença (Jones, 1980; Strauch, 1991), por um curto período de tempo, enquanto o agente cruza o trato gastrointestinal dos animais sem colonizar os tecidos. Conseqüentemente os dejetos são potencialmente veiculadores da doença (Strauch, 1991).

A *Salmonella* tem poder de multiplicar-se até 100.000 vezes na água dos rios – com cerca de 100 mg de substâncias orgânicas por litro. Por isso, o despejo de efluentes animais não tratados em águas superficiais ou subterrâneas, gera sérios riscos para as pessoas e animais que consomem estas águas ou com elas tem contato (Oliveira, 1993).

Amostras de salmonelas isoladas de dejetos da produção de suínos são capazes de causar doença em bovinos sem, no entanto, estarem associadas com doenças nos suínos (Tauk- Tornisielo, 1997).

Poucas salmonelas sobrevivem mais do que 150 dias no pH dos dejetos, sendo que 90% morrem durante as primeiras 2 a 4 semanas enquanto o pH decresce. A curva de declínio do pH está relacionada com a temperatura e o conteúdo sólido. A sobrevivência de salmonelas é maior a temperaturas inferiores a 10°C e 5% ou mais de conteúdo sólido. Sua sobrevivência no solo depende do número inicial de organismos presentes, da temperatura ambiente, da concentração de sais inorgânicos, pH e da matéria orgânica presente para uso pelas salmonelas, pelos antagonistas e por predadores (Jones, 1980).

1.1.5 Resistência a antimicrobianos

A intensificação dos métodos de produção em suinocultura levaram ao aparecimento de uma série de doenças relacionadas com a tecnologia introduzida. Para o controle dessas enfermidades, assumiram papel preponderante os produtos antimicrobianos, usados principalmente através da ração. A função dos mesmos tem sido restabelecer o equilíbrio perdido, criando as condições necessárias para uma suinocultura lucrativa (Barcellos; Sobestianski, 1998).

Por outro lado, o uso crescente de antimicrobianos tem sido acompanhado da emergência de linhagens resistentes em diversos microrganismos, inclusive naqueles patogênicos (Fedorka-Cray et al., 1999). O uso terapêutico e preventivo de antimicrobianos resulta em resistência nos patógenos tanto quanto nos demais microrganismos. A utilização destes produtos como promotores de crescimento em animais de produção tem contribuído para o incremento da resistência aos antimicrobianos em microrganismos isolados na população humana. *Escherichia coli* de origem animal, resistente a antimicrobianos, pode infectar a população humana através da exposição ambiental ou cadeia alimentar (Boggard; Stobbering, 1999; Witte et al., 1999).

Bactérias resistentes a antimicrobianos podem ser encontradas no ambiente contaminado com excreta ou efluentes humano, animal ou industrial, local onde sofrem pressão de seleção (Linton, 1988). As plantas de tratamento de águas residuais são o

recipiente principal dos microorganismos entéricos carreadores de genes de resistência. Tem sido enfatizada a importância das águas servidas como sítio de transferência gênica horizontal, desde que este é um meio rico com altas concentrações de vários microorganismos. Em certos casos, as cepas isoladas de águas servidas do sistema de tratamento municipal foram mais resistentes a antibióticos do que aquelas provenientes de material clínico (Andersen, 1993).

Aproximadamente 90% dos antimicrobianos de uso veterinário são administrados oralmente a suínos, aves e bovinos através da ração ou água. Estes antimicrobianos são utilizados para promover o crescimento animal, incrementar a produção de alimento ou para reduzir a produção de dejetos. Foi observado incremento na resistência antimicrobiana de *E. coli* após a introdução de carbadox, utilizado como medida preventiva na disenteria suína e na terapia da salmonelose (Bogaard; Stobberingh, 2000).

Os microorganismos apresentam maior índice de resistência antimicrobiana em ambientes com maior pressão de seleção (Gonzalo et al., 1989). O incremento da população microbiana resistente é resultado direto da pressão seletiva pelo uso de antimicrobianos, onde a população mutante resultante poderá ser resistente a princípios ativos com diferentes mecanismos de ação (Mouton, 1999), mesmo após a supressão do uso dos mesmos (Franklin, 1999). Também as espécies que compõem os coliformes fecais, notadamente *Klebsiella* sp., influenciam o perfil de resistência dos microorganismos isolados em ambientes aquáticos (Niemi et al., 1983).

Em plantas de tratamento de dejetos tem sido verificada redução da resistência aos antimicrobianos nos microorganismos entéricos (Avignon; Lafont, 1985, Kish Lampky, 1983 e Bell et al., 1983), entretanto em lagoas com longo período de retenção (maior de 45 dias) tem sido verificado incremento no número de coliformes fecais resistentes a antimicrobianos (Bell et al., 1983). Isto porque as lagoas de tratamento de dejetos propiciam a seleção de bactérias antibiótico-resistentes (Morozzi et al., 1988 e Hassani et al., 1992).

O monitoramento de bactérias intestinais não-patogênicas, as quais poderiam servir como reservatório de genes de resistência, provavelmente é mais importante do que o

que foi até hoje descrito (Franklin, 1999), uma vez que o nível de resistência em bactérias endógenas é considerado um bom indicador da pressão de seleção exercida pelos antimicrobianos usados em uma população e dos problemas de resistência esperados em patógenos (Bogaard; Stobbering, 1999).

1.1.6 Parâmetros de monitoramento de efluentes

A. Microbiológicos

As bactérias são microorganismos indicadores de contaminação por patógenos capazes de causar dano à saúde humana. Esta preocupação tem proporcionado mudanças nas instalações de suínos e nos sistemas de manejo dos dejetos, levando a estabelecer um limite máximo permitido de descarga em corpos aquíferos e solo (1.000 NMP/100 ml de água), para evitar a transmissão de enfermidade entre animais e entre animais e o homem (Espejo, 1998). Tal indicador deve: ser facilmente identificável; poder ser amostrado com facilidade; distribuir-se de forma ampla; apresentar baixa variabilidade específica; desenvolver-se facilmente em laboratório (Tauk-Tornisielo, 1997). *Escherichia coli* e enterococos podem ser utilizados como indicadores da redução de patógenos em sistemas de tratamento de dejetos (Larsen et al., 1994 e León; Cavallini, 1999).

Apesar do grande número de trabalhos encontrados na literatura, estes ainda são insuficientes para atender a demanda sobre o conhecimento de bioindicadores para prevenir e minimizar os impactos ambientais. Pouco ainda se conhece da estrutura da comunidade microbiana ambiental dos ecossistemas (Tauk- Tornisielo, 1997).

Para determinar o real significado epidemiológico dos dejetos animais como veiculadores de doenças transmissíveis, mais pesquisas são urgentemente necessárias (Strauch, 1991).

Com respeito aos aspectos higiênicos de produção e uso dos dejetos animais, pesquisas suplementares observando os seguintes aspectos são essenciais: presença de agentes patogênicos em resíduos da produção animal no contexto multifatorial das

doenças transmissíveis e a epidemiologia dos patógenos sob diferentes condições ecológicas; efeitos higiênicos dos dejetos na água, respeitando os padrões requeridos pela autoridades médicas; processos de auto-desinfecção dos dejetos animais durante o processo de estocagem, buscando reduzir o uso de desinfetantes químicos e a redução da poluição ambiental; aplicação de métodos biotecnológicos na desinfecção dos resíduos da produção animal (Strauch; Ballarini, 1994).

B. Físico-químicos

Em países como o México, onde a descarga de água residual em corpos de água é permitida, impõem-se limites máximos permitidos com base em parâmetros físico-químicos como: sólidos suspensos totais (SST), demanda bioquímica de oxigênio (DBO), gorduras, alcalinidade, potencial de hidrogênio (pH) e temperatura (Espejo, 1998). No Brasil, observam-se ainda os parâmetros físico-químicos nitrogênio e fósforo.

DQO e DBO são parâmetros que representam, indiretamente, o conteúdo de matéria orgânica de um resíduo através da quantidade de oxigênio necessário para oxidar, quimicamente (DQO) ou biologicamente (DBO), a matéria orgânica (Oliveira, 1993).

A DBO, utilizada como parâmetro da eficácia de sistemas de tratamento de dejetos liqüefeitos e qualidade de recursos hídricos (Strauch, 1987), é a quantidade de oxigênio requerida pelas bactérias para estabilizar a matéria orgânica decomponível em condições aeróbias. A demanda de oxigênio se deve à matéria orgânica carbonácea usada como alimento pelos organismos aeróbios; ao nitrogênio oxidável, derivado dos nitritos, amônia e nitrogênio orgânico, usado como fonte de alimento por certas bactérias e a certos compostos químicos redutores (ferro ferroso, sulfato e sulfito), os quais reagem com o O₂ dissolvido (DMAE, s.d.).

A análise do nitrogênio dá o grau de estabilização da matéria nitrogenada no efluente. Encontramos o nitrogênio na água em quatro formas distintas: a) nitrogênio amoniacal ou amônia - está presente naturalmente nos esgotos; é produzido em grande concentração pela deaminação dos compostos orgânicos de nitrogênio e pela hidrólise da

uréia; a concentração de amônia varia de 10µg/L em águas naturais a mais de 30 mg/L em águas residuárias; b) nitrogênio orgânico - inclui materiais naturais como proteínas e peptídeos, ácido nucléico e uréia; c) nitrato: a presença de nitrato é indicação da última etapa da oxidação da matéria nitrogenada; d) nitrito: produto da oxidação incompleta do nitrogênio orgânico, proteína para nitrato ou produto da redução do nitrato (DMAE, s.d.).

O controle biológico de nitrogênio é realizado no processo de nitrificação e denitrificação. O nitrogênio na forma orgânica presente nos dejetos sofrerá uma série de transformações, sendo a primeira delas a amonificação. Sob condições de pH alcalino, quantidades significantes de nitrogênio serão perdidas na forma de amônia. Sob condições de aerobiose NH_3 é oxidado a NO_2 e NO_3 por bactérias dos gêneros *Nitrosomonas* e *Nitrobacter*. Sob condições de anaerobiose o nitrato pode ser reduzido a nitrogênio na forma gasosa (N_2) que será perdido no ar. A denitrificação é realizada por bactérias facultativas dos gêneros *Pseudomonas*, *Serratia*, *Bacillus*, *Micrococcus*, entre outras (Strauch, 1987).

O conteúdo total de fósforo, determinado em efluentes, inclui os polifosfatos (formas condensadas de compostos de fósforo), os ortofosfatos solúveis (PO_4) e insolúveis, orgânicos e inorgânicos (DMAE, s.d.). Fosfatos orgânicos são produzidos em processos biológicos, podendo ser formados a partir de ortofosfatos em sistemas biológicos de tratamento. Quando lançado a corpos receptores em grande quantidade, podem estimular o crescimento de macro e microorganismos fotossintéticos (Franson, 1995) causando eutrofização. Isto ocorre por que o fósforo é um elemento essencial dos sistemas vivos, sendo componente da membrana celular, ácidos nucléicos e sistema de transferência de energia celular. A transformação mediada por microrganismos compreende a transferência de fosfato inorgânico para orgânico e de fosfato insolúvel em solúvel (Atlas; Bartha, 1998). A transformação microbiana do fósforo envolve primariamente a transformação do fósforo (+5 valência) a ortofosfatos simples e várias formas complexas (Prescott et al., 1996).

Altos níveis de fósforo no efluente de sistema de dejetos suínos são esperados, uma vez que 65 a 75% do fósforo adicionado à ração é eliminado na excreta desses

animais. A necessidade de fósforo dos suínos é suprida através da adição de fósforo inorgânico à ração, porque do fósforo presente nos grãos de milho e soja apenas 10 a 25% é disponibilizado aos suínos. Isto por que os não-ruminantes carecem da enzima fitase, responsável pelo desdobramento dos ortofosfatos em moléculas absorvíveis por estes animais. Estudos têm sido realizados quanto à adição de fitase à dieta de suínos para diminuir os níveis de fósforo inorgânico na ração (Brum, 1998).

1.1.7 Legislação para emissão de efluentes

A Resolução N° 274 de 29 de novembro de 2000 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) estabelece que os efluentes de qualquer fonte poluidora somente poderão ser lançados, direta ou indiretamente, nos corpos de água se obedecerem às seguintes condições: pH entre 5 e 9; temperatura inferior a 40°C; ausência de materiais flutuantes; valores máximos admissíveis de amônia 5 mg/1N, entre outras substâncias, não presentes em dejetos suínos (cromo, bário, etc.).

A Secretaria da Tecnologia e Meio Ambiente e Fundação de Meio Ambiente do Estado de Santa Catarina, através da Portaria Intersetorial 01/92, estabelece que uma granja de suíno de ciclo completo é uma atividade agropecuária de grande potencial poluidor, em especial para água. Ainda em Santa Catarina, o Decreto N° 14.250, de 5 de junho de 1981 e o Decreto N° 19.380/83 estabelecem que a emissão de efluentes para lançamento, direta ou indiretamente em corpos de água, deve obedecer aos seguintes padrões: pH entre 6 e 9; temperatura inferior a 40°C; materiais sedimentáveis até 1 mL/L em testes de uma hora em cone Imhoff; ausência de materiais flutuantes; concentração máxima de fósforo total 1,0 mg/L e de nitrogênio total 10 mg/L; DBO₅ máxima de 60 mg/L ou redução superior a 80%; não conferir ao corpo receptor características em desacordo com os critérios e padrões de qualidade de água, adequados aos diversos usos benéficos previstos para o corpo de água.

A Norma Técnica N°01/89 da Secretaria da Saúde e Meio Ambiente do Estado do Rio Grande do Sul estabelece critérios e padrões de emissão de efluentes líquidos, os

quais só poderão ser lançados nos corpos d'água, direta ou indiretamente, desde que obedecem às condições a seguir relacionadas: temperatura menor que 40°C, pH entre 6,0 e 8,5, coliformes fecais menor que 300 NMP/100ml, fósforo total em concentração máxima de 1,0 mg/L, nitrogênio total em concentração máxima de 10 mg/L, DBO₅ a 20°C até 120 mg/L e DQO até 360 mg/L, segundo a vazão (m³/dia) da fonte poluidora implantadas a partir da publicação desta Norma (SSMA, 1989).

A Fundação Estadual de Meio Ambiente do Estado do Rio Grande do Sul (FEPAM, 1995) estabeleceu critérios para disposição de resíduos [dejetos (fezes e urina), “camas” e restos de alimentos] de estabelecimentos rurais destinados a suinocultura e avicultura. A utilização destes resíduos tem como objetivos: 1. Evitar a poluição de mananciais e cursos d'água, considerando o uso das águas superficiais e subterrâneas da região; 2. Aproveitamento potencial dos resíduos como fertilizantes; 3. Evitar a contaminação da cadeia alimentar; 4. Proporcionar a conservação do solo. Quanto ao tratamento e disposição dos resíduos: 1. É proibido o lançamento dos resíduos gerados na suinocultura e avicultura, *in natura*, em corpo hídrico; 2. O efluente final gerado, no caso de tratamento de resíduos, poderá ser lançado em cursos d'água, desde que sejam atendidos os padrões de emissão fixados pela FEPAM; 3. Os resíduos devem ser tratados anteriormente à aplicação no solo, para a eliminação de patógenos, quando forem utilizadas culturas como: pastagens, olericultura e outras culturas alimentares, cuja parte comestível se desenvolva rente ao solo ou subsolo; 4. No caso da utilização dos resíduos de suínos em piscicultura, usar somente animais saudáveis, sob controle sanitário. Os açudes com consórcio de peixes - suínos devem obedecer os critérios propostos na resolução CONAMA 004/85: distanciamento mínimo de outros corpos hídricos naturais, de 50 m para açudes de até 20 hectares e de 100 metros para açudes maiores que 20 ha.

1.2 Tratamento dos dejetos

Quando a área associada a uma unidade de produção de suínos é pequena ou inexistente, é necessário tratar os dejetos de modo barato e de fácil estocagem, transporte

e distribuição sobre o solo sem causar odor ou poluição. Para ser efetivo, o tratamento deverá converter os dejetos, tanto quanto possível, em material inofensivo ao manuseio (Hawkins, 1978).

O tratamento de dejetos orgânicos usualmente está dividido em três categorias: físico, biológico e químico. O ciclo dejetos ↔ solo é um complexo biológico, onde a separação das frações sólida e líquida é processo físico e o controle dos odores pode envolver um processo químico. A combinação dos métodos físicos, biológicos e químicos são comumente utilizados em sistemas de tratamentos completos (Day; Funk, 1998).

Na degradação orgânica, os dejetos e toda a matéria orgânica são utilizados como fonte de energia por uma sucessão de microrganismos vivos. Uma série de reações bioquímicas ocorrem e os dejetos decompostos retornam à natureza. Esta decomposição da matéria orgânica é realizada por um mecanismo bacteriano complexo. As bactérias desdobram substâncias orgânicas complexas como os carboidratos, proteínas e gorduras em substâncias orgânicas simples. Dentre os fatores que poderão afetar o processo biológicos estão: pH, temperatura, relação carbono/nitrogênio e concentração de materiais tóxicos (Day; Funk, 1998).

O conhecimento das características dos dejetos e dos volumes gerados em uma granja suinícola são determinantes para definir o manejo, tratamento e disposição final dos resíduos produzidos. Algumas das alternativas conhecidas são: 1. Dejetos sólidos - compostação, vermicultura, secagem, utilização na alimentação animal, uso como fertilizante; 2. Dejetos líquidos - uso como fertilizante, lagoas de estabilização, produção de energia e biomassa (biodigestores, pastos produtivos complementares) (Cortés, 1998).

Um sistema de tratamento que combine a separação de fase (decantador) com lagoas naturais ligadas em série, permite a remoção de 98% da carga orgânica poluente e 99,9% dos coliformes fecais (Perdomo, 1999).

1.2.1 Tratamento químico de dejetos

A adição de coagulantes químicos é usada no processo de separação de sólidos e líquidos, os quais incitarão o processo de floculação seguido de precipitação dos sólidos em suspensão (Luca, 1991). Os coagulantes também têm sido utilizados para a remoção de nitrogênio, fósforo e outros elementos específicos; entretanto, a remoção biológica de nitrogênio é preferível à remoção química (Strauch, 1987).

O sedimento da matéria de esgoto é um concentrado de agentes patogênicos que podem sobreviver aos processos de purificação. Estes sedimentos devem ser desinfetados previamente a sua utilização na agricultura (Strauch; Philipp, 1983). No entanto, este procedimento é caro e difícil, sendo que os compostos desinfetantes seriam mais úteis para descontaminação após um surto da doença do que na rotina diária (Jones, 1980).

A desinfecção de efluentes de estações de tratamento de esgotos é um processo cuja eficácia é limitada. A cloração, por exemplo, deixará totalmente ileso a maioria dos ovos de helmintos e é provável que permaneçam oocistos de protozoários (Léon; Cavallini, 1999). No entanto, quando apropriadamente aplicada e controlada, a cloração das águas residuárias dos sistemas de confinamento para efeito de desinfecção representa uma medida eficiente para melhorar a qualidade bacteriológica das águas residuárias e proteger pessoas e animais (Oliveira, 1993).

1.2.2 Tratamento físico de dejetos

As técnicas de tratamento físico compreendem: 1. separação de fase – consiste em separar da fração líquida as partículas maiores contidas nos dejetos, através dos processos de sedimentação, centrifugação, peneiramento, filtração ou através da separação química; 2. desidratação – redução do conteúdo de umidade para níveis de 10 a 15%, que serve para o controle da poluição e facilita o manuseio, através dos processos de evaporação, secagem e adição de materiais absorventes; 3. incineração (na presença de O₂) e pirólise (250 - 1.000°C, na ausência de O₂). Devido ao elevado custo dos métodos de secagem e incineração, tem diminuído o interesse pelos mesmos (Day; Funk, 1998).

A separação das fases líquidas e sólidas dos efluentes é uma das etapas mais importantes no processo de tratamento de dejetos, uma vez que reduz o volume a ser tratado, possibilita o tratamento e reaproveitamento diferenciado do material sólido e reduz o potencial poluidor da fase líquida. Entretanto apresenta a desvantagem de maior consumo de energia, mão-de-obra e investimento (Blaha, 1977 apud Day; Funk, 1998). Quanto à separação mecânica de sólidos e líquidos, há dois princípios básicos utilizados em águas residuais: a) sedimentação e centrifugação: baseiam-se na diferença de densidade entre as partículas de matéria orgânica e os líquidos; b) filtração e peneiramento baseiam-se na forma e tamanho das partículas sólidas a fim de separá-las. Existem diferentes equipamentos disponíveis para a realização da separação mecânica de sólidos e líquidos, sendo a sua função principal remover o máximo de sólidos suspensos totais (Day; Funk, 1998 e Strauch, 1987). No caso de dejetos de suínos, a maior eficiência tem sido obtida quando da utilização de peneira estacionária em declive, onde pode ser observada redução de 35% de sólidos totais quando comparado com a peneira vibratória (22% de redução) (Day; Funk, 1998) e uma redução da DBO entre de 3 a 50% (Strauch, 1987).

1.2.3 Tratamento biológico de dejetos

A degradação biológica é um processo natural, uma vez que os dejetos são um excelente substrato para os microorganismos. Para este processo podem ser utilizados sistemas controlados e não controlados. Os sistemas podem tratar dejetos líquidos ou sólidos; podem ser aeróbios, anaeróbios ou facultativos; pode ser em uma estrutura confinada ou livre sobre o solo. Os sistemas biológicos apresentam vantagem sobre os sistemas químicos como processo de reciclagem, uma vez que os processos biológicos não implicam na adição de componentes que poderão causar problemas de toxicidade em estágios posteriores do ciclo (Day; Funk, 1998). Nos sistemas de tratamento de dejetos é importante a remoção, particularmente, de compostos do fósforo e sais de nitrogênio, promotores da eutrofização (Prescott et al., 1996).

1.2.3.1 Compostação

A decomposição de dejetos na forma sólida é chamado de compostação e ocorre sob condições de aerobiose e por ação de microorganismos termofílicos, os quais produzirão, ao final do processo, um material conhecido como húmus. É um processo caracterizado por apresentar um teor muito baixo de água, onde a atividade biológica é capaz de atingir temperatura de 50 a 70 °C, aquecimento suficiente para inibir o desenvolvimento de patógenos. O processo de biodegradação ocorre naturalmente por ação dos microorganismos que metabolizam proteínas e carboidratos, resultando em dióxido de carbono, água e amônia. O composto é um produto estável e de baixo potencial poluidor, uma vez que possui baixos níveis de nitrogênio, pois uma quantidade razoável deste produto é volatilizada durante o processo (Day; Funk, 1998).

Dependendo da umidade, a fração sólida pode atingir temperaturas de 30 a 40°C em aproximadamente 2 dias, sendo provável que os patógenos aí morram rapidamente (Hawkins, 1978). Isto por que a maioria dos agentes patogênicos estão altamente adaptados a hospedeiros vertebrados superiores com temperatura corporal média de 36°C. Desta forma não resistem a temperaturas mais elevadas como as que ocorrem na compostação sólida, aeróbia, de dejetos ou lixo que, dependendo do manejo e da capacidade de retenção calórica liberada pela sistema, poderá chegar de 70 a 80°C. Também não resistem à alteração do pH que poderá chegar a 11 ou 12, dependendo do manejo (Oliveira, 1993).

1.2.3.2 Lagoas de estabilização

A lagoa de estabilização é uma estrutura simples que armazena águas residuárias com o objetivo de melhorar suas características sanitárias. Geralmente possuem pouca profundidade e tem período de retenção relativamente elevado, em geral de vários dias, onde, naturalmente, ocorre um processo de autodepuração da matéria orgânica, mediante fenômenos físicos, químicos, bioquímicos e biológicos (Léon; Cavallini, 1991).

Entre os processos de tratamento mais utilizados pela engenharia sanitária e ambiental em todo o mundo, pela sua eficiência e economia, têm-se destacado os sistemas de lagoas de estabilização, os quais são compostos de lagoas anaeróbias, lagoas facultativas e lagoas de maturação (Luca, 1991).

Tanto nas lagoas de estabilização facultativas como nas anaeróbias, ocorre diminuição da concentração de bactérias patogênicas (Léon; Cavallini, 1999) e este efeito pode ser intensificado pelo aumento do tempo de tratamento (Strauch, 1991). Em plantas de tratamento de dejetos operando em baixas temperaturas, por exemplo, a sobrevivência das salmonelas terá uma redução significativa se o tempo de retenção do material for superior a 20 dias (Jones, 1980).

A. Lagoas anaeróbias

As lagoas anaeróbias têm sido utilizadas no tratamento de dejetos animais devido ao seu baixo custo inicial e facilidade de operação, tendo como desvantagem a emissão de odores. Entretanto as lagoas anaeróbias podem ser profundas, o que possibilita obter aumento de temperatura do composto, além de prevenir o escape de odor através da lâmina d'água (Day; Funk, 1998).

As lagoas anaeróbias são utilizadas em regiões com temperaturas médias mensais maiores que 15°C, para que não atue como bacia de sedimentação. Em tempos de retenção superiores a cinco dias espera-se até 60% de conversão de DBO e evita-se o risco de emissão de odores. A profundidade da lagoa varia de 2,5 a 5 metros (Luca, 1991).

O propósito deste tipo de lagoa não é o de purificação dos dejetos, mas sim destruir e estabilizar o material sólido em suspensão, reduzindo a carga orgânica a ser enviada ao tratamento aeróbio subsequente. A principal degradação que ocorre neste ambiente é a hidrólise dos sólidos orgânicos pela ação de bactérias saprofíticas. Há produção de metano, dióxido de carbono, pequena quantidade de amônia e gás sulfídrico (Strauch, 1987). O CO₂ é oriundo da degradação dos compostos complexos de carbono; o metano é formado a partir da degradação de lignina e celulose, presentes nos dejetos

animais (Ruiz, 1992) e a hidrólise das proteínas produz aminoácidos que, em condições anaeróbias, liberam gás amônia (Oliveira, 1993). No efluente da lagoa encontra-se redução DBO entre 50 a 90%; presença de 200 a 1.200 mg/L de nitrogênio total e 100 a 3.000 mg/L de sólidos suspensos totais, dependendo da ressuspensão de sólidos do fundo da lagoa em decorrência do borbulhamento gasoso (Strauch, 1987).

Dentre os parâmetros analíticos da digestão anaeróbia estão o pH, a temperatura, DBO/DQO, relação cálcio/nitrogênio/ fósforo e a produção de amônia.

O pH é um dos fatores mais importantes a ser mantido para se obter uma boa eficiência do processo. Na digestão anaeróbia, a faixa de pH ótimo é resultado das diversas reações que ocorrem. Considera-se que um pH entre 6,8 e 7,2 corresponde a uma condição ótima; sendo que a digestão anaeróbia é possível nos limites 6,5 a 7,5 (Oliveira, 1993).

Nos sistemas biológicos, a influência da temperatura é bastante importante, pois as velocidades das reações bioquímicas são diretamente afetadas pela temperatura. Na digestão anaeróbia essa influência merece atenção especial pois as bactérias anaeróbias são muito mais sensíveis a variações de temperatura (Simpson, 1959 apud Oliveira, 1993).

O sistema anaeróbio reduz suficientemente as formas vegetativas de patógenos, entretanto os sistemas mesofílicos não devem ser utilizados isoladamente e sim acompanhados de um tratamento termofílico (Larsen et al., 1994).

A composição do substrato, especialmente as quantidades relativas de carbono (C), nitrogênio (N) e fósforo (P), é essencial para o sucesso de um processo anaeróbio. Para manter a digestão em boas condições de operação é preciso que o substrato contenha quantidades suficientes em nutrientes. As proporções recomendadas para a digestão anaeróbia são C/N=30 e N/P=5. Quando, especialmente as quantidades de N são muito elevadas (baixa relação C/N), pode ocorrer inibição do processo devido à formação de amônia (Oliveira, 1993).

Os dejetos suínos submetidos ao processo de digestão anaeróbia necessitam de um pós-tratamento antes que os efluentes atinjam os recursos hídricos, uma vez que a digestão anaeróbia isoladamente não é capaz de produzir efluentes com os padrões

exigidos na maioria dos países industrializados, particularmente em relação aos sólidos suspensos, DQO, nitrogênio, fósforo e sulfito (Tilche et al., 1996).

B. Lagoas facultativas

São lagoas relativamente rasas onde ocorrem três diferentes tipos de atividade biológica: estabilização anaeróbia dos sólidos no fundo, onde há deposição de lodo; decomposição facultativa dos sólidos suspensos na área intermediária; ação aeróbia na zona da superfície, onde ocorre a fotossíntese de algas. A ação bacteriana sobre a matéria orgânica e conseqüente produção de dióxido de carbono e amônia propiciam o crescimento de algas, responsáveis por manter o oxigênio dissolvido em níveis elevados. A força motriz deste processo de autodepuração é a fotossíntese, a qual está alavancada na simbiose existente entre as bactérias saprofíticas e algas (Day; Funk, 1998).

Estas lagoas podem ser utilizadas em regiões de clima temperado e sugere-se tempos de retenção entre sete e vinte dias e profundidade entre 0,9 a 1,5 metros para obter-se redução de DBO₅ de 70 a 95% (Luca, 1991). Para que funcione adequadamente, é ideal que receba resíduos de grande volume e baixa DBO. Em situações de baixo volume de efluentes com alta DBO, é melhor utilizar lagoas mais profundas (3 a 5 m) providas de aerador mecânico, responsável pelo provimento de oxigênio necessário ao processo aeróbio (Strauch, 1987).

Estas lagoas não têm sido amplamente utilizadas isoladamente em função da área necessária para sua implementação; no entanto, em unidades de tratamento de dejetos compostas, recebem o efluente de lagoas anaeróbias (Day; Funk, 1998).

C. Lagoas aeróbias

São lagoas rasas, permitindo a penetração da luz, e com área de superfície ampla, permitindo a oxigenação natural do conteúdo da lagoa. A estabilização da matéria orgânica ocorre por ação simbiótica de bactérias e algas. O material orgânico solúvel é utilizado pelas bactérias aeróbias, resultando em produção de CO₂ e H₂O. O

primeiro é utilizado pelas algas na presença da luz solar para produzir oxigênio, que é utilizado pelas bactérias. Na ausência de luz solar, quando as algas estão respirando, estas necessitam de oxigênio; o oxigênio dissolvido na lagoa deve então ser disponibilizado pela ação de aeração mecânica ou ação dos ventos, se a lagoa for bastante rasa. Utilizada como tratamento terciário, é o local onde ocorre a remoção de nitrogênio e fósforo (Strauch, 1987). Nestas lagoas ocorre a amonificação (transformação do nitrogênio orgânico em amônia) seguida da nitrificação, onde bactérias dos gêneros *Nitrosomonas*, *Nitrosococcus* e *Nitrobacter* oxidam a amônia transformando-a em NO_2^- e, em subsequente oxidação, em NO_3^- (Ford, 1993 e Prescott et al., 1996).

Também chamadas lagoas de polimento ou de maturação, estas lagoas são utilizadas para funcionar como segundo estágio de lagoas facultativas, com o principal propósito de destruir patógenos. Usualmente utilizam-se duas ou três lagoas em série, com tempo de retenção de cinco a sete dias, utilizando como profundidade 0,60 a 0,90 metros para obter-se remoção de DBO de 80 a 95% (Luca, 1991).

Nas lagoas aeróbias, a fim de reduzir a área de espelho d'água e aumentar a profundidade, a utilização de aeração mecânica proporcionará redução das variações de temperatura no composto. Existem numerosos métodos de realizar a aeração, a qual poderá ser constante ou não em função, principalmente, da variação climática. Em regiões de temperaturas do ar abaixo de 4,5°C a degradação microbiológica é reduzida, sendo desnecessária a utilização de aeradores, uma vez que esta prática constituiria um desperdício de energia (Day; Funk, 1998). Liao et al. (1993) avaliaram os processos de tratamento de dejetos suínos, com aeração intermitente e aeração constante, quanto à remoção de fósforo e nitrogênio. Os resultados demonstraram que lagoas de fermentação com aeração intermitente podem ser usadas com sucesso onde, simultaneamente em uma só lagoa, estão presentes os processos de nitrificação (transformação do nitrogênio da amônia em nitrato) e desnitrificação (redução de nitrato a nitrogênio molecular) (Pelczar Jr. et al., 1996).

D. Biofiltros verticais construídos (Wetlands)

São ambientes aquáticos rasos e repletos de plantas (Atlas; Bartha, 1998) que podem ser naturais ou antrópicos. Nos "wetlands" construídos, podem ser utilizadas plantas flutuantes, emergentes ou submersas (Prescott et al., 1996). Este é um sistema de tratamento de dejetos de baixo custo e considerado adequado para utilização na produção suinícola em regiões de clima temperado. É composto por um leito de areia (horizontal ou vertical) acrescido de saprófitas (Kantawanichkul et al., 2001) responsáveis pela remoção de nitrogênio (30 a 70%) e fósforo (30 a 45%) em efluente de sistema de tratamento de dejetos suínos (Reddy et al., 2001).

1.3 Objetivos

No período de junho de 2000 a julho de 2001, monitorou-se um sistema de lagoas interligadas para o tratamento de dejetos suínos localizado no Estado de Santa Catarina, Brasil, com o objetivo de determinar a eficácia do sistema de tratamento de dejetos na eliminação de agentes potencialmente patogênicos. A eficácia do sistema de tratamento, em região subtropical, foi verificada através da:

- a) determinação das variações na microbiota e nas características físico-químicas do sistema de tratamento decorrer do ano, segundo a sazonalidade;
- b) determinação da correlação entre o número de coliformes e as variações das características físico-químicas avaliadas no sistema de tratamento de dejetos;
- c) determinação da sobrevivência de *Salmonella* sp. e coliformes no sistema de tratamento de dejetos;
- d) determinação do perfil de resistência a antimicrobianos em *Salmonella* e *Escherichia coli* isoladas no sistema de tratamento de dejetos suínos.

CAPÍTULO 2

MATERIAL E MÉTODOS GERAIS

2. Material e Métodos

Neste capítulo estão descritos os materiais e metodologias utilizados no desenvolvimento do presente estudo. Nos capítulos seguintes são apresentados, de forma sucinta, os materiais e metodologias utilizados nas diferentes etapas realizadas referentes aos artigos submetidos a revistas científicas.

2.1 Sistema de tratamento: o sistema estudado localiza-se na unidade de produção da Empresa Sadia Concórdia S.A. no município de Faxinal dos Guedes, Santa Catarina. Nesta unidade estão alojadas aproximadamente 4.000 matrizes suínas e 30.000 animais de terminação. Os dejetos produzidos por estes animais são levados por canalização até um tanque coletor, imediatamente anterior ao sistema de tratamento. A partir daí, passam através de uma peneira para separação das fases sólida e líquida. A fração líquida entra em um tanque de decantação, onde é separado o lodo e nova fração líquida. O lodo fica depositado em um tanque, enquanto a fração líquida entra na primeira lagoa anaeróbia. O sistema de lagoas interligadas é constituído por 2 lagoas anaeróbias, uma facultativa, uma aerada e 3 fotossintéticas. Ao final deste tratamento, o efluente passa por um sistema de cascatas e é liberado para o rio que passa próximo da propriedade. Todo o sistema de lagoas conta com revestimento impermeável e sistema para evitar transbordamento em caso de excesso de chuva (Figura 2.1).

2.2 Pontos de amostragem: foram analisados sete pontos na estação de tratamento, identificados como: Ponto 1 - chegada de dejetos bruto, Ponto 3 – após o decantador, PA - após a lagoa de lodo, Ponto 9 – após as lagoas anaeróbias, Ponto 10 – após a lagoa facultativa, Ponto 11 – após a lagoa aerada e Ponto 14 – após as lagoas fotossintéticas (Figura 2.2).

2.3 Periodicidade das coletas: As coletas foram realizadas em intervalos mínimos de 15 e máximos de 30 dias, a partir de junho de 1999, por um período de doze meses.

2.4 Métodos de amostragem: as coletas foram realizadas de acordo com o protocolo vigente na Empresa, sendo que de cada ponto amostrado foram coletadas 05 (cinco) porções de 1 litro cada, em recipiente próprio, sendo daí retirada uma alíquota de 100 ml em vidro estéril, mantida a 4°C e enviada ao Laboratório de Medicina Veterinária Preventiva da UFRGS, em Porto Alegre, para a realização de exame bacteriológico.

2.5 Sazonalidade: as condições climáticas do período (temperaturas mínimas, máximas e médias, índice pluviométrico e evaporação) foram determinadas e cedidas pela Epagri/CPPP- Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina S.A./ Centro de Pesquisa para Pequenas Propriedades.

2.6 Avaliação físico-química: as análises físico-químicas foram realizadas na Empresa e constaram da análise de sólidos, Demanda Bioquímica de Oxigênio - DBO, Demanda Química de Oxigênio – DQO, compostos nitrogenados e fósforo, através do método colorimétrico, utilizando o sistema Hach Company (sd), além de temperatura e pH.

2.7 Identificação dos indicadores bacterianos

2.7.1 Determinação do Número Mais Provável (NMP) de coliformes totais (CT) e coliformes fecais (CF): a pesquisa do NMP de CT e CF foi realizada através da técnica dos tubos múltiplos modificada. Foram utilizadas 6 diluições, previamente escolhidas, em cada ponto amostrado (P1, P3 e PA de 10^{-1} a 10^{-6} e P9, P10, P11 e P14 10 e 1 ml da amostra não diluída até a diluição 10^{-4}). O número de tubos positivos confirmados de 3 diluições consecutivas das 6 diluições analisadas foram combinados e o resultado confrontado com Tabela de Índice de NMP existente na literatura. O NMP em 100 ml da amostra semeada foi calculado através da fórmula:

$$\text{NMP} = \text{NMP da Tabela} \times 10 / \text{maior volume inoculado nas 3 diluições utilizadas}$$

2.7.2 Isolamento de *Salmonella* sp.: a pesquisa de *Salmonella* foi realizada segundo Michael (2000). As amostras isoladas foram sorotipadas no Instituto Fiocruz.

2.7.3 Mesófilos totais

a) contagem: as amostras foram diluídas (10^{-1} até 10^{-6}) em água peptonada 0,1%, sendo semeadas, em duplicata, alíquotas de 0,1 ml em Ágar para Contagem, pela técnica de superfície. Após incubação em aerobiose a 37°C por 48 horas as colônias foram contadas na diluição em que apresentassem placas com 20-200 colônias. Avaliou-se, ainda, o número de diferentes tipos coloniais de acordo com a forma (puntiforme, circular ou irregular), a elevação (chata, convexa ou irregular), os bordos (inteiros ou irregulares), a transparência (transparente ou opaca) e a pigmentação (ausente, amarelo, vermelho, verde ou outro) observados na placa, bem como a proporção de colônias pertencentes a cada tipo colonial.

b) identificação: da placa onde era realizada a contagem, foram coletadas 10 colônias escolhidas de forma aleatória para a identificação. Para a escolha das colônias foi construído, previamente, um mapa de quadrantes sobre o qual a placa era depositada, sendo então coletadas as colônias que estavam dentro de áreas pré-determinadas do mapa. As áreas foram pré-determinadas por sorteio de acordo com a tabela de números aleatórios (Thursfield, 1986). As colônias escolhidas foram isoladas em ágar TSA e mantidas a -20°C em BHI acrescido de 20% de glicerol até o momento da identificação. As bactérias foram classificadas de acordo com suas características morfo-tintoriais (bastonete ou coco e coloração de Gram) e testes bioquímicos (catalase, oxidase, crescimento em ágar MacConkey), como descrito por Mac Faddin (2000).

2.8 Análise estatística: foi realizada análise de variância com a variável NMP transformada em Log10, teste t de Student para a comparação das médias na determinação da sazonalidade, testes de Qui-quadrado, Associação Linear e análise de correlação através do índice de Pearson utilizando o programa SPSS 8.0. O índice de correlação de Pearson foi categorizado como alto ($r > 0,7$), médio ($0,5 < r < 0,7$) e baixo ($r < 0,5$) (Cáceres, 1995).



FIGURA 2.1: Vista aérea do sistema de tratamento de dejetos de suínos da Empresa Sadia S.A., em Faxinal dos Guedes/ SC, com identificação dos pontos amostrados.

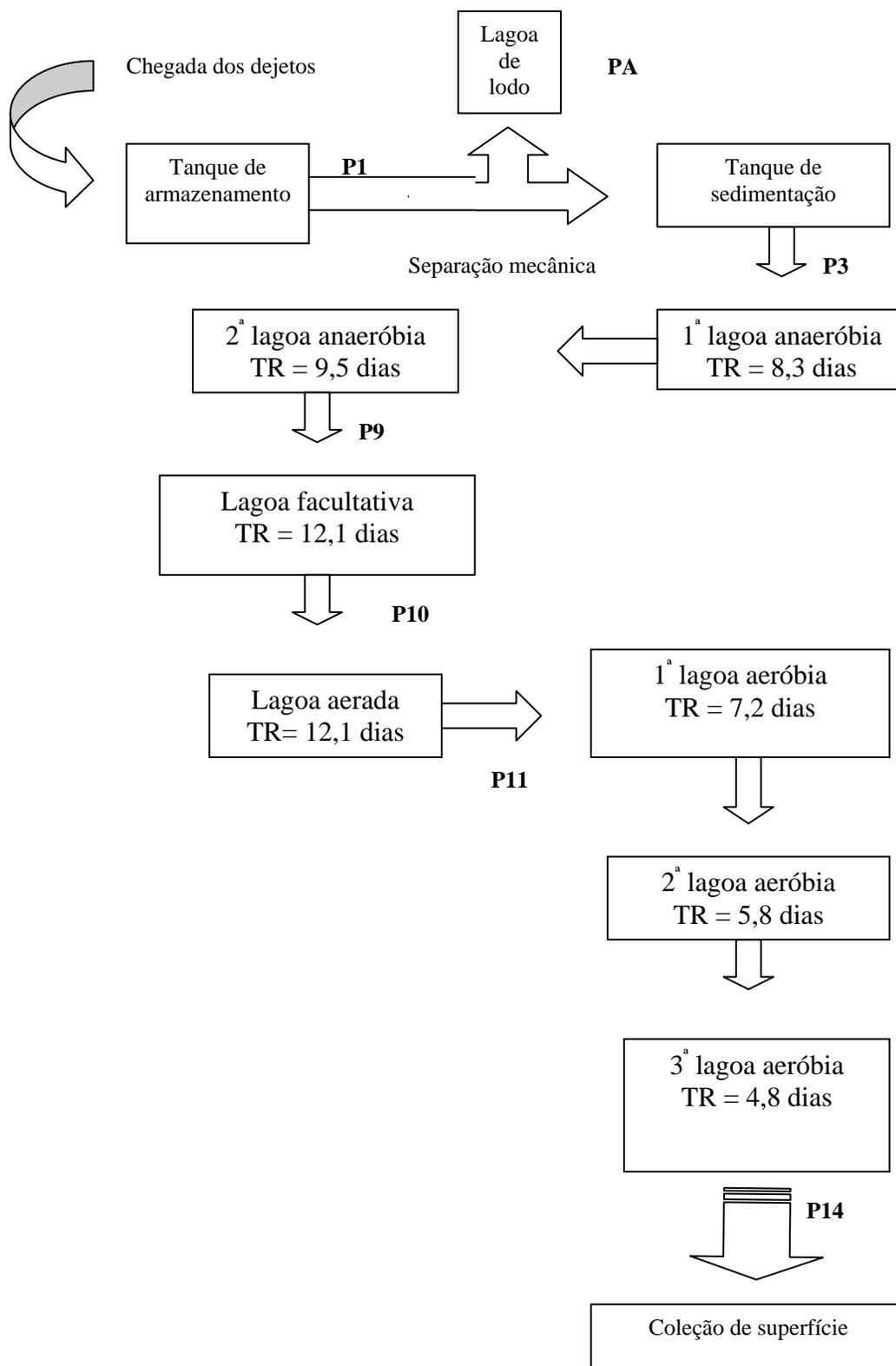


FIGURA 2.2: Representação esquemática de sistema de tratamento de dejetos suínos

CAPÍTULO 3

Perfil físico-químico e microbiológico de uma estação de tratamento de dejetos suínos.

Verônica Schmidt¹, Carina Philomena Trebisch Gottardi², Mônica A.A. Santos³,
Marisa Ribeiro de Itapema Cardoso¹

¹Médica Veterinária, Professora Departamento de Medicina Veterinária Preventiva - Faculdade de Veterinária/UFRGS, Av. Bento Gonçalves, 9090 - 91540-000 - Porto Alegre/RS veroschmidt@hotmail.com

²Graduanda em Medicina Veterinária/ UFRGS – bolsista de Iniciação Científica/ PROPESQ/UFRGS

³Engenheira Agrônoma, Sadia S.A.

Artigo aceito para publicação: Revista ARS Veterinária.

RESUMO

Durante o período de tratamento dos dejetos, evidenciou-se diferença significativa no número mais provável (NMP) de coliformes totais (CT) e fecais (CF) entre os pontos iniciais do sistema em relação aos demais; observou-se redução de 99% de CT e 99% de CF comparando-se o NMP médio no início e no final do sistema. Entre os parâmetros utilizados como indicadores da qualidade dos efluentes e avaliados no presente estudo, de modo geral, verificou-se a existência de diferença significativa ($p < 0,05$) nos parâmetros físico-químicos (PO_4 , NO_3 , PT, ST e SV) entre os pontos iniciais do sistema, os quais são anteriores ao tratamento propriamente dito, e as demais fases do processo; observando-se redução dos parâmetros analisados após as lagoas anaeróbias e uma contínua redução destes no decorrer do processo ($p < 0,05$). Observou-se redução de 74,87% de PO_4 , 91,18% de NO_3 , 70% de PT, 77,41% de ST, 86,67% de SV e 97,5% na DBO e 97,15% na DQO_5 - comparando-se os valores médios no início e no final do sistema.

Palavras Chaves: coliformes, dejetos suínos, lagoas de estabilização, parâmetros físico-químicos.

SUMMARY

The reduction of 99% in the Most Probable Number (MPN) of total coliforms and 99% of fecal coliforms was observed in a waste treatment plant of a pig breeding farm. The results obtained for the physical-chemical parameters (PO_4 , NO_3 , PT, ST and SV) during the treatment process were statistically significant ($P < 0,005$). The most important reduction in the parameters occurred after the anaerobic lagoon. When the system input and output were compared it was observed a reduction in the medium values of PO_4 (74.87%), NO_3 (91.18%), TP (70%), ST (77.41%), VS (86.67%), BOD_5 (97.5%) and COD (97.15%). The statistical correlation among physico-biochemical parameters is discussed.

Key Words: coliforms, pig waste, stabilization ponds, physical chemical parameters

3.1 INTRODUÇÃO

O Brasil possui 35 milhões de cabeças de suínos, figurando como o maior plantel da América do Sul, sendo 60% do rebanho criado de forma intensiva e tecnificada. É na Região Sul que estão localizados os grandes frigoríficos e suas integrações de suínos, formados por milhares de pequenos agricultores (34,88% do plantel nacional) (Roppa, 1998). A produção de suínos em sistemas confinados originam grande quantidade de dejetos, os quais, necessariamente, deverão ter um destino final.

Entre os principais riscos do despejo de dejetos não-tratados no ambiente encontra-se o aumento da concentração de matéria orgânica, compostos nitrogenados e fósforo no solo e água, ocasionando efeitos tóxicos, além do desequilíbrio destes ecossistemas. Além do impacto dos dejetos no ambiente, o próprio aspecto sanitário deve ser considerado. A destinação adequada dos dejetos humano e animal implica na diminuição do risco a doenças de veiculação hídrica.

As principais técnicas de tratamentos de dejetos são o tratamento físico e o tratamento biológico. Na degradação biológica, bactérias realizam a decomposição da matéria orgânica, desdobrando substâncias orgânicas complexas como os carboidratos, proteínas e gorduras em substâncias orgânicas simples (Day; Funk, 1998).

Coliformes fecais são os indicadores de poluição fecal mais comumente utilizados em ambientes aquáticos (Ceballos et al., 1995) e podem ser utilizados no monitoramento da redução do número de patógenos nos sistemas de tratamento de dejetos animais (Larsen et al., 1994).

No Estado de Santa Catarina os Decretos N° 14.250/81 e 19.380/83 regulamentam os padrões de emissão de efluentes líquidos (Governo do Estado de Santa Catarina, 2001) e estão baseados apenas no controle de parâmetros físicos e químicos.

O objetivo do presente estudo foi verificar a eficácia de um sistema de tratamento de dejetos de suínos em condições de clima subtropical e a existência de correlação entre as variáveis físicas e químicas e os indicadores microbianos.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1 Sistema de tratamento de dejetos: O sistema estudado localiza-se na unidade de produção da Empresa Sadia Concórdia S.A. no município de Faxinal dos Guedes, Santa Catarina. Nesta unidade estão alojadas aproximadamente 4.000 matrizes suínas e 30.000 animais de terminação. Os dejetos produzidos por estes animais são levados por canalização até um tanque coletor, imediatamente anterior ao sistema de tratamento. A partir daí, passam através de uma peneira para separação das fases sólida e líquida. A fração líquida entra em um tanque de decantação, onde é separado o lodo e nova fração líquida. O lodo fica depositado em um tanque, enquanto a fração líquida entra na primeira lagoa anaeróbia. O sistema de lagoas interligadas é constituído por 2 lagoas anaeróbias, uma facultativa, uma aerada e 3 fotossintéticas. Ao final deste tratamento, o efluente passa por um sistema de cascatas e é liberado para o rio que passa próximo da propriedade. Todo o sistema de lagoas conta com revestimento impermeável e sistema de “by-pass” para evitar transbordamento em caso de excesso de chuva.

3.2.2 Pontos de amostragem: foram analisados seis pontos na estação de tratamento, identificados como: Ponto 1 - chegada de dejetos bruto, Ponto 3 – após o decantador, Ponto 9 – após as lagoas anaeróbias, Ponto 10 – após a lagoa facultativa, Ponto 11 – após a lagoa aerada e Ponto 14 – após as lagoas fotossintéticas.

3.2.3 Periodicidade das coletas: As coletas foram realizadas em intervalos mínimos de 15 e máximos de 30 dias, a partir de junho de 1999, por um período de doze meses.

3.2.4 Métodos de amostragem: De cada ponto amostrado foram coletadas 05 (cinco) porções de 1 litro cada, em recipiente próprio, sendo separada da amostra coletada e homogeneizada uma alíquota de 100 ml em vidro estéril, mantida a 4°C e enviada ao Laboratório de Medicina Veterinária Preventiva da UFRGS, em Porto Alegre.

3.2.5 Quantificação dos indicadores: a pesquisa do Número Mais Provável - NMP de coliformes totais e fecais foi realizada através da técnica dos tubos múltiplos modificada. Foram utilizadas 6 diluições, previamente escolhidas, em cada ponto amostrado (P1 e P3

de 10^{-1} a 10^{-6} e P9, P10, P11 e P14 10 e 1 ml da amostra não diluída até a diluição 10^{-4}). O número de tubos positivos confirmados de 3 diluições consecutivas das 6 diluições analisadas foram somados e o resultado confrontado com Tabela de Índice de NMP existente na literatura. O NMP em 100 ml da amostra semeada foi calculado através da fórmula:

$$\text{NMP} = \text{NMP da Tabela} \times 10 / \text{maior volume inoculado nas 3 diluições utilizadas}$$

3.2.6 Avaliação físico-química: As análises físico-químicas foram realizadas na Empresa e constaram da análise de sólidos, Demanda Bioquímica de Oxigênio - DBO, Demanda Química de Oxigênio - DQO, compostos nitrogenados e fósforo, através do método colorimétrico, utilizando o sistema Hach Company (sd), além de temperatura e pH.

3.2.7 Sazonalidade: as condições climáticas do período (temperaturas mínimas, máximas e médias, índice pluviométrico e evaporação) foram cedidas pela Epagri/CPPP- Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina S.A./ Centro de Pesquisa para Pequenas Propriedades.

3.2.8 Análise estatística: foi realizada análise de variância com variável transformada em Log10, teste t de Student para a comparação das Log médias na determinação da sazonalidade e análise de correlação através do índice de Pearson, utilizando o programa SPSS 8.0. O índice de correlação de Pearson foi categorizado como alto ($r > 0,7$), médio ($0,5 < r < 0,7$) e baixo ($r < 0,5$) (Cáceres, 1995).

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A liquefação de dejetos, utilizada no sistema acompanhado, tem sido preferida no manejo intensivo de suínos por exigir menor esforço humano e ser compatível com a automação (Strauch, 1987). Entretanto esta prática vem acompanhada do aumento do volume de dejetos a ser tratado. Este fato contribui para que em altas concentrações de animais, como no sistema em estudo, o impacto ambiental seja importante caso não

sejam tomadas medidas que reduzam os parâmetros físico-químicos e microbiológicos dos efluentes.

Os parâmetros físico-químicos avaliados no presente estudo apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) entre os pontos iniciais do sistema (P1 e P3), os quais são anteriores ao tratamento biológico, e as demais fases do processo. Observou-se redução da maioria dos parâmetros analisados após as lagoas anaeróbias (P9) e uma contínua redução no restante do processo (P10, P11 e P14) ($p < 0,05$) (Tabela 3.1). Houve redução de 97,5% na Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO), 97,15% na Demanda Química de Oxigênio (DQO), 77,41% nos Sólidos Totais (ST), 96,45% nos Sólidos Suspensos Totais (SST), 86,67% de Sólidos Voláteis (SV), 96,14% de Sólidos Suspensos Voláteis (SSV), 70% de Fósforo Total (PT), 74,87% de Ortofosfato (PO_4), 74,55% de Nitrogênio Total (NT), 91,18% de Nitrato (NO_3), 93,95% de Nitrito (NO_2) e 74,15% de Amônio (NH_4) - comparando-se os valores médios no início (P1) e no final (P14) do sistema.

Comparando-se os parâmetros analisados individualmente, observou-se diferentes perfis de degradação ao longo do sistema. Os parâmetros DBO/DQO, que expressam a quantidade de oxigênio necessária para oxidar quimicamente (DQO) ou bioquimicamente (DBO) a matéria orgânica (Oliveira, 1993), apresentaram uma queda progressiva ao longo de todo o sistema, sendo para DBO os valores significativamente diferentes entre todos os tipos de lagoas do sistema. Em relação à DQO observou-se que os valores médios diminuíram entre todas as lagoas, não sendo a diferença significativa entre a lagoa facultativa e a aerada. Entretanto a redução voltou a apresentar diferença significativa após as lagoas aeróbias, indicando a importância deste tipo de etapa para a efetiva redução da matéria orgânica do efluente.

A eficácia do sistema em termos de redução da matéria orgânica é também demonstrada pela redução observada em SV e SSV no início e no final do mesmo. Nestes parâmetros, bem como em ST e SST, observou-se uma grande variabilidade ao longo do ano, provavelmente relacionada a episódios de maior pluviometria. Apesar das coletas terem sido realizadas somente após 2 a 3 dias da ocorrência de chuva intensa, pode ter havido um represamento da fração líquida no sistema, levando à discrepância

nos valores ao longo do ano. Por outro lado, em algumas ocasiões observou-se valores bastante elevados para este parâmetro, representando um grande aporte de materiais sólidos ao sistema. Especialmente no P9 foram encontrados valores mínimos e máximos muito diferentes nos parâmetros ST (3.174 - 30.855), SST (473 - 27.498), SV (1.054 - 17.707) e SSV (310 - 16.265).

Para os parâmetros ST, SV, PT, PO₄, NO₂ e NO₃ os índices de redução significativa ocorreram após as lagoas anaeróbias (P9), demonstrando que a etapa anaeróbia é de extrema importância para o sucesso do tratamento dos dejetos. Em relação ao NO₂ e NO₃ a etapa anaeróbia é, reconhecidamente, crucial, uma vez que as reações químicas efetivadas pelos microorganismos redutores do nitrato ocorrem, de forma mais eficiente para o balanço energético bacteriano, na ausência de oxigênio. O mesmo não acontece no processo de nitrificação, onde NH₃ e NH₄⁺ são oxidados a nitrito e nitrato, necessitando-se, portanto, de um ambiente rico em oxigênio para que a reação ocorra.

No sistema estudado isto pode ser constatado através da análise do perfil de redução de NH₄⁺. Enquanto os valores médios não apresentaram diferença significativa entre o início do sistema e após as lagoas anaeróbias, a redução passou a ser significativa após cada uma das lagoas onde o oxigênio estava disponível. Entretanto, este fato pode ter gerado um acúmulo de NO₂ e NO₃ que, por ser mais eficientemente reduzido em condições anaeróbias, não disponível nas etapas após P10, colaborou para a maior concentração do Nitrogênio Total (NT) presente no efluente. O tempo de retenção dos dejetos no sistema acompanhado é de aproximadamente 60 dias, desde a chegada do dejetos bruto até a liberação do efluente. O período de retenção necessário à redução dos parâmetros físico-químicos e microbiológicos tem sido proposto como de 24 dias em sistemas anaeróbios (Kearney et al., 1993), 23 dias em sistemas com aeração intermitente (Henlich, 1985) e 15 dias em sistema composto por duas lagoas aeróbias (Bhowmik et al., 1994). Eventualmente o aumento do tempo de retenção nas lagoas aeróbias, bem como a introdução de uma nova etapa de tratamento anaeróbio, após os sistemas de lagoas aeróbias, propiciaria uma nova oportunidade para que a redução do nitrato ocorresse, diminuindo ainda mais os compostos nitrogenados no efluente.

Avaliando a correlação entre os parâmetros estudados, observa-se que DBO e DQO apresentaram alta correlação ($r > 0,7$) com ST, SV, NT, PO_4 , PT, NO_2 e NO_3 parâmetros que apresentaram redução intensa após as lagoas anaeróbias. A correlação foi média ($r > 0,5$) com os parâmetros que apresentaram um perfil de redução mais intenso no final do sistema como NH_4^+ , SSV e SST. Todos os parâmetros tiveram correlação inversa com o pH, uma vez que houve progressiva alcalinização ao longo das lagoas (Tabela 3.2).

No presente estudo buscou-se ainda avaliar a eficácia do sistema em relação à redução do Número Mais Provável (NMP) médio de Coliformes Totais (CT) e Fecais (CF). A decantação, etapa anterior à lagoa anaeróbia, determinou intensa redução dos parâmetros físico-químicos, o mesmo não acontecendo em termos de CT e CF. Este fato indica a importância, em termos sanitários, do tratamento da fração líquida dos dejetos antes da liberação aos corpos de água ou utilização como adubo. Caso não sejam tratados, estes poderão vir a percolar até a água subterrânea determinando, a longo prazo, a contaminação da mesma.

Evidenciou-se diferença significativa ($p < 0,05$) entre os pontos iniciais (P1 e P3) e os demais (Figura 3.1); havendo redução de 99% de CT e 99% de CF comparando-se o NMP médio no início (P1) e no final (P14) do sistema. No período de 12 meses, 80% das amostras de efluente (P14) apresentaram NMP até 564 ufc/100ml para coliformes totais e 252 ufc/100ml para coliformes fecais. Esses valores são satisfatórios, considerando-se que efluentes líquidos não deverão conferir ao corpo receptor características em desacordo com os critérios e padrões de qualidade de água, adequados aos diversos usos e benefícios previstos para o corpo de água. Para as águas de classe 2 (destinadas ao abastecimento doméstico, após tratamento convencional, à irrigação de hortaliças ou plantas frutíferas e à recreação de contato primário) são estabelecidos os limites do NMP até 5×10^3 para CT e 10^3 para CF (Governo do Estado de Santa Catarina, 2001).

O NMP mediano do ponto P14 esteve entre 23 ufc/100ml de CT e 4 ufc/100ml de CF no outono/inverno e 55 ufc/100ml de CT e 36,5 ufc/100ml de CF na primavera/verão. Verificou-se a existência de forte correlação dos NMP de CF com CT

($r=0,880$). Os valores médios do NMP de CT foram, em geral, maiores no outono/inverno, não havendo diferença significativa entre as estações climáticas em nenhum dos pontos amostrados ($p=0,236$ no ponto 14). Ao contrário, os valores médios do NMP de CF foram maiores na primavera/verão, não havendo diferença significativa em nenhum dos pontos amostrados ($p=0,347$ no ponto 14) (Figura 3.2). Esta discrepância entre a mediana encontrada e os valores máximos encontrados em 80% das amostras são explicados pelo eventual aumento do NMP do efluente em algumas ocasiões. Estes eventos estavam associados, geralmente, a fatores climáticos ou estruturais que dificultariam o fluxo dos dejetos ao longo das lagoas, modificando o tempo de retenção das mesmas.

O pH e a temperatura são considerados fatores importantes na redução do número de coliformes. Segundo Jones (1980), o pH dos dejetos de suínos varia de 6,2 a 8 (com média de 7,4) sendo que apresenta uma curva de declínio relacionada com a temperatura e o conteúdo sólido. No sistema observado, verificou-se correlação inversa média entre pH e ST ($r=-0,585$, com $p=0,001$), não havendo correlação significativa ($r=0,085$) entre pH e temperatura. Observou-se ainda, incremento estatisticamente significativo do pH e não declínio, como descrito por Jones (1980), encontrando-se diferença significativa entre os pontos iniciais (P1 e P3), após a lagoa anaeróbia (P9) e as demais lagoas aeróbias (P10 a P14), com pH médio variando de 7,25 a 8,12 nos diferentes pontos do sistema. O pH variou de 7 a 8,3 no ponto de saída do efluente (P14), valores estes dentro dos padrões de emissão de efluentes líquidos no Estado de Santa Catarina pelos Decreto N° 14.250/81 e Decreto N° 19.380/83, estabelecido entre 6 e 9.

Em lagoa aeróbia facultativa para o tratamento de efluentes humanos, foi observado decréscimo do número de *E. coli* de 97,36% e 99,99%, em pH controlado (8,2) e sem controle (variando de 10,2 a 9,7), respectivamente (Fernandez et al., 1992). Também em sistema anaeróbio, para tratamento de dejetos suínos, foi observada a influência do pH na eliminação de *E. coli* e *Salmonella* (Henry et al., 1983). Embora o pH afete a eliminação de coliformes, a competição e o fenômeno predatório parecem exercer efeito crítico na sobrevivência de patógenos.

A temperatura ambiental média no período foi 16,51°C (\pm 2,86) no outono/inverno e 21,15°C (\pm 3,03) na primavera/verão, sendo a diferença estatisticamente significativa ($p=0,001$). Evidenciou-se correlação moderada entre a temperatura no sistema de tratamento e a temperatura média mensal no período primavera/verão ($r=0,605$), sendo que no outono/inverno esta não foi significativa ($r<0,50$).

Nos sistemas biológicos, a influência da temperatura é bastante importante, pois as velocidades das reações bioquímicas são diretamente afetadas pela temperatura (Oliveira, 1993). No sistema de tratamento acompanhado não foi verificada correlação do NMP de CT e CF com a temperatura, discordando de Markosová; Jezek (1994), que afirmam existir correlação positiva entre temperatura e coliformes em ambientes aquáticos Faust et al. (1975), também sugerem que a temperatura da água é o fator mais importante para predizer a sobrevivência de coliformes fecais como parâmetro de qualidade dos efluentes lançados em ecossistemas hídricos. Entretanto deve-se considerar que em regiões de clima subtropical não ocorrem temperaturas máximas e mínimas extremas que venham a interferir no metabolismo microbiano a ponto de diminuir ou impedir as funções relacionadas à sobrevivência.

Ao lado disto, verificou-se correlação média de CT e CF com ST e SV no período de primavera/verão e correlação branda, no outono/inverno. Sabe-se que os sólidos em suspensão podem ser mensurados através da turbidez, que se caracteriza pela alteração da penetração da luz na água provocada por partículas em suspensão (Porto et al., 1991). A influência negativa da luz sobre a vida das bactérias é mais evidente em regiões e épocas de intensa radiação solar, sendo que em águas muito turvas, a inibição causada pela luz é possível unicamente na camada superficial, de poucos centímetros (Rheinheimer, 1987). Este fato explicaria a correlação entre a quantidade de materiais em suspensão e sobrevivência de coliformes, mais evidente no período de maior frequência de dias ensolarados. Ao lado disto, 70% dos sólidos totais constituem-se em matéria orgânica, a qual servirá de substrato aos microorganismos (Boyle, 1993).

O sistema em estudo demonstrou ser eficaz na redução do número de coliformes e salmonelas ao longo do tratamento. Diferentemente de Morozzi et al. (1988) que

observaram redução de 90% e 97% nos coliformes fecais em sistemas anaeróbios e aeróbios, respectivamente, observa-se que, tanto para os parâmetros físico-químicos como para os microbiológicos analisados, o tratamento anaeróbio foi o que determinou a maior redução. Este fato pode estar relacionado ao tipo de microrganismos presentes, mais adaptados ao ambiente destas lagoas e que, além de eficientes degradadores da matéria orgânica, levam vantagem na competição por nutrientes. Isto resultaria na seleção negativa de microrganismos patogênicos, mais adaptados à multiplicação no organismo animal. Apesar deste fato, a utilização de um pós-tratamento com lagoas facultativas e aeróbias não deve ser dispensado (Strauch, 1991) uma vez que neste sistema ocorre redução significativa de mesófilos totais e coliformes (Tiquia; Tam, 2000).

Embora tenha ocorrido a redução dos parâmetros físico-químicos analisados no sistema estudado, este sistema pode ainda ser otimizado. Neste sentido a introdução de novas etapas de tratamento poderão vir a colaborar para a degradação de compostos nitrogenados e fósforo.

REFERÊNCIAS

1. BOYLE, M. **Microbial ecology of sewage treatment**. In: Aquatic Microbiology: an ecological approach. Boston, Blackwell, 1993. cap. 17, p. 441 - 454.
2. CÁCERES, RA. **Estadística multivariante y no paramétrica com SPSS**. Madrid, Díaz de Santos, 1995.
3. CEBALLOS, B.S.O. de; LIMA, E.O. de; KÖNIG, A.; MARTINS, M.T. Spatial and temporal distribution of fecal coliforms, coliphages, moulds and yeasts in freshwater at the semi-arid tropic northeast region in Brazil (Paraíba State). **Revista de Microbiologia**, São Paulo, v.2, n. 26, p. 90 -100, 1995.
4. DAY, D.L.; FUNK, T.L. Processing Manure: Physical, Chemical and Biological Treatment. In: HATFIELD, J.L.; STEWARD, B.A (ed) **Animal Waste Utilization: Effective use of manure as a Soil Resource**. Michigan/ USA, Ann Arbor, 1998. p. 243 - 282.
5. FAUST, M.A.; AOTAKY, A.E.; HARGADON, M.T. Effect of physical parameters on the in situ survival of *Escherichia coli* MC-6 in a stuarine environment. **Applied Microbiology**, v. 30, n. 5, p. 800 - 806, 1975.

6. FERNANDEZ, A.; TEJEDOR, C.; CHORDI, A. Influence of pH on the elimination of fecal coliform bacteria in waste stabilization ponds. **Water, Air and Soil Pollution**. v. 63, p. 317 – 320, 1992.
7. GOVERNO DO ESTADO DE SANTA CATARINA. **Legislação Ambiental Básica**. <http://www.sc.gov.br/fatma>. Capturado em 03/09/2001.
8. HACH COMPANY. **Analytical procedures for DR/2000 and DR/3000 Instruments - physical and chemical determination methods for water and wastewater**. Loveland/ USA, Hach, sd.
9. HENLICH, W. [Microflora in swine slurry as a parameter in determining the efficiency of deodorizing treatment. I. Continuous and discontinuous aeration treatment]. **Zentralblatt Bakteriologie und Mikrobiologie Hygiene [B]**. v. 181, n. 1 – 2, p. 37 – 51, 1985.
10. JONES, P.N. Health hazards associated with the handling of animal wastes. **The Veterinary Records**, v.5, p.4 -7 , 1980.
11. KEARNEY, T.E.; LARKIN, M.J.; FROST, J.P.; LEVETT, P.N. Survival of pathogenic bacteria during mesophilic anaerobic digestion of animal waste. **Journal of Applied Bacteriology**. v. 75, n. 3, p. 215 – 219, 1993.
12. LARSEN, H.E.; MUNCH, B.; SCHLUNDT, J. Use of indicators for monitoring the reduction of pathogens in animal waste treated in biogas plants. **Zentralblatt Hygiene Umweltmed**. v. 195, n. 5 – 6, p. 544 – 555, 1994.
13. MARKOSOVÁ, R.; JEZEK, J. Indicator bacteria and limnological parameters in the fish ponds. **Water Research**, Great Britain. v. 28, n. 12, p. 2477 – 2485, 1994.
14. MOROZZI, G.; SPORTOLARI, R.; CALDINI, G.; GENCI, G.; MOROSI, A. The effect of anaerobic and aerobic wastewater treatment on faecal coliforms and antibiotic-resistant faecal coliforms. **Zentralbl. Bakteriolog. Mikrobiol. Hyg. [B]**, v.185, n. 4 -5, p. 340 - 349, 1988.
15. OLIVEIRA, P.A.V. (coord). **Manual de manejo e utilização de dejetos suínos**. Concórdia, Santa Catarina: Embrapa-CNPSA, 1993. 188p.
16. PORTO, M.F.A P. **Estabelecimento de Parâmetros de Controle da Poluição**. In: PORTO, R.L.L. (Org.). **Hidrologia Ambiental**, São Paulo, EDUSP/ ABRH, 1991. Cap. 3, p. 375 - 411.
17. RHEINHEIMER, G. **Microbiologia de las Aguas**. 4 ed. Zaragoza, Acribia, 1987. 299 p.

18. ROPPA, L. Suinocultura Brasileira. **Suinocultura Industrial**, n. 134, p. 24 -32, 1998.
19. STRAUCH, D. (ed.) **Animal Production and Environmental Health**. Amstendam, Elsevier, 1987.
20. STRAUCH, D. Survival of pathogenic micro-organisms and parasites in excreta, manure and sewage sludge. **Veterinary Science and Technology**, v. 10, n. 3, p. 813 -846, 1991.
21. TIQUIA, S.M.; TAM, N.F.Y. Co-composting of spent pig litter and sludge with forced-aeration. **Bioresource Technology**, v. 72, p. 1 - 7, 2000.

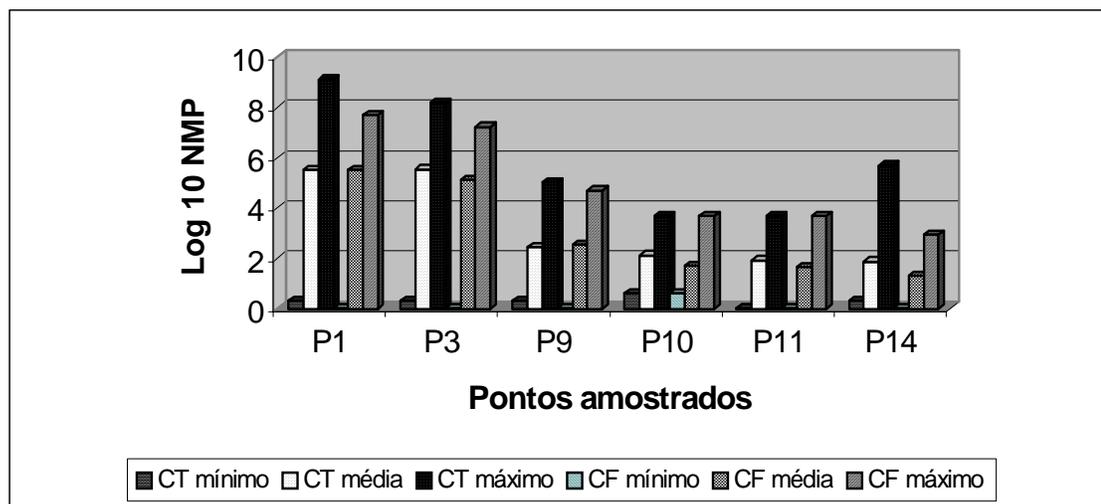


FIGURA 3.1: NMP mínimo, médio e máximo, transformado em Log 10, de coliformes totais (CT) e fecais (CF) em seis pontos (P1 a P14) de um sistema de tratamento de dejetos suínos, no período de junho de 1999 a maio de 2000.

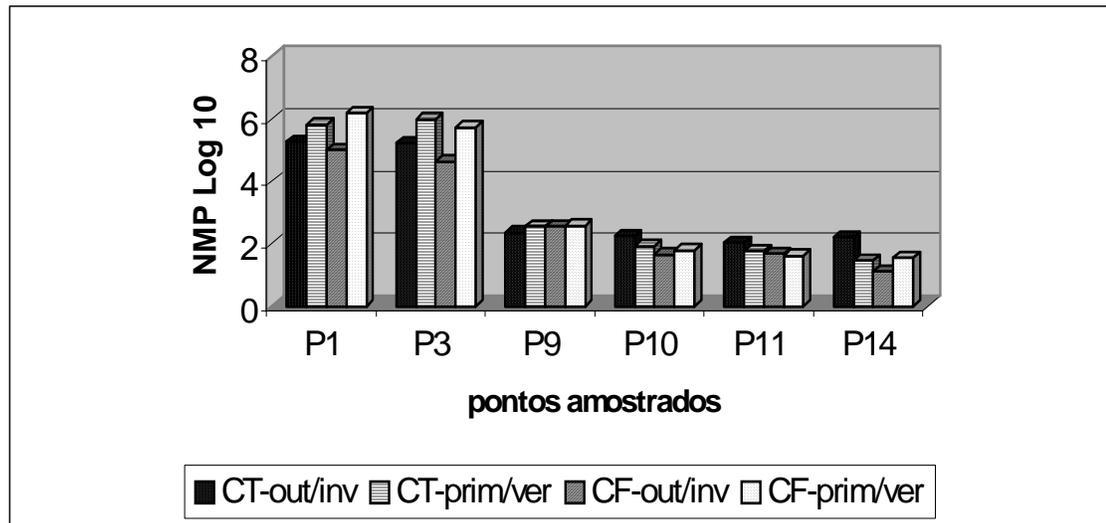


FIGURA 3.2: Valores médios, transformados em Log 10, do Número Mais Provável (NMP) de Coliformes Totais (CT) e Coliformes Fecais (CF), em duas estações climáticas (primavera/verão e outono/inverno) em seis pontos (P1, P3, P9, P10, P11 e P14) de um sistema de tratamento de dejetos suínos, no período de junho de 1999 a maio de 2000.

TABELA 3.1: Valores médios das variáveis físico-químicas Demanda Bioquímica de Oxigênio, Demanda Química de Oxigênio, sólidos totais, sólidos solúveis totais, sólidos voláteis, sólidos solúveis voláteis, fósforo total, ortofosfato, nitrogênio total, nitrato, nitrito, amônio e pH amostradas em seis pontos (P1, P3, P9, P10, P11 e P14) de um sistema de tratamento de dejetos suínos, no período de junho de 1999 a maio de 2000.

Análises ¹ (mg/L)	P1		P3		P9		P10		P11		P14	
	Média	dp ²	Média	dp	Média	dp	Média	dp	Média	dp	Média	dp
DBO	7303 ^a	2542	5583 ^a	2712	1405 ^b	932	604 ^c	200	354 ^d	150	184 ^e	45
DQO	15638 ^a	5527	11154 ^b	5158	3111 ^c	1899	1363 ^d	464	796 ^d	720	446 ^e	89
NT	2000 ^{ab}	0	2273 ^a	449	1727 ^b	351	1134 ^c	287	840 ^d	149	509 ^e	97
ST	11856 ^a	5648	9567 ^a	2498	6451 ^b	6590	3236 ^c	467	3040 ^c	409	2678 ^c	458
SV	7897 ^a	4351	6255 ^a	2056	3219 ^b	3938	1336 ^c	547	1227 ^c	444	1053 ^c	321
PT	341 ^a	84	405 ^a	115	180 ^b	105	103 ^c	13	89 ^c	89	103 ^c	126
NO ₃	564 ^a	165	451 ^a	88	178 ^b	188	77 ^c	10	68 ^c	16	50 ^c	9
SST	6732 ^a	5302	4471 ^a	2136	3711 ^b	6715	516 ^c	285	399 ^{cd}	210	239 ^d	81
SSV	4790 ^a	4201	3257 ^a	1821	2277 ^b	3923	380 ^c	239	313 ^{cd}	206	185 ^d	26
PO ₄	1159 ^a	380	1304,00 ^a	362	532,48 ^b	252	313 ^c	44	269 ^c	46	291 ^c	327
NO ₂	2143 ^a	661	1591,11 ^a	436	669,45 ^b	953	192 ^b	149	15 ^b	123	129 ^b	100
NH ₄	910 ^a	10	1123,67 ^a	306	945,56 ^a	280	648 ^b	185	429 ^c	91	235 ^d	71

^{a, b, c, d, e} letras diferentes na mesma linha indicam que houve diferença significativa (P<0,05)

¹DBO - Demanda Bioquímica de Oxigênio, DQO - Demanda Químico de Oxigênio, ST - sólidos totais, SST - sólidos solúveis totais, SV - sólidos voláteis, SSV - sólidos solúveis voláteis, PT - fósforo total, PO₄ - ortofosfato, NT - nitrogênio total, NO₃ - nitrato, NO₂ - nitrito e NH₄ - amônio. ²dp - Desvio padrão

TABELA 3.2: Valores da Correlação de Pearson (r) das variáveis físico-químicas Demanda Bioquímica de Oxigênio, Demanda Químico de Oxigênio, sólidos totais, sólidos solúveis totais, sólidos voláteis, sólidos solúveis voláteis, fósforo total, ortofosfato, nitrogênio total, nitrato, nitrito, amônio e pH amostradas em um sistema de tratamento de dejetos suínos, no período de junho de 1999 a maio de 2000.

	DBO	DQO	ST	SV	NT	NH4	SST	SSV	PO4	PT	PH	NO2
DBO**	-											
DQO	0,991*	-										
ST	0,726	0,740	-									
SV	0,784	0,795	0,986	-								
NT	0,794	0,785	0,634	0,670	-							
NH4	0,675	0,668	0,454	0,495	0,909	-						
SST	0,607	0,631	0,970	0,937	0,556	0,383	-					
SSV	0,648	0,674	0,969	0,958	0,589	0,413	0,986	-				
PO ₄	0,815	0,791	0,644	0,712	0,752	0,655	0,522	0,556	-			
PT	0,777	0,761	0,692	0,743	0,708	0,587	0,600	0,630	0,977	-		
PH	-0,687	-0,680	-0,585	-0,603	-0,668	-0,572	-0,468	-0,471	0,811	-0,774	-	
NO ₂	0,769	0,775	0,802	0,821	0,734	0,607	0,735	0,733	0,747	0,774	-0,555	-
NO ₃	0,867	0,871	0,813	0,858	0,783	0,636	0,724	0,745	0,818	0,832	-0,662	0,954

*correlação de Pearson (valor de r)

**DBO - Demanda Bioquímica de Oxigênio, DQO - Demanda Químico de Oxigênio, ST - sólidos totais, SST - sólidos solúveis totais, SV - sólidos voláteis, SSV - sólidos solúveis voláteis, PT - fósforo total, PO₄ - ortofosfato, NT - nitrogênio total, NO₃ - nitrato, NO₂ - nitrito, NH₄ - amônio e pH - potencial hidrogênio.

CAPÍTULO 4

RESISTÊNCIA A ANTIMICROBIANOS DE AMOSTRAS DE *Escherichia coli* ISOLADAS EM ESTAÇÃO DE TRATAMENTO DE DEJETOS DE SUÍNOS.

Verônica Schmidt¹, Carina Philomena Trebich Gottardi², Marisa Riberio de Itapema
Cardoso¹

¹Médica Veterinária, Professora Departamento de Medicina Veterinária Preventiva -
Faculdade de Veterinária/UFRGS, Av. Bento Gonçalves, 9090 - 91540-000 - Porto
Alegre/RS veroschmidt@hotmail.com

²Graduanda em Medicina Veterinária/ UFRGS – bolsista de Iniciação Científica/
PROPESQ/UFRGS

Artigo a ser submetido

RESUMO

No presente estudo foi avaliada a resistência a antimicrobianos de 186 amostras de *Escherichia coli* (*E. coli*) isoladas de uma estação de tratamento de dejetos de suínos composto por lagoas de estabilização interligadas. O perfil de resistência foi determinado pelo método de difusão em ágar, usando 14 antimicrobianos. Observou-se resistência contra sulfonamida (99,5%), tetraciclina (97,3%), ampicilina (96,8%), estreptomicina (96,2%), sulfa/trimetoprima (95,2%), ácido nalidíxico (82,8%), cloranfenicol (70,4%), cefaclor (71,5%), neomicina (38,2%), gentamicina (37,1%), tobramicina (35,5%), ciprofloxacina (30,1%), amoxicilina/ácido clavulânico (11,8%) e amicacina (9,1%). A resistência a quatro ou mais antimicrobianos esteve presente em 99,5% das amostras de *E. coli*. O padrão de multirresistência foi mantido ao longo do sistema, apesar de verificar-se uma tendência à diminuição da resistência nas amostras isoladas após a passagem pelas lagoas aeróbias. As amostras, tanto do afluente como do efluente do sistema, apresentaram grande variabilidade nos perfis de resistência.

Palavras chaves: *Escherichia coli*; antimicrobianos, suínos, lagoas de estabilização

ABSTRACT

Antibiotic resistance of 186 Escherichia coli strains isolated from a stabilization pond system on a pig-breeding farm was evaluated. Strains were tested for their resistance against 14 antibiotics using the agar diffusion method. Escherichia coli (E. coli) strains showed resistance to sulfonamide (99.5%), tetracycline (97.3%), ampicillin (96.8%), streptomycin (96.2%), sulfamethoxazole/trimethoprim (95.2%), nalidixic acid (82.8%), cefaclor (71.5%), chloramphenicol (70.4%), neomycin (38.2%), gentamicin (37.1%), tobramycin (35.5%), ciprofloxacin (30.1%), amoxicillin/clavulanic acid (11.8%) and amikacin (9.1%). Most E. coli strains (99.5%) were resistant to four or more antibiotics. The multiresistance pattern was found in strains isolated from all sampled points of the system, but a tendency of a lower resistance could be observed

after the aerobic lagoons. Isolates from both, affluent and effluent, showed a high variability in the antibiotic resistance pattern.

*Key words: **Escherichia coli**; antibiotic-resistant, pig, stabilization ponds*

4.1 INTRODUÇÃO

A intensificação dos métodos de produção em suinocultura levaram ao aparecimento de uma série de doenças relacionadas com as novas tecnologias introduzidas. Para o controle dessas enfermidades, assumiram papel preponderante os produtos antimicrobianos, usados principalmente através da ração. A função dos mesmos tem sido restabelecer o equilíbrio perdido, criando as condições necessárias para uma suinocultura lucrativa (Barcellos; Sobestianski, 1998). Por outro lado, o uso crescente de antimicrobianos em animais tem sido apontado como uma das possíveis causas da emergência de linhagens bacterianas resistentes (Mathew et al., 1999). Neste sentido, o monitoramento do nível de resistência de bactérias intestinais, como a *Escherichia coli* (*E. coli*), tem sido proposto como um bom indicador da pressão de seleção exercida pelos antimicrobianos (Bogaard; Stobbering, 1999).

Outra preocupação, relacionada ao processo de produção intensiva de suínos, tem sido a quantidade de dejetos gerados nas granjas, bem como o potencial poluente e a carga bacteriana que os mesmos representam. Como forma de atenuar o impacto que os dejetos representam no ambiente, é imprescindível que granjas de suínos possuam sistemas de tratamento de dejetos, sendo que os mais usados são aqueles constituídos por lagoas de estabilização em série (Strauch, 1991).

O papel que o tratamento de dejetos exerce no nível de resistência de bactérias habitantes do trato gastrointestinal ainda é controverso. Enquanto que alguns estudos apontam para um efeito benéfico, representado pela redução do nível de resistência das amostras durante o tratamento, outros afirmam que a passagem pelas lagoas propiciaria a troca de genes entre linhagens bacterianas, resultando no aumento da multirresistência (Bell et al., 1983; Andersen, 1993).

Em estudo anterior, realizado em sistema de lagoas em série localizado no sul do Brasil, observou-se que havia uma redução considerável da população de coliformes presente nos dejetos durante o tratamento (Schmidt et al., 2002). Dando seqüência a este estudo, o objetivo do presente trabalho foi determinar o perfil de resistência a antimicrobianos de amostras de *Escherichia coli* isoladas ao longo do sistema de tratamento, comparando os perfis de multirresistência das amostras antes e após o tratamento.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1 Amostras: o sistema de tratamento estudado localiza-se no sul do Brasil, recebendo dejetos de cerca de 4.000 matrizes e 30.000 suínos em crescimento e terminação. Os dejetos liquefeitos são levados até tanques de armazenamento localizados imediatamente antes da planta de tratamento. Após a etapa de separação física em peneiras, a fração líquida passa por um tanque de sedimentação e sete lagoas em série (duas anaeróbias, uma facultativa, uma com aeração mecânica e três aeróbias). Foram realizadas 20 coletas quinzenais em sete pontos ao longo do sistema de tratamento: após o tanque de armazenamento (P1), após o tanque de sedimentação (P3), lagoa de lodo (PA), após a segunda lagoa anaeróbia (P9), após a lagoa facultativa (P10), após a lagoa com aeração mecânica (P11) e após a terceira lagoa aeróbia (P14). As amostras coletadas em cada ponto foram refrigeradas e enviadas para serem processadas no Setor de Medicina Veterinária Preventiva da UFRGS.

4.2.2 Amostras de *E. coli*: nas amostras coletadas nos diferentes pontos do sistema de tratamento, foi realizada a pesquisa do Número Mais Provável (NMP) de coliformes totais (CT) e fecais (CF), através da técnica dos tubos múltiplos. A partir dos tubos de caldo EC com formação de gás, amostras de *E. coli* foram obtidas em ágar MacConkey. Três colônias típicas foram coletadas aleatoriamente em cada placa e identificadas através de provas bioquímicas, segundo Lennete et al. (1985). A seguir, as 186 amostras identificadas como *E. coli* foram armazenadas em caldo cérebro coração com 20% de

glicerol a -20°C até serem testadas quanto à resistência a antimicrobianos. A proveniência das amostras confirmadas foi a seguinte: 33 amostras do P1, 24 do PA, 27 do P3, 25 do P9, 29 do P10, 25 do P11 e 22 do P14.

4.2.3 Antibiograma: foi utilizado o método de difusão em ágar (Barry; Thornsberry, 1985), sendo testados discos (Cecon) impregnados com os seguintes antimicrobianos: ácido nalidíxico (**na**; 30 μg), amicacina (**a**; 30 μg), amoxicilina/ácido clavulânico (**ac**; 20/10 μg), ampicilina (**ap**; 10 μg), cefaclor (**cf**; 30 μg), ciprofloxacina (**cp**; 5 μg), cloranfenicol (**c**; 30 μg), estreptomicina (**e**; 10 μg), gentamicina (**g**; 10 μg), neomicina (**n**; 30 μg), sulfonamida (**su**; 300 μg), sulfa/trimetoprima (**s**; 5 μg); tetraciclina (**t**; 30 μg) e tobramicina (**tb**; 10 μg).

4.2.4 Índice MAR: para o cálculo do índice de multirresistência (MAR), as amostras de *E. coli* isoladas nos sete pontos amostrados ao longo do sistema foram divididas em três grupos: S1 (PA, P1 e P3), S2 (P9) e S3 (P10, P11 e P14). O índice MAR foi calculado separadamente para cada grupo através da fórmula $a/(bxc)$, onde *a* é o escore de resistência agregada de todas as amostras de *E. coli* pertencentes ao grupo; *b* é o número de antimicrobianos testados no estudo e *c* é o número de amostras de *E. coli* no grupo testado (Krumperman, 1983; Kaspar; Burges, 1990).

4.2.5 Análise estatística: diferenças significativas entre resistência antimicrobiana nos diferentes pontos foram determinadas pelo teste *t* ($p < 0,05$). Para a construção do dendrograma, os dados foram convertidos em código binário e a semelhança entre as amostras foi medida através da distância Euclidiana (Parveen et al., 1997). Os dados foram avaliados estatisticamente utilizando o programa SPSS 8.0 (Cáceres, 1995).

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todas as 186 amostras de *Escherichia coli* testadas foram resistentes a pelo menos um antimicrobiano, sendo que 99,5% das amostras foram resistentes a pelo

menos quatro destes. O número de marcadores de resistência concomitantes variou entre dois (uma amostra) e 14 (uma amostra), sendo que a maioria das amostras (25,8%) foi resistente a nove antimicrobianos. A percentagem de amostras resistentes foram assim distribuídas: sulfonamida (99,5%), tetraciclina (97,3%), ampicilina (96,8%), estreptomicina (96,2%), sufa/trimetoprima (95,2%), ácido nalidíxico (82,8%), cefaclor (71,5%), cloranfenicol (70,4%), neomicina (38,2%), gentamicina (37,1%), tobramicina (35,5%), ciprofloxacina (30,1%), amoxicilina/ácido clavulânico (11,8%) e amicacina (9,1%).

A crescente preocupação com o surgimento de linhagens bacterianas resistentes a antimicrobianos tem levado à discussão sobre critérios a serem adotados para a escolha de antimicrobianos que possam ser usados em animais e aqueles que devam ser evitados (Webber; Piddock, 2001). O ponto crucial a ser considerado é que o surgimento de bactérias resistentes está associado a dois fatores: pressão de seleção e a presença de genes de resistência (Witte, 2000). Neste sentido, é sabido que os genes de resistência estão bastante disseminados entre as bactérias, sendo alguns transmissíveis entre diferentes gêneros bacterianos (Schwarz; Chalus-Dancla, 2001). Na produção animal, além da pressão de seleção ocasionada pelo uso de antimicrobianos, existe a possibilidade da disseminação de genes de resistência no ambiente através de bactérias pertencentes à microbiota intestinal presentes nos dejetos. Associado a isto, está a possibilidade, já demonstrada, de transferência de genes de resistência entre bactérias no ambiente (Witte, 2000).

No sistema de produção acompanhado no presente estudo, observou-se um elevado nível de resistência a antimicrobianos usados tradicionalmente na área de produção animal, como por exemplo a tetraciclina, a sulfonamida e a ampicilina. Percentagens de resistência elevadas a estes antimicrobianos, geralmente acima de 50%, têm sido observadas em diversos países (van den Bogaard et al., 2000; Saenz et al., 2001) por conta do uso intensivo dos mesmos. Por outro lado, observou-se alta resistência também a antimicrobianos mais recentemente em uso, como é o caso das cefalosporinas e quinolonas. No período de estudo haviam sido administrados aos animais lincomicina, amoxicilina, sulfadiazina, trimetoprima, gentamicina,

norfloxacin, tilosina e oxitetraciclina. Ou seja, houve um nível alto de resistência mesmo contra princípios ativos não utilizados no período como, por exemplo, o cloranfenicol e o cefaclor. Segundo alguns estudos, isto ocorreria em virtude de vários genes de resistência estarem localizados em elementos transponíveis, plasmídeos ou integrons. Nestes casos, a utilização de qualquer um dos antimicrobianos alvo de um dos genes de resistência presentes, induziria a seleção de todo o grupo (Schwarz; Chaslus-Dancla, 2001).

Observou-se que cerca de 30,1% das amostras de *E. coli* isoladas no sistema de produção em estudo eram resistentes à ciprofloxacina e 82,7% ao ácido nalidíxico. As quinolonas são antimicrobianos que têm sido usados no tratamento de humanos, sendo também utilizadas, em escala diversa, em animais. Apesar de inicialmente julgar-se que a resistência a estas drogas seria rara, tem sido observado o aparecimento de um crescente número de bactérias Gram negativas resistentes (Garau et al., 1999). Estas amostras resistentes não têm sido associadas à transferência gênica, mas à expressão de uma capacidade intrínseca da *E. coli* de desenvolver resistência se exposta a um ambiente com pressão de seleção (Weber; Piddock, 2001). Ainda segundo os autores, a pressão de seleção pode ser exercida por qualquer uma das quinolonas ou fluorquinolonas, resultando na resistência a todo o grupo. No caso estudado, apesar de ter sido testada a ciprofloxacina, não utilizada nos animais, a resistência observada pode ter sido desencadeada pela utilização da norfloxacin que pertence ao mesmo grupo. Fato semelhante foi descrito por van den Bogaard et al. (1997) apud Saenz et al. (2001) em amostras de *E. coli* que demonstraram resistência à ciprofloxacina e que haviam sido isoladas de patos submetidos a tratamento com enrofloxacin.

Já o risco de linhagens resistentes de *E. coli*, provenientes de animais, poderem chegar a humanos através do ambiente ou da cadeia alimentar, tem sido sugerido através da comparação do perfil genético de amostras isoladas de aves e de trabalhadores de aviários (van den Bogaard et al., 2001). Entretanto, estudos de transferência *in vitro* de genes de resistência entre amostras de *E. coli* de suínos e de trabalhadores em contato com estes animais não foram conclusivos (Nijsten et al., 1996). Apesar disto, a constatação no presente estudo de um alto índice de amostras resistentes, mesmo que

provenientes de uma só propriedade, mostra a necessidade de investigar se este foi apenas um fenômeno isolado, ou se reflete uma seleção que esteja ocorrendo em *E. coli* presente no trato gastrointestinal de animais na região.

A importância do tratamento de dejetos na redução da população de coliformes já está estabelecida (Mezrioux; Baleux, 1994), tendo sido demonstrada também no sistema em estudo, onde observou-se a redução média de 76,23% nas contagens de coliformes fecais no efluente das lagoas de estabilização (Schmidt et al., 2002). Por outro lado, existem dados conflitantes a respeito do efeito que exercem as lagoas de estabilização sobre o nível de resistência a antimicrobianos em bactérias. Enquanto alguns autores afirmam que há redução da resistência de populações de *E. coli* após o tratamento em lagoas de estabilização (Bell, 1978; Avignon; Lafont, 1985; Andersen, 1993; Iwane et al., 2001), outros estudos demonstraram um efeito exatamente oposto (Bell et al. 1983; Morozzi et al., 1988; Hassani et al., 1992; Mezrioux; Baleux, 1994).

No presente estudo, comparado-se o percentual de amostras resistentes no início (S1) e no final (S3) do sistema, observou-se aumento significativo no número de amostras resistentes ao ácido nalidíxico (14,5%; $P=0,009$) e amicacina (10,8%; $P=0,037$), bem como redução ao cefaclor (17,4% $P=0,035$) (Figura 4.1). Já o índice MAR encontrado foi constante para S1, S2 e S3: 0,62; 0,61 e 0,61, respectivamente. Considerando apenas o P14, o índice MAR encontrado foi 0,52, ou seja, houve uma tendência à queda do número de amostras multirresistentes apenas após as três lagoas aeróbicas.

Em relação à resistência aos antimicrobianos, individualmente, houve uma tendência à redução da percentagem de resistência à maioria dos antimicrobianos nas amostras do P14 em comparação com as amostras do P1 (Tabela 4.1), entretanto apenas em relação à tetraciclina a redução pode ser estatisticamente assegurada. Confirmou-se, apesar de não assegurada estatisticamente, a tendência ao aumento de amostras resistentes ao ácido nalidíxico e à amicacina no efluente. O índice MAR encontrado, tanto ao longo como no final do sistema, seria classificado de alto risco, de acordo com o índice arbitrário estabelecido por Krumperman (1983). Segundo o autor, amostras de

E. coli com índice MAR acima de 0,2 poderiam agir como reservatórios de genes de resistência para outras bactérias, inclusive àquelas em contato com a população humana.

Segundo Andersen (1993), da mesma forma que são observadas variações nos níveis de eficiência quanto a reduzir a população bacteriana em diferentes plantas de tratamento de dejetos, o mesmo pode ocorrer em relação à remoção de linhagens multirresistentes. Este fato poderia explicar os dados conflitantes encontrados em relação ao tema. Atribui-se a um tempo de retenção superior a 45 dias a seleção ou surgimento de amostras resistentes em certos sistemas (Bell et al., 1983), o que não pôde ser aplicado no presente estudo. Neste caso, apesar do tempo de retenção ao longo das lagoas ser de aproximadamente 60 dias, não parece ter havido seleção nas amostras de *E. coli* resistentes.

Ainda Andersen (1993) sugeriu que o aumento na resistência de coliformes fecais observado ao final de alguns sistemas de tratamento poderia estar associado à mudança no tipo de bactérias presentes, havendo um aumento relativo de amostras do gênero *Klebsiella*, resistentes constitutivamente a alguns antimicrobianos. As amostras de *E. coli* multirresistentes, por sua vez, seriam mais sensíveis às condições das lagoas, sendo eliminadas ao longo do tratamento. No presente estudo, as amostras de *E. coli* isoladas no P14 eram, em sua maioria, resistentes a nove antimicrobianos, não diferindo das amostras do restante do sistema. Entretanto não foram encontradas neste ponto, amostras com onze ou mais marcadores de resistência, sempre presentes nos demais pontos, enquanto que foi constatada a presença de amostras com resistência a apenas dois e quatro antimicrobianos.

As amostras de *E. coli* demonstraram grande variabilidade nos perfis de resistência apresentados. Dos 85 perfis encontrados, o mais freqüente (ap-c-cf-cp-e-na-s-su) esteve presente em 12 amostras. No entanto, 72,3% dos perfis encontrados foram representados por apenas uma amostra.

A dissimilaridade dos perfis de resistência das amostras isoladas em S1, S2 e S3, medida pela distância Euclidiana, é apresentado nas Figuras 4.2 a 4.4. Na distância Euclidiana de aproximadamente 2,0 foram formados 6 grupos em S1 e S2, enquanto que em S3 apareceram 7 grupos. A distribuição dentro dos grupos também manteve-se

relativamente uniforme. Em S1 os grupos formados (A1 a A6) foram compostos de 19, 31, 3, 4, 28 e 1 amostra, respectivamente. Analisando a distribuição das amostras do início do sistema (P1), observa-se que as mesmas estão distribuídas em todos os grupos, sendo que a única amostra de A6 pertence também ao ponto 1. Esta amostra demonstrou ser a mais distante de todas, devido à sensibilidade à estreptomicina. Em S2 os grupos (B1 a B6) foram compostos por 13, 2, 1, 2, 6 e 1 amostra, respectivamente. O grupo B6, mais distante dos demais, é o único a apresentar sensibilidade à ampicilina e estreptomicina. Em S3 os grupos (C1 a C7) foram formados por 44, 14, 13, 1, 1, 1 e 1 amostra, respectivamente. O grupo C5 agrupa a única amostra sensível à tetraciclina e à sulfa/trimetoprima e resistente à amicacina; nos grupos C6 e C7 estão as únicas amostras resistentes a apenas 4 e 2 antimicrobianos, respectivamente. As amostras isoladas no P14 também estiveram distribuídas em todos os grupos, inclusive naqueles com apenas uma amostra. A partir disto observa-se que a variabilidade encontrada no início do sistema manteve-se no final do mesmo, o que também pode ser constatado pelo número de perfis de resistência apresentado: 25 perfis em P1 (n=33) e 17 perfis em P14 (n=22).

A partir disto, conclui-se que, apesar de o sistema de lagoas de estabilização estudado ter, anteriormente, demonstrado ser capaz de diminuir a população de coliformes fecais dos dejetos tratados e haver uma tendência de decréscimo na percentagem de resistência das amostras de *E. coli* do efluente, a diversidade e o nível de multirresistência não parece sofrer modificação ao longo do tratamento. Desta forma, o monitoramento do perfil de resistência em amostras de *E. coli* do efluente poderá vir a ser necessário como um novo parâmetro de impacto ambiental a ser avaliado. Por outro lado, os níveis de multirresistência bacteriana só poderão ser efetivamente diminuídos por medidas que interfiram na administração de antimicrobianos aos animais.

REFERÊNCIAS

1. ANDERSEN, S.R. Effects of Waste Water Treatment on the Species Composition and Antibiotic Resistance of Coliform Bacteria. **Current Microbiology**, New York, v.26, p. 97 - 103, 1993.

2. AVIGNON, M.; LAFONT, J.P. [Antibiotic-resistant coliforms in a purification station on a pig-breeding farm]. **Ann Rech Vet.**, v. 16, n. 3, p. 245 - 253, 1985.
3. BARCELLOS, D.E.S.N.; SOBESTIANSKI, J. **Uso de antimicrobianos em Suinocultura**. Goiânia: 1998. p.107.
4. BARRY, A.L.; THORNSBERRY, C. Susceptibility Test: Diffusion Test Procedures. In: LENNETE, E.H.; BALOWS, A.; HAUSLER JR, W.J.; SHADOMY, H.J. **Manual of Clinical Microbiology**, 4^{ed}. Washington: ASM, 1985. Cap. 102. p.978-987.
5. BELL, J.B.; ELLIOT, G.E.; SMITH, D.W. Influence of sewage treatment and urbanization on selection of multiple resistance in fecal coliform populations. **Applied and Environmental Microbiology**. v. 46, n. 1, p. 227 - 232, 1983.
6. BOGAARD, A.E. van den; STOBBERING, E.E. Antibiotic usage in animal: impact on bacterial resistance and public health. **Drugs**, v. 58, n. 4, p. 589 - 607, 1999.
7. CÁCERES, RA. **Estatística multivariante y no paramétrica com SPSS**. Madrid: Díaz de Santos, 1995. 389 p.
8. GARAU, J.; XERCAVINS, M.; RODRIGUEZ-CABALLEIRA, M. RAMON GOMEZ-VERA, J.R.; COLL, I.; VIDAL, D.; LLOVET, T.; RUIZ-BREMÓN, A. Emergence and dissemination of quinolone-resistant *Escherichia coli* in the community. **Antimicrob. Agents Chemother.**, v. 43, p. 2736-2741, 1999.
9. HASSANI, L.; IMZILN, B.; GAUTHIER, M.J. Antibiotic-resistant *Escherichia coli* from wastewater before and after treatment in stabilization ponds in the arid region of Marakech, Morocco. **Letters in Applied Microbiology**, London, v.15, p.228 - 231, 1992.
10. IWANE, T.; URASE, T.; YANAMOTO, K. Possible impact of treated wastewater discharge on incidence of antibiotic resistant bacteria in river water. **Water Sci. Technol.**, v. 43, n.2, p. 91-99, 2001.
11. KASPAR, C.W.; BURGESS, J.L. Antibiotic resistance Indexing of *Escherichia coli* to identify sources of fecal contamination in water. **Can. J. Microbiol.**, Ottawa, v. 36, p. 891 - 894, 1990.
12. KRUMPERMAN, P. H. Multiple Antibiotic Resistance Indexing of *Escherichia coli* to identify High-Risk Sources of Fecal Contamination of Foods. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.46, n.1, p. 165 - 170, 1983.
13. LENNETTE, E.H.; BALLOWS, A.; HAUSLER, W.J.; SHADOMY, H.J. **Manual of Clinical Microbiology**. 4. ed. New York, ASM, 1985.

14. MATHEW, A.G.; SAXTON, A.M.; UPCHURCH, W.G.; CHATTIN, S.E. Multiple antibiotic resistance patterns of *Escherichia coli* isolates from swine farms. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 65, n.6, p. 2770-2772, 1999.
15. MEZRIOUX, N.; BALEUX, B. Resistance patterns of *E. coli* strains isolated from domestic sewage before and after treatment in both aerobic lagoon and activated sludge. **Water Research**, New York, v.28, n.11, p. 2399-2406, 1994.
16. MOROZZI, G.; SPORTOLARI, R.; CALDINI, G.; CENCI, G.; MOROSI, A. The effect of anaerobic and aerobic wastewater treatment on faecal coliforms and antibiotic-resistant faecal coliforms. **Zentralbl. Bakteriologie, Mikrobiologie, Hygiene [B]**, Stuttgart, v. 185, n. 4 -5, p. 340 - 349, 1988.
17. NIJSTEN, R.; LONDON, N.; VAN DEN BOGAARD, A.; STOBBERINGH, E. Antibiotic resistance among *Escherichia coli* isolated from fecal samples of pig farmers and pigs. **J. Antimicrob Chemother.**, v. 37, p. 1131-1140, 1996.
18. PARVEEN, S.; MURPHREE, R.L.; EDMISTON, L.; KASPAR, C.W.; PORTIER, K.M.; TAMPLIN, M.L. Association of multiple-antibiotic-resistance profiles with point and nonpoint sources of *Escherichia coli* in Apalachicola Bay. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.63, n.7, p. 2607-2612, 1997.
19. SAENZ, Y.; ZARAZAGA, M.; BRINAS, L.; LANTERO, M.; RUIZ-LARREA, F.; TORRES, C. Antibiotic resistance in *Escherichia coli* isolates obtained from animals, foods and humans in Spain. **Int. Jour. Antimicrobial Agents**, v. 18, p. 353-358, 2001.
20. SCHMIDT, V.; GOTTARDI, C. P. T.; SANTOS, M. A. A.; CARDOSO, M. R. I. Perfil físico-químico e microbiológico de uma estação de tratamento de dejetos suínos. **Ars Veterinária**, São Paulo. (no prelo)
21. SCHWARZ, S.; CHASLUS-DANCLA, E. Use of antimicrobials in veterinary medicine and mechanisms of resistance. **Vet. Research**, Cambridge, v. 32, n. ¾, p. 201-226, 2001.
22. STRAUCH, D. Survival of pathogenic micro-organisms and parasites in excreta, manure and sewage sludge. **Vet. Sci. Tech.**, v. 10, n. 3, p. 813 -846, 1991.
23. VAN DEN BOGAARD, A.; LONDON, N.; STOBBERINGH, E. Antimicrobial resistance in pig faecal samples from the Netherlands (five abattoirs) and Sweden. **J. Antimicrob. Chemother.**, v. 45, n. 3, p. 663-671, 2000.
24. VAN DEN BOGAARD, A.; LONDON, N.; DRIESSEN, C.; STOBBERINGH, E. Antibiotic resistance of faecal *Escherichia coli* in poultry, poultry farmers and poultry slaughterers. **J. Antimicrob. Chemother.**, v. 48, n. 4, p. 587-588, 2001.

25. WEBBER, M.; PIDDOCK, L.J.V. Quinolone resistance in *Escherichia coli*. **Vet. Res.**, v. 32, p. 275-284, 2001.
26. WITTE, W. Ecological impact of antibiotic use in animals on different complex microflora: environment. **Int. Jour. Antimicrobial Agents**, Amsterdam, v. 14, p. 321-325, 2000.

TABELA 4.1: Comparação do número de amostras resistentes a antimicrobianos, isoladas no afluente (P1) e efluente (P14) de um sistema de tratamento de dejetos de suínos.

Antimicrobiano	P1 (n = 33)	P14 (n = 22)
Ácido nalidíxico	26	20
Amicacina	0	1
Ampicilina	32	19
Cefaclor	27	13
Ciprofloxacina	13	7
Cloranfenicol	27	13
Estreptomicina	32	20
Gentamicina	14	5
Neomicina	11	6
Sulfa/Trimetoprima	30	19
Sulfonamida	33	21
Tetraciclina	33 ^a	18 ^b
Tobramicina	12	5

a,b – letras diferentes indicam $P < 0,005$.

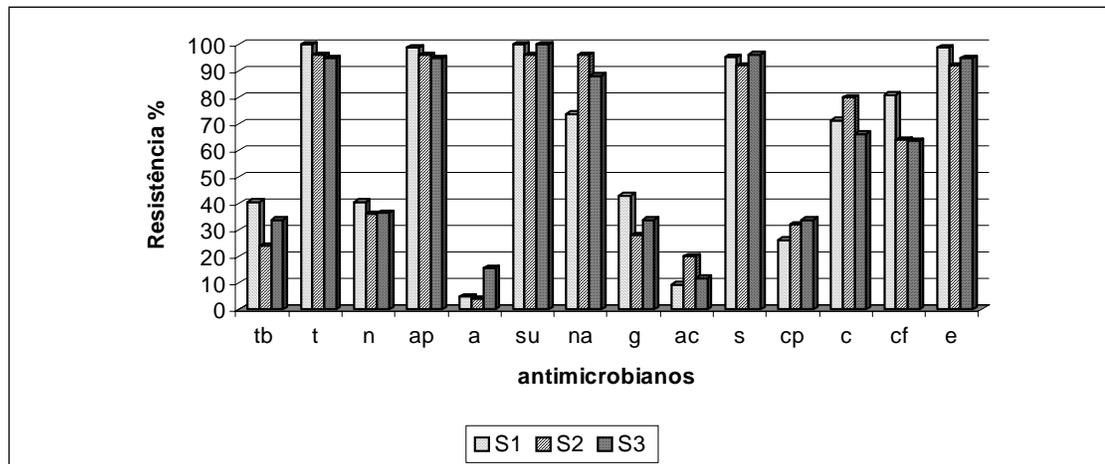


FIGURA 4.1: Resistência antimicrobiana (%) de 186 amostras de *Escherichia coli* isoladas em diferentes pontos de um sistema de tratamento de dejetos suínos S1= após tratamento físico (pontos PA, P1 e P3); S2= após lagoa anaeróbia (P9); S3= após lagoas facultativas (P10, P11 e P14); tb = tobramicina, t = tetraciclina, na = ácido nalidíxico, a = amicacina, c = cloranfenicol, e = estreptomicina, g = gentamicina, ap = ampicilina, ac = amoxicilina/ácido clavulânico, cp = ciprofloxacina, s = sulfa/trimetroprima, su = sulfonamida, cf = cefaclor, n = neomicina.

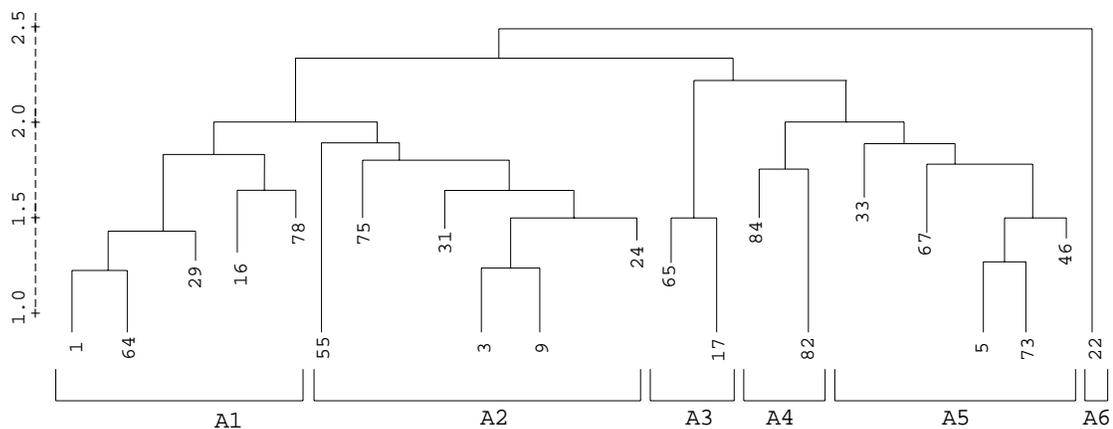


FIGURA 4.2: Dendrograma do perfil antimicrobiano de 86 amostras de *E. coli* isoladas após tratamento físico de um sistema de tratamento de dejetos suínos, determinado através da medida Euclidiana. Os seis grupos (A1 a A6) foram definidos na distância Euclidiana de 2,0. Números no dendrograma representam perfil de resistência antimicrobiana e não o número da amostra.

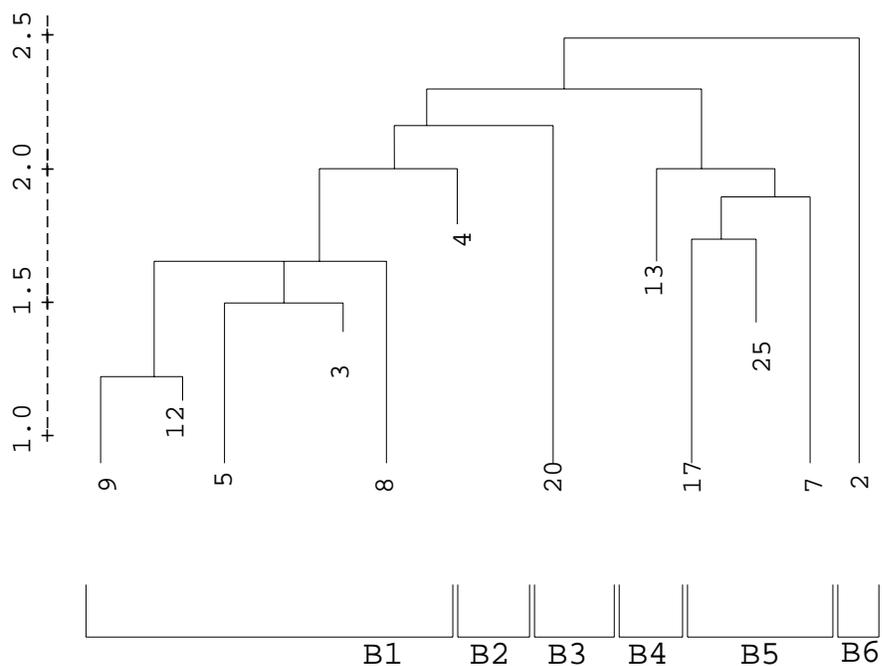


FIGURA 4.3: Dendrograma do perfil antimicrobiano de 25 amostras de *E. coli* isoladas de lagoas anaeróbias de um sistema de tratamento de dejetos suínos, determinado através da medida Euclidiana. Os seis grupos (B1 a B6) foram definidos na distância Euclidiana de 2,0. Números no dendrograma representam perfil de resistência antimicrobiana e não o número da amostra.

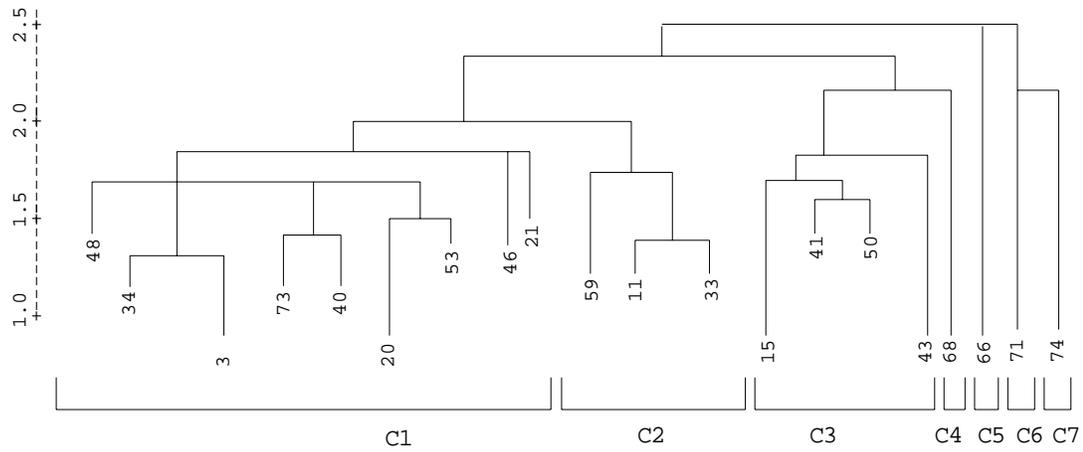


FIGURA 4.4: Dendrograma do perfil antimicrobiano de 75 amostras de *E. coli* isoladas de lagoas facultativas e aeróbias de um sistema de tratamento de dejetos suínos, determinado através da medida Euclidiana. Os sete grupos (C1 a C7) foram definidos na distância Euclidiana de 2,0. Números no dendrograma representam perfil de resistência antimicrobiana e não o número da amostra.

CAPÍTULO 5

SOBREVIVÊNCIA E PERFIL DE RESISTÊNCIA A ANTIMICROBIANOS DE *SALMONELLA* SP. ISOLADAS EM UM SISTEMA DE TRATAMENTO DE DEJETOS DE SUÍNOS.

Verônica Schmidt¹ Marisa Ribeiro de Itapema Cardoso¹

¹ Médica Veterinária, Professora do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Faculdade de Veterinária, UFRGS. Av. Bento Gonçalves, 9090, 91.540-000, Porto Alegre/RS, e.mail: veronica.schmidt@ufrgs.br

Artigo aceito para publicação: Revista Ciência Rural.

RESUMO

No presente estudo foi avaliada a sobrevivência de *Salmonella* sp. presente em dejetos suínos durante um processo de tratamento em um sistema de lagoas de estabilização em série. Nas amostras de *Salmonella* sp. isoladas foi determinado o perfil de resistência pelo método de difusão em ágar, usando 14 antimicrobianos. Das 20 coletas realizadas, foi possível isolar *Salmonella* sp. em 13 coletas no ponto correspondente ao início do sistema de tratamento e apenas em uma no ponto final do mesmo. Amostras de *Salmonella* sp. isoladas (161/163) pertenciam ao sorotipo Typhimurium e demonstraram resistência contra sulfonamida (100%), tetraciclina (99,4%), estreptomicina (90,1%), sulfa/trimetoprima (84,5%), ácido nalidíxico (77,6%), ampicilina (76,4%), cloranfenicol (29,2%), cefaclor (25,5%), tobramicina (13,7%), gentamicina (6,2%), amoxicilina/ácido clavulânico (5%), neomicina (5%) e amicacina (3,7%). A maioria (94,5%) das amostras isoladas foram resistente a quatro ou mais antimicrobianos e apresentaram grande variabilidade nos perfis de resistência. O nível de resistência e a variabilidade dos perfis mantiveram-se em nível semelhante ao longo do sistema.

Palavras-chave: *Salmonella* Typhimurium; antimicrobianos, suínos, lagoas de estabilização

SUMMARY

The survival of Salmonella sp. present in pig slurry that was submitted to waste treatment plant of successive stabilization ponds on a pig-breeding farm was investigated. The isolated Salmonella strains were tested for their resistance against 14 antibiotics, using the agar diffusion method. Of a total of 20 samples taken from different points in the stabilization ponds system, 13 were positive for Salmonella sp. in the beginning and only one at the end of the system. Most of the isolated Salmonella strains (161/163) belonged to sorovar Typhimurium. These strains were resistant to sulfonamide (100%), tetracycline (99.4%), sulfamethoxazole/trimethoprim (84.5%),

*ampicillin (76.4%), chloramphenicol (29.2%), streptomycin (90.1%), nalidixic acid (77.6%), tobramycin (13.7%), neomycin (5%), amikacin (3.7%), cefaclor (25.5%), gentamicin (6.2%) and amoxicillin/clavulanic acid (5%). Most **Salmonella** Typhimurium strains (94.5%) were resistant to four or more antibiotics. The multi-resistance level and the pattern variability of these strains were similar in the beginning and at the end of the stabilization ponds system.*

Key words: *Salmonella Typhimurium; antibiotic-resistance, swine, stabilization ponds.*

5.1 INTRODUÇÃO

O aumento da importância dos produtos de origem suína como fonte de contaminação por *Salmonella* sp. em humanos tem resultado na preocupação em avaliar e controlar a presença desta bactéria em rebanhos de todo o mundo (Blaha, 2001).

Ao lado disto, o uso crescente de antimicrobianos na suinocultura industrial tem sido acompanhado pela emergência de linhagens resistentes em diversos microrganismos, inclusive naqueles patogênicos (Fedorka-Cray et al., 1999).

Bactérias resistentes a antimicrobianos podem ser encontradas no ambiente contaminado com efluente industrial, humano ou animal, local onde sofrem pressão de seleção (Linton, 1988). Neste sentido, as plantas de tratamento de águas residuais podem ser consideradas o recipiente principal dos microrganismos entéricos carreadores de genes de resistência (Andersen, 1993). Entretanto a importância destes sistemas de tratamento na seleção ou eliminação de cepas multiresistentes permanece controversa. No caso de *E. coli*, tem sido proposto que a passagem por lagoas de estabilização selecionaria as linhagens mais resistentes e propiciaria a troca de determinantes de resistência a antimicrobianos entre grupos de enterobactérias (Hassani et al., 1992; Mezrioux; Baleux, 1994). No que se refere à passagem de dejetos contaminados com *Salmonella* sp. através de sistemas aeróbios ou anaeróbios de tratamento, parece haver a remoção das bactérias presentes (Juris et al., 1995; Juris et al., 1996). Estudos quanto ao perfil de resistência das linhagens de *Salmonella* sp. ao longo de sistemas de tratamento não foram encontrados.

O objetivo do presente estudo foi determinar a presença de *Salmonella* sp. durante o tratamento de dejetos suínos em lagoas de estabilização, bem como comparar o perfil de resistência a antimicrobianos das amostras bacterianas isoladas em diferentes pontos da planta de tratamento.

5.2 MATERIAL E MÉTODOS

5.2.1 Amostras: o sistema de tratamento estudado localiza-se no sul do Brasil, recebendo dejetos de cerca de 4.000 matrizes e 30.000 suínos em crescimento e terminação. Os dejetos liquefeitos são levados até tanques de armazenamento localizados imediatamente antes da planta de tratamento. Após a etapa de separação física em peneiras, a fração líquida passa por um tanque de sedimentação e sete lagoas em série (duas anaeróbias, uma facultativa, uma com aeração mecânica e três aeróbias). Foram realizadas 20 coletas quinzenais em sete pontos ao longo do sistema de tratamento: após o tanque de armazenamento (P1), após o tanque de sedimentação (P3), lagoa de lodo (PA), após a segunda lagoa anaeróbia (P9), após a lagoa facultativa (P10), após a lagoa com aeração mecânica (P11) e após a terceira lagoa aeróbia (P14). As amostras coletadas em cada ponto foram refrigeradas e enviadas para serem processadas no Setor de Medicina Veterinária Preventiva da UFRGS.

5.2.2 Isolamento das amostras: o isolamento de *Salmonella* sp. foi feito como descrito por Michael (2000). Colônias confirmadas como *Salmonella* sp. foram mantidas congeladas (-20°C) em caldo Infusão Cérebro e Coração acrescido de 20% de glicerol, até serem remetidas para sorotipagem no Instituto Oswaldo Cruz.

5.2.3 Antibiograma: de todos os pontos onde houve isolamento de *Salmonella* sp., no mínimo duas colônias confirmadas foram testadas quanto à resistência a antimicrobianos. Para tanto, foi utilizado o método de difusão em ágar (Barry; Thornsberry, 1985), sendo testados discos (Cecon) impregnados com os seguintes

antimicrobianos: ácido nalidíxico (**na**; 30 µg), amicacina (**a**; 30 µg), amoxicilina/ácido clavulânico (**ac**; 20/10 µg), ampicilina (**ap**; 10 µg), cefaclor (**cf**; 30 µg), ciprofloxacina (**cp**; 5 µg), cloranfenicol (**c**; 30 µg), estreptomicina (**e**; 10 µg), gentamicina (**g**; 10 µg), neomicina (**n**; 30 µg), sulfonamida (**su**; 300 µg), sulfa/trimetoprima (**s**; 5 µg); tetraciclina (**t**; 30 µg) e tobramicina (**tb**; 10 µg).

5.2.4 Índice MAR: para o cálculo do índice de multiresistência das amostras de *Salmonella* sp., os resultados obtidos nos sete pontos amostrados ao longo do sistema foram divididos em três grupos: S1 (PA, P1 e P3), S2 (P9) e S3 (P10, P11 e P14). O índice MAR foi calculado separadamente para cada grupo através da fórmula $a/(bxc)$, onde *a* é o escore de resistência agregada de todas as amostras de *Salmonella* sp. pertencentes ao grupo; *b* é o número de antimicrobianos testados no estudo e *c* é o número de amostras de *Salmonella* sp. no grupo testado (Krumperman, 1983; Kaspar; Burges, 1990).

5.2.5 Análise estatística: Diferenças significativas entre resistência antimicrobiana nos diferentes pontos foram determinadas pelo teste t ($p < 0,05$). Para a construção do dendrograma, os dados foram convertidos em código binário e a semelhança entre as amostras foi medida através da distância Euclidiana (Parveen et al., 1997). Os dados foram avaliados estatisticamente utilizando o programa SPSS 8.0 (Cáceres, 1995).

5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi possível confirmar a presença de *Salmonella* sp. em 13/20 coletas realizadas no ponto P1 (tanque de armazenamento), indicando que a bactéria esteve presente na granja durante o período do estudo. A constatação da presença de *Salmonella* sp. em sistemas de produção de suínos tem ocorrido mundialmente, principalmente em função de um monitoramento mais rigoroso desencadeado por programas de controle de microrganismos potencialmente patogênicos na cadeia alimentar (Blaha, 2001). A

possibilidade de eliminação de elevado número de salmonelas nas fezes de animais portadores assintomáticos acarreta, entre outros problemas, na preocupação com o destino dos dejetos gerados no sistema de produção, o que pode ser um fator importante na cadeia de transmissão da bactéria para animais e humanos (Heinonen-Tanski, 1998; Blaha, 2001).

O tratamento de dejetos, além de ter importância nos sistemas intensivos como atenuador do impacto que a deposição de matéria orgânica e nutrientes causam no ambiente, também tem demonstrado ser uma ferramenta para diminuir o risco sanitário que os mesmos podem representar (Strauch, 1991). Esta observação pode ser confirmada no presente estudo, onde ocorreu um decréscimo gradual no isolamento de *Salmonella* sp. ao longo das lagoas de estabilização (Figura 5.1), encontrando-se apenas 1/20 amostras positivas no final do sistema (P14). Avaliando o índice de isolamento ao longo das diferentes lagoas que compõem o sistema, observa-se que houve um decréscimo acentuado após as lagoas anaeróbias (P9) e facultativa (P10). Os mecanismos que determinaram a redução da população de *Salmonella* sp. nestas lagoas podem estar relacionados a mudanças nas condições ambientais como o pH, a concentração de oxigênio e de nutrientes disponíveis. Nas condições que preponderam nestas lagoas, bactérias patogênicas seriam desfavorecidas em detrimento de uma microbiota ambiental mais adaptada, sendo portanto selecionadas negativamente (Strauch, 1991).

A diminuição da população de *Salmonella* sp. em dejetos suínos foi anteriormente relatada, tanto em sistemas aeróbios como anaeróbios (Juris et al., 1995; 1996; Heinonen-Tanski, 1998), em índices que variaram entre 90-99%. No presente estudo houve também uma redução na ordem de 93% no número de ocasiões em que houve isolamento de *Salmonella* sp. no final do sistema em comparação como o início do mesmo. Estes dados permitem afirmar que o sistema foi eficiente na redução da população desta bactéria quando presente nos dejetos.

Já quando analisamos as etapas (P1, P3 e PA), anteriores ao tratamento biológico nas lagoas de estabilização, observa-se que os índices de isolamento de *Salmonella* sp. foram semelhantes. Este fato indica que o armazenamento e separação física da fração sólida e líquida dos dejetos não influenciou na viabilidade da bactéria. Também não

parece ter havido uma variação na presença de *Salmonella* sp. nas frações sólida e líquida separadas. A tendência de um menor índice de isolamento, observada no lodo separado no tanque de sedimentação (P3) e armazenado em lagoa adjacente ao sistema (PA), pode ter sido resultante da grande dificuldade de homogeneização deste tipo de material no momento da coleta das amostras.

Desta forma, a separação mecânica não demonstrou ser eficiente na eliminação de *Salmonella* sp., indicando que tanto a fração líquida como a sólida devem ser tratadas antes de serem depositadas no meio ambiente. Principalmente o lodo gerado pela separação física, se aplicado diretamente sobre o solo como adubo em hortas e pastagens, pode vir a oferecer risco para humanos e animais. Neste sentido, deve ser considerado que estudos anteriores conseguiram recuperar salmonelas por até doze meses após a aplicação sobre o solo (Strauch, 1991). Além disto, os sorovares de *Salmonella* sp. encontrados em suínos portadores assintomáticos tendem a pertencer ao grupo daqueles que estão adaptados a diferentes hospedeiros, inclusive os humanos (Blaha, 2001).

De um total de 163 colônias submetidas à caracterização antigênica, 161 foram identificadas como *Salmonella* Typhimurium. É surpreendente que, ao longo de 10 meses de realização de coletas, não tenha havido variação no perfil de sorovares presentes nos dejetos, uma vez que a infecção por salmonela nos suínos caracteriza-se pela grande variabilidade de sorovares encontrados nos animais e no ambiente (Blaha, 2001). A exemplo disto, Michael et al. (2002), identificou 15 sorovares diferentes presentes numa granja no Rio Grande do Sul, onde estava ocorrendo um surto de infecção por *Salmonella* sp. Uma vez que a metodologia empregada no isolamento já foi capaz de detectar diferentes sorovares a partir de fezes de suínos (Bessa et al., 2001) e as colônias foram escolhidas aleatoriamente para identificação, resta supor que a propriedade possa ter uma fonte comum de contaminação, ou que esteja havendo algum tipo de seleção que acarrete a predominância do sorovar Typhimurium sobre os demais.

Outra preocupação crescente tem sido o desenvolvimento de resistência em bactérias, principalmente naquelas com risco de disseminação entre animais e humanos, como é o caso da *Salmonella* Typhimurium (Witte, 2000). Todas as amostras deste

sorovar, isoladas no presente estudo, apresentaram resistência a pelo menos dois antimicrobianos testados, sendo que 94,5% das amostras apresentaram resistência a 4 ou mais. Exceto à ciprofloxacina, contra a qual todas as amostras foram sensíveis, os índices de resistência apresentados foram variáveis: sulfonamida (100%), tetraciclina (99,4%), estreptomicina (90,1%), sulfonamida/trimetoprima (84,5%), ácido nalidíxico (77,6%), ampicilina (76,4%), cloranfenicol (29,2%), cefaclor (25,5%), tobramicina (13,7%), gentamicina (6,2%) e amoxicilina/ácido clavulânico (5%), neomicina (5%), amicacina (3,7%). O número de marcadores de resistência concomitantes apresentado pelas amostras variou entre dois (2 amostras) e onze antimicrobianos (2 amostras), sendo a maioria das amostras (30,4%) resistentes a seis antimicrobianos.

Se a utilização de antimicrobianos na ração tem demonstrado um efeito favorável na produtividade de sistemas intensivos de produção de suínos (Stahly et al., 1980), o uso de antimicrobianos na produção animal, por outro lado, tem sido apontado como possível causa de emergência de organismos multiresistentes (Mathew et al., 1999). Três fatores são apontados como responsáveis pela emergência de resistência: a associação de genes de resistência com elementos transponíveis (transposons); o contato estreito entre bactérias no ambiente; e a pressão de seleção exercida pelo uso de antimicrobianos (Schwarz; Chaslus-Dancla, 2001).

Nos sistemas de tratamento de dejetos, a proximidade entre as populações microbianas e a presença de resíduos de antimicrobianos podem ocorrer, tornando-os um local apropriado para a seleção de linhagens resistentes e transferência dos determinantes de resistência, conforme já foi demonstrado (Andersen, 1993; Mezrioux; Baleux, 1994). No período em que as coletas de amostras foram realizadas haviam sido utilizados na propriedade, como promotores de crescimento ou terapêuticamente, lincomicina, amoxicilina, sulfadiazina, trimetoprima, gentamicina, norfloxacina, tilosina e oxitetraciclina. Comparando os níveis de resistência encontrados entre os antimicrobianos testados e o grupo utilizado, é possível observar que apenas a gentamicina apresentou níveis baixos de resistência na população. Dentre os quatro antimicrobianos com maior nível de resistência (sulfonamida, tetraciclina, estreptomicina e sulfa/trimetoprima), três foram utilizados como aditivos na alimentação

dos suínos no período em estudo. Apesar de estudos mais aprofundados a respeito da associação entre a utilização de antimicrobianos e a dinâmica do aparecimento de resistências ainda serem necessários, a maior resistência à tetraciclina em *S. enterica* já foi correlacionada, por Isaacson et al. (2001), com o tempo de uso deste antimicrobiano em uma propriedade. Ao lado disto, parece haver uma variação no aparecimento de linhagens resistentes em sistemas de ciclo completo, como é o caso da propriedade estudada. Mathew et al. (2000) observaram que, em propriedades com uso intenso de antimicrobianos, a idade dos animais era um fator importante no nível de resistência de *E. coli* presentes no trato gastrointestinal. De acordo com este estudo, o aumento de linhagens resistentes ocorria em animais após o desmame, sendo que as razões para este fato seriam o maior uso de antimicrobianos nesta idade, bem como a colonização com novas linhagens bacterianas que ocorreriam nesta fase.

Se a população de *Salmonella* sp. obedece a uma dinâmica semelhante ainda precisa ser elucidado. Entretanto, este fato poderia justificar o índice de resistência mais elevado nas amostras isoladas nesta propriedade, em relação aos dados disponíveis para *S. Typhimurium* isoladas em animais abatidos no sul do Brasil na mesma época (Bessa et al., 2001). Neste estudo as amostras do sorovar Typhimurium apresentaram os maiores índices de resistência contra sulfonamida (93%), tetraciclina (82%) e cloranfenicol (44%), enquanto que a percentagem de resistência aos demais antimicrobianos ficou abaixo de 20%.

Dividindo-se as amostras isoladas em todos os pontos em três grupos: S1 (n=138), S2 (n=15) e S3 (n=11), não houve diferença significativa no índice de multiresistência a antimicrobianos (MAR) calculado para os diferentes grupos (S1=0,43; S2=0,46 e S3=0,41). A percentagem de amostras resistentes aos diferentes antimicrobianos sofreu variação ao longo do sistema, tendo havido um aumento considerável nas amostras resistentes ao cloranfenicol no final do sistema (Figura 5.2).

Embora a redução de índices de resistência em microrganismos entéricos já tenha sido relatado em sistemas de tratamento de dejetos suínos e urbanos (Avignon; Lafont, 1985), outros estudos afirmam haver uma tendência ao aumento do percentual de resistência a antimicrobianos, principalmente durante o tratamento aeróbico de esgotos

(Morozzi et al., 1988). Ainda, Krumperman (1983) observou um aumento no índice MAR em amostras de *E. coli* isoladas de dejetos humanos, em comparação com amostras isoladas de fezes individuais. O autor apontou como possível causa a troca de determinantes de resistência que ocorreria entre bactérias durante a permanência no ambiente.

Da mesma forma, Krumperman (1983) definiu, arbitrariamente, o índice MAR de 0,2 para classificar as amostras de *E. coli* como potenciais reservatórios de determinantes de resistência. Segundo o índice proposto, a média do índice MAR das amostras de *Salmonella* Typhimurium encontrada em todos os grupos estaria dentro da faixa de alto risco. Resultado semelhante foi também encontrado por Krumperman (1983), para amostras de *E. coli* isoladas de suínos.

Isaacson et al. (2001) identificaram dentro de granjas de suínos uma tendência à concordância entre perfil de resistência, sorovar da amostra e perfil genômico em eletroforese de campo pulsado (PGFE). Este fato não pode ser observado no presente estudo, onde encontrou-se uma grande variabilidade dos perfis de resistência. Apesar de todas as amostras pertencerem ao sorotipo Typhimurium, foi possível identificar 57 perfis de resistência diferentes. O perfil mais freqüente (**ap-c-e-na-su-t**) foi identificado em 38 (23,6%) das amostras, porém 28,6% dos perfis encontrados foram representados por apenas uma amostra.

Esta elevada variabilidade nos perfis pode ser constatada na análise do coeficiente de dissimilaridade medida pela distância Euclidiana (Figura 5.3). Numa distância Euclidiana de aproximadamente 2,0 apresentaram-se 3 *clusters* (C1 a C3). O *cluster* C1, composto por 147 amostras, não apresentou perfil de resistência predominante, tendo em comum a sensibilidade à amicacina e ciprofloxacina. O perfil de resistência predominante em C2 (11 amostras) foi **e-su-sut-t** enquanto que no C3 (3 amostras), o perfil comum **ap-e-ge-n-na-su-t** agrupou as amostras mais distantes das demais. Nenhum dos *clusters* formados, no entanto, apresentaram relação com o ponto de origem das amostras.

A alta variabilidade de perfis de resistência esteve presente já no início do sistema (P1), estando a maioria das amostras agrupadas no C1. Da mesma forma,

analisando as três amostras isoladas na única coleta positiva no final do sistema (P14), observou-se a ocorrência de perfis diferentes para cada uma das amostras. A partir disto, tudo indica que as amostras já chegaram ao sistema de tratamento com alta variabilidade de perfis de resistência e que não houve uma seleção de qualquer um dos perfis ao longo do tratamento.

5.4 CONCLUSÕES

O processo biológico, no sistema de lagoas em série para o tratamento de dejetos de suínos, foi capaz de diminuir a população de *Salmonella* sp. presente, sendo a etapa anaeróbia a que apresentou maior decréscimo no índice de isolamento. Nas amostras de *Salmonella Typhimurium* isoladas não se verificou modificação da multiresistência a antimicrobianos ao longo do sistema de tratamento, bem como não foi possível observar a seleção de um perfil de resistência.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ANDERSEN, S.R. Effects of Waste Water Treatment on the Species Composition and Antibiotic Resistance of Coliform Bacteria. **Current Microbiology**, New York, v.26, p. 97 - 103, 1993.
2. AVIGNON, M.; LAFONT, J.P. [Antibiotic-resistant coliforms in a purification station on a pig-breeding farm]. **Ann Rech Vet.**, v. 16, n. 3, p. 245 - 253, 1985.
3. BARRY, A.L.; THORNSBERRY, C. Susceptibility Test: Diffusion Test Procedures. In: LENNETE, E.H.; BALOWS, A.; HAUSLER JR, W.J.; SHADOMY, H.J. **Manual of Clinical Microbiology**, 4 ed. Washington: ASM, 1985. Cap. 102. p.978-987.
4. BESSA, M.; COSTA, M.; CARDOSO, M. Prevalence of *Salmonella* sp. in slaughtered pigs in Rio Grande do Sul, Brazil. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON THE EPIDEMIOLOGY AND CONTROL OF *SALMONELLA* IN PORK, 2001. Leipzig. **Anais...** Leipzig: ADDIX, 2001. p.189-191.

5. BLAHA, T. Pre-harvest Food Safety as integral part of quality assurance systems in the pork chain from stable to table. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON THE EPIDEMIOLOGY AND CONTROL OF *SALMONELLA* IN PORK, 2001. Leipzig. **Anais...** Leipzig: ADDIX, 2001. p.7-13.
6. CÁCERES, RA. **Estadística multivariante y no paramétrica com SPSS**. Madrid: Díaz de Santos, 1995. 389 p.
7. FEDORKA-CRAY, P.J.; PETERSEN, K.E.; DARGATZ,D.A.; TOLLEFSON, L.; WINELAND, N.E.; HEADRICK, M.; HOLLINGER, K.; FERRIS, K. National Antimicrobial Resistance Monitoring System: Results for Swine. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON THE EPIDEMIOLOGY AND CONTROL OF *SALMONELLA* IN PORK, 1999. Washington. **Anais...** Washington: ADDIX,1999. p.248-249.
8. HASSANI, L.; IMZILN, B.; GAUTHIER, M.J. Antibiotic-resistant *Escherichia coli* from wastewater before and after treatment in stabilization ponds in the arid region of Marakech, Morocco. **Letters in Applied Microbiology**, London, v.15, p.228 - 231, 1992.
9. HEINONEN-TANSKI, H.; NISKANEN, E. M.; SALMELA, P.; LANKI, E. Salmonella in animal slurry can be destroyed by aeration at low temperature. **J. Appl. Microbiol**, Oxford, v. 85, n. 2, p. 277 - 281, 1998.
10. ISAACSON, R.E.; QIAO, B.; BARBER, D.A.; WEIGEL, R.M. Antibiotic resistance patterns and genotypes of *Salmonellae* within swine production systems and the relationship to on farm use of antibiotics. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON THE EPIDEMIOLOGY AND CONTROL OF *SALMONELLA* IN PORK, 2001. Leipzig. **Anais...** Leipzig: ADDIX, 2001. p.396-398.
11. JURIS, P.; PLACHY, P; LAUKOVA, A. Devitalization of bacterial and parasitic germs in sewage sludge during aerobic digestion under laboratory conditions. **Vet. Med.**, Praga, v. 40, n. 5, 157-162, 1995.
12. JURIS, P.; TOTH, F.; LAUKOVA, A.; PLACHY, P.; DUBINSKY, P.; SOKOL, J. Survival of model bacterial strains and helminth eggs in the course of mesophilic anaerobic digestion of pig slurry. **Vet. Med.**, Praga, v. 41, n. 5, 149-153, 1996.
13. KASPAR, C.W.; BURGESS, J.L. Antibiotic resistance Indexing of *Escherichia coli* to identify sources of fecal contamination in water. **Can. J. Microbiol.**, Ottawa, v. 36, p. 891 - 894, 1990.
14. KRUMPERMAN, P. H. Multiple Antibiotic Resistance Indexing of *Echerichia coli* to identify Hihg-Risk Sources of Fecal Contamination of Foods. **Applied and Environmental Microbiology**, Washingron, v.46, n.1, p. 165 - 170, 1983.

15. LINTON, A.H. Plasmids in the environment. **Schriften Ver Wasser Boden Lufthyg.** v. 78, p. 197 - 224, 1988.
16. MATHEW, A.G.; SAXTON, A.M.; UPCHURCH, W.G.; CHATTIN, S.E. Multiple antibiotic resistance patterns of *Escherichia coli* isolates from swine farms. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 65, n.6, p. 2770-2772, 1999.
17. MEZRIOUX, N.; BALEUX, B. Resistance patterns of *E.coli* strains isolated from domestic sewage before and after treatment in both aerobic lagoon and activated sludge. **Water Research**, New York, v.28, n.11, p. 2399-2406, 1994.
18. MICHAEL, G.B.; SIMONETI, R.; COSTA, M. da; CARDOSO, M. Sorotipos de *Salmonella* isolados em uma propriedade e suínos de terminação no sul do Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 32, n. 3, 2002 (no prelo).
19. MOROZZI, G.; SPORTOLARI, R.; CALDINI, G.; CENCI, G.; MOROSI, A. The effect of anaerobic and aerobic wastewater treatment on faecal coliforms and antibiotic-resistant faecal coliforms. **Zentralbl. Bakteriол. Mikrobiol. Hyg.[B]**, Stuttgart, v. 185, n. 4 -5, p. 340 - 349, 1988.
20. PARVEEN, S.; MURPHREE, R.L.; EDMISTON, L.; KASPAR, C.W.; PORTIER, K.M.; TAMPLIN, M.L. Association of multiple-antibiotic-resistance profiles with point and nonpoint sources of *Escherichia coli* in Apalachicola Bay. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.63, n.7, p. 2607-2612, 1997.
21. SCHWARZ, S.; CHASLUS-DANCLA, E. Use of antimicrobials in veterinary medicine and mechanisms of resistance. **Vet. Research**, Cambridge, v. 32, n. ¾, p. 201-226, 2001.
22. STAHLY, T.S.; CROMWELL, G.L.; MONEGUE, H.J. Effects of dietary inclusion of copper and(or) antibiotics on the performance of weanling pigs. **J. Anim. Sci.**, Champaign, v. 51, p. 1347-1351, 1980.
23. STRAUCH, D. Survival of pathogenic micro-organisms and parasites in excreta, manure and sewage sludge. **Vet.Sci.Tech.**, v. 10, n. 3, p. 813 -846, 1991.
24. WITTE, W. Ecological impact of antibiotic use in animals on different complex microflora: environment. **International Journal of Antimicrobial Agents**, Amsterdam, v. 14, p. 321-325, 2000.

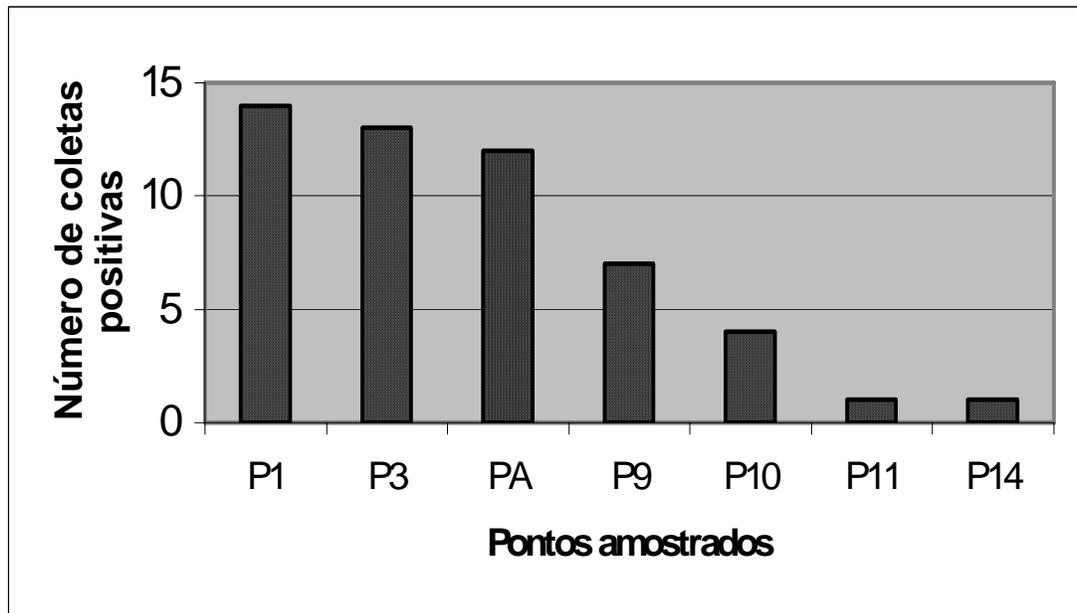


FIGURA 5.1: Número de coletas com isolamento de *Salmonella* sp. dentre 20 realizadas em sete pontos de um sistema de lagoas interligadas para o tratamento de dejetos de suínos.

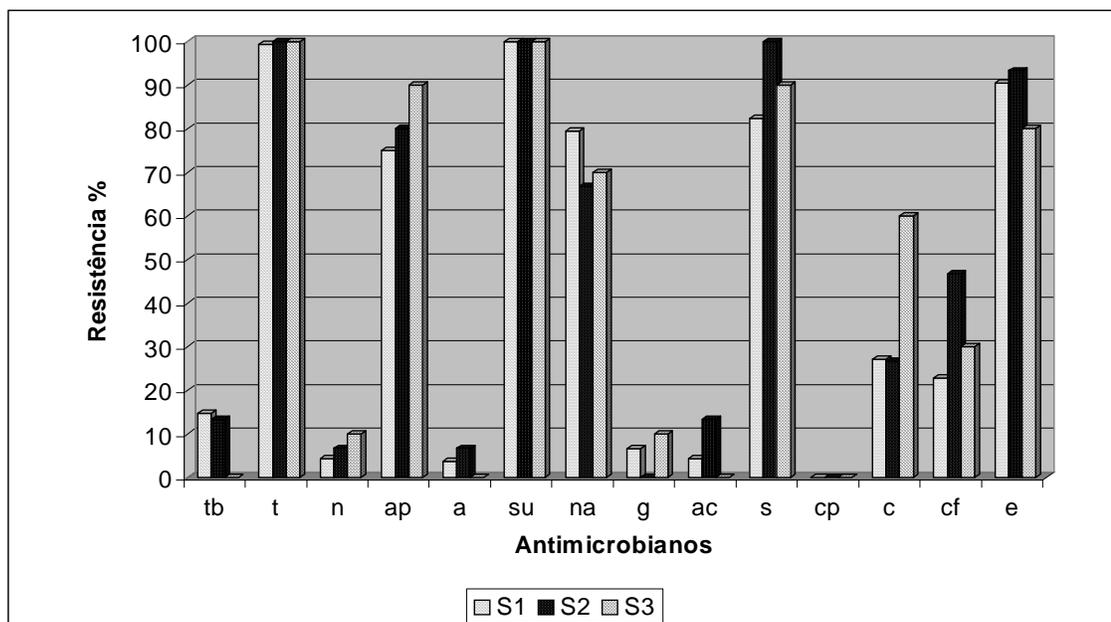


FIGURA 5.2: Resistência antimicrobiana (%) de 161 amostras de *Salmonella* Typhimurim isoladas em diferentes pontos de um sistema de tratamento de dejetos suínos. S1 = após tratamento físico (pontos PA, P1 e P3); S2 = após lagoa anaeróbia (P9); S3 = após lagoas facultativas (P10, P11 e P14); tb=tobramicina, t=tetraciclina, na=ácido nalidíxico, a=amicacina, c=cloranfenicol, e=estreptomicina, g=gentamicina, ap=ampicilina, ac=amoxicilina, cp=ciprofloxacina, s=cotrimoxazol, su=sulfonamida, cf=cefaclor, n=neomicina.

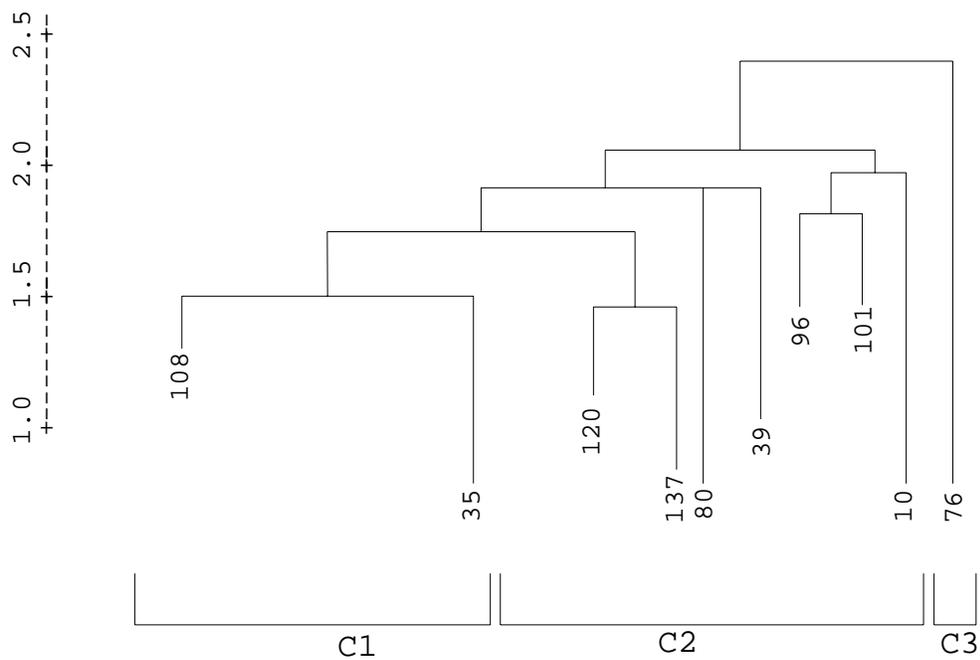


FIGURA 5.3: Dendrograma do perfil de resistência antimicrobiana de 161 amostras de *Salmonella* Typhimurium determinadas através da medida Euclidiana. Os clusters foram definidos na distância Euclidiana de 2,0. Números no dendrograma representam padrões de resistência antimicrobiana e não o número da amostra.

CAPÍTULO 6

CARACTERIZAÇÃO DA MICROBIOTA MESÓFILA AERÓBICA ISOLADA DE UM SISTEMA DE LAGOAS DE ESTABILIZAÇÃO PARA O TRATAMENTO DE DEJETOS DE SUÍNOS.

Verônica Schmidt ¹, Katiane Santin², Marisa Ribeiro de Itapema Cardoso¹

¹Médica Veterinária, Professora do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva
Faculdade de Veterinária, UFRGS, Av. Bento Gonçalves, 9090 - 01540-000 Porto
Alegre/RS e.mail: veroschmidt@hotmail.com

² Aluna de graduação, Faculdade de Farmácia, UFRGS, bolsista Apoio Técnico/CNPq

Artigo submetido: Revista Acta Veterinária.

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar a variação quantitativa e qualitativa da microbiota mesófila aeróbia presente ao longo de um sistema de lagoas de estabilização para tratamento de dejetos suínos. A população média de mesófilos aeróbios manteve-se constante ao longo das lagoas, apesar de ter havido variação nas contagens entre diferentes coletas realizadas. A diversidade média da microbiota do efluente foi menor que a encontrada no afluente do sistema, não havendo diferença na equitabilidade entre os pontos amostrados. No início do sistema houve um predomínio de bactérias com características compatíveis com enterobactérias, enquanto no efluente predominaram grupos semelhantes aos enterococos.

Palavras- chave: diversidade bacteriana, lagoas de estabilização, dejetos suínos

ABSTRACT

*The aim of this study was to evaluate the quantitative and qualitative variation of the aerobic mesophilic flora isolated from a stabilization ponds system used for the treatment of pig slurry. The mesophilic population counts were constant for all sampled ponds, but variations in population counts, according to the sample period, have been found. The bacterial flora diversity of the effluent was lower than that found in the affluent. There was no equitability difference among the sampled points of the system. Most of the affluent isolates showed morphological and biochemical characteristics similar to the family *Enterobacteriaceae*, while in the effluent predominated bacteria similar to the enterococci group.*

Key-words: bacterial diversity, stabilization ponds, pig slurry

6.1 INTRODUÇÃO

Considera-se que, em nível mundial, vertem-se diariamente mais de 800 milhões de metros cúbicos de águas residuais, lixo e resíduos orgânicos e inorgânicos aos corpos

d'água. Isto ocasiona a deterioração e diminuição da produtividade de rios e oceanos e limita o uso que pode ser dado a estes recursos (Chará, 1998).

Nos Estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná estão instalados aproximadamente 11,5 milhões de suínos. Nesta região, predominam propriedades pequenas, com sistemas de criação de animais confinados, proporcionando produção centralizada e excessiva de dejetos (Belli Filho et al., 2000). Desta forma, os dejetos animais contribuem com importante parcela da matéria orgânica liberada nos recursos hídricos da região, chegando muitas vezes sem um tratamento prévio. Juntamente com a matéria orgânica, os dejetos agregam aos recursos hídricos grande número de microorganismos alóctones, principalmente do grupo dos heterotróficos (Atlas; Bartha, 1998). Dentro deste grupo podem encontrar-se bactérias heterotróficas mesófilas, capazes de causar doenças no homem e nos animais (Strauch, 1988, Strauch 1991).

Os microorganismos têm um papel decisivo nos processos de autodepuração e decomposição da matéria orgânica de ambientes aquáticos e são os agentes do tratamento biológico de dejetos liqüefeitos que ocorre nas lagoas de estabilização (Strauch, 1991). Os diferentes tipos de lagoa, por sua vez, apresentam uma microbiota própria que degrada de diferentes formas a matéria orgânica, diminuindo o poder poluente do efluente gerado (Atlas; Bartha, 1998). Estudos das comunidades bacterianas nos diferentes habitats ainda são escassos (Borsodi et al., 1998), principalmente em relação aos efluentes de sistemas de produção animal. Da mesma forma, as modificações no perfil de populações mesófilas presentes nos dejetos tratados em lagoas de estabilização ainda são pouco conhecidas.

Em estudo realizado em um sistema de lagoas de estabilização para o tratamento de dejetos suínos (Schmidt et al., 2002), verificou-se que o mesmo era eficiente na redução de parâmetros físico-químicos e da população de coliformes. Dando prosseguimento, o objetivo do presente estudo foi quantificar e caracterizar a microbiota mesófila aeróbia presente ao longo deste sistema de lagoas de estabilização.

6.2 MATERIAL E MÉTODOS

6.2.1 Amostras: o sistema de tratamento estudado localiza-se no sul do Brasil, recebendo dejetos de cerca de 4.000 matrizes e 30.000 suínos em crescimento e terminação. Os dejetos liqüefeitos são levados até tanques de armazenamento localizados imediatamente antes da planta de tratamento. Após a etapa de separação física em peneiras, a fração líquida passa por um tanque de sedimentação e sete lagoas em série (duas anaeróbias, uma facultativa, uma com aeração mecânica e três aeróbias). Foram realizadas 20 coletas quinzenais em sete pontos ao longo do sistema de tratamento: após o tanque de armazenamento (P1), após o tanque de sedimentação (P3), lagoa de lodo (PA), após a segunda lagoa anaeróbia (P9), após a lagoa facultativa (P10), após a lagoa com aeração mecânica (P11) e após a terceira lagoa aeróbia (P14). As amostras coletadas em cada ponto foram refrigeradas e enviadas para serem processadas no Setor de Medicina Veterinária Preventiva da UFRGS.

6.2.2 Contagem de bactérias mesófilas totais: as amostras foram diluídas (10^{-1} a 10^{-6}) em água peptonada 0,1%, sendo semeadas, em duplicata, alíquotas de 0,1 ml em Ágar para Contagem, pela técnica de superfície. Após incubação em aerobiose a 37°C por 48 horas as colônias foram contadas na diluição em que apresentassem placas com 20-200 colônias. Avaliou-se, ainda, o número de diferentes tipos coloniais de acordo com a forma (puntiforme, circular ou irregular), a elevação (chata, convexa ou irregular), os bordos (inteiros ou irregulares), a transparência (transparente ou opaca) e a pigmentação (ausente, amarelo, vermelho, verde ou outro) observados na placa, bem como a proporção de colônias pertencentes a cada tipo colonial.

6.2.3 Caracterização de bactérias mesófilas: da placa onde era realizada a contagem, foram coletadas 10 colônias escolhidas de forma aleatória para a identificação. Para a escolha das colônias foi construído, previamente, um mapa de quadrantes (Figura 6.1) sobre o qual a placa era depositada, sendo então coletadas as colônias que estavam dentro de áreas pré-determinadas do mapa. As áreas foram pré-determinadas por sorteio de acordo com a tabela de números aleatórios (Thursfield, 1986). As colônias escolhidas foram isoladas em ágar triptose de soja (TSA) e mantidas a -20°C em caldo de infusão de

cérebro e coração (BHI) acrescido de 20% de glicerol até o momento da identificação. As bactérias foram classificadas de acordo com suas características morfo-tintoriais (bastonete ou coco, e coloração de Gram) e testes bioquímicos (catalase, oxidase, crescimento em ágar MacConkey), como descrito por Mac Faddin (2000).

6.2.4 Sazonalidade: os dados foram agrupados por períodos do ano, segundo as estações climáticas brasileiras, em primavera/verão e outono/inverno.

6.2.5 Análise estatística: a diversidade foi calculada pelo índice de Simpson modificado (Chikh et al, 1997), conforme a fórmula: $D=1/ [\sum^s P_i^2]$, onde P_i é a proporção de colônias com uma morfologia específica, contribuindo para a flora total, e S é o número total de distintos tipos de colônias. A equitabilidade foi obtida pela fórmula: $E=D/S$ (Chikh et al., 1997). Os dados foram avaliados estatisticamente através dos testes de Qui-quadrado e Associação Linear, utilizando o programa SPSS 8.0 (Cáceres, 1995).

6.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A população média de mesófilos aeróbios manteve-se constante ao longo das lagoas, em ambas as estações do ano (Tabela 6.1). Por outro lado, observa-se que houve uma grande variação nos valores máximos e mínimos, o que reflete a variabilidade das contagens entre as coletas realizadas. Esta variabilidade está possivelmente relacionada a fatores climáticos, físico-químicos e concentração de nutrientes que agem diretamente sobre as populações microbianas nas lagoas. Da mesma forma, a manutenção das altas contagens médias de mesófilos pode estar relacionada com a presença em níveis ainda elevados de fósforo e nitrogênio observada no efluente deste sistema (Schmidt et al., 2002). Correlação semelhante foi feita anteriormente por (Edwards et al., 2001) ao estudar um lago eutrófico, onde as maiores contagens de mesófilos eram encontradas nas zonas mais ricas em fósforo.

Houve diferença estatística significativa na diversidade média entre os pontos do sistema mas não entre as estações do ano. Observou-se diferença dos pontos iniciais do

sistema (PA, P1 e P3), onde ocorre o tratamento físico dos dejetos, e os pontos no final do sistema (P10, P11 e P14), após as lagoas facultativas. Verificou-se, ainda, diferença dos valores das lagoas facultativas com a anaeróbia (P9), mas não desta com os pontos iniciais do sistema (Tabela 6.2). Observou-se menor diversidade bacteriana no efluente ($D_{\text{média/P14}} = 2,039$) do que no afluente ($D_{\text{média/P1}} = 3,495$) do sistema, concordando com os resultados de Chikh et al. (1997) que demonstraram a tendência à diminuição dos índices de diversidade ao longo de um sistema aeróbico de tratamento de dejetos suínos. Segundo Atlas; Bartha (1998) a diversidade tende a decrescer em comunidades microbianas submetidas ao estresse. No presente caso, estas condições adversas podem estar relacionadas à passagem sucessiva por condições ambientais bastante distintas presentes nas lagoas, determinando o desaparecimento de alguns grupos bacterianos do dejetos bruto do afluente. Por outro lado, Cho; Kim (2000) discutem que os nutrientes presentes nos dejetos animais poderiam proteger as populações microbianas do estresse e, por isto, determinariam um aumento da diversidade de ecossistemas em contato com dejetos animais, principalmente ambientes oligotróficos como as águas subterrâneas. Desta forma, é possível que no sistema do presente estudo a diversidade final observada ainda esteja acima do perfil típico do corpo d'água que recebe o efluente do sistema, fato que ainda necessita ser avaliado.

A equitabilidade média variou entre 0,443 e 0,635, não apresentando diferença significativa entre os pontos ou épocas do ano. A equitabilidade encontrada nos diferentes pontos de amostragem, no decorrer do período de coletas, apresentou-se sempre diferente de 1, indicando predominância de um tipo morfológico (Chikh et al., 1997). Determinou-se entre 12 e 26 tipos morfológicos distintos nos diferentes pontos de amostragem, estando predominante nos pontos P1, P3, PA e P10 o tipo convexa, bordos inteiros, puntiforme, ausência de pigmento e opaca. Já no P9 predominou o tipo convexa, bordos inteiros, puntiforme, ausência de pigmento e transparente; enquanto no P11 e P14 o tipo convexa, bordos inteiros, forma circular, pigmento amarelo e opaca foi a mais encontrada. Entretanto, todos os tipos morfológicos foram encontrados em todos os pontos do sistema. Identificou-se no início do sistema (P1) doze tipos morfológicos

que não foram encontrados no final do sistema (P14); por outro lado, quatro tipos morfológicos identificados no P14 não foram encontrados no P1.

Algumas características morfo-tintoriais e bioquímicas foram determinadas para 1.554 colônias aleatoriamente escolhidas nos sete pontos ao longo do sistema, possibilitando a classificação das mesmas em 8 grupos (Figura 6.2). Verificou-se que no afluente 42,6% das amostras eram Gram negativas e 49% Gram positivas (P1= 223 amostras) e 32,3% e 38%, respectivamente, no efluente (P14 = 220 amostras) do sistema. Diferentemente, em um sistema de tratamento de dejetos sólidos, localizado na mesma região, foi observada estabilidade na relação percentual dos microorganismos Gram positivos e Gram negativos nas primeiras semanas de fermentação, com prevalência dos Gram positivos ao final do processo (Santurio et al., 1995).

Quando avaliadas as características morfo-tintoriais e bioquímicas, no P1 observou-se maior ocorrência de bactérias Gram negativas, oxidase negativa e com crescimento no ágar MacConkey (33,2%) - características compatíveis com enterobactérias - seguidas por cocos Gram positivos e catalase positiva (18,4%) - características compatíveis com bactérias do grupo micrococos. Já no P14 observou-se um maior número de cocos Gram positivos e catalase negativa (18,6%), seguidas por bactérias Gram negativas, oxidase negativa e com crescimento no MacConkey (16,8%). Desta forma, observa-se que, apesar da contagem média de mesófilos aeróbios ter permanecido constante ao longo do sistema, o perfil dos microorganismos que compunham esta população modificou-se. No início do sistema a predominância do grupo com características compatíveis com enterobactérias reflete a elevada carga de coliformes presentes nos dejetos que chegam no afluente. Já no efluente observou-se o predomínio de bactérias com características compatíveis com o grupo dos enterococos, reconhecidamente mais resistentes aos ambientes adversos (Atlas; Bartha, 1998). O fato de serem encontradas possíveis enterobactérias no efluente concorda com os resultados obtidos neste sistema (Schmidt et al., 2002), onde observou-se uma sobrevivência média de 34% de coliformes totais ao tratamento.

Isolou-se ainda, 312 amostras (20%) que não sobreviveram ao processo de congelamento, sendo que esta perda foi maior nas amostras provenientes dos pontos

finais do sistema. Verificou-se que o número de amostras não recuperadas no P1 (18/223) representaram 8% do total de amostras isoladas neste ponto, enquanto que no P14, estas amostras (64/220) representaram 29% das amostras isoladas neste ponto. Há registros na literatura da perda de amostras bacterianas isoladas em ambiente aquático, durante o processo de identificação laboratorial (Borsodi et al., 1998). Embora as técnicas de cultivo bacteriano sejam úteis para a identificação de espécies presentes, apenas uma pequena proporção do número total de bactérias pode ser determinado pela contagem direta. Isto porque uma grande parte das bactérias presentes em amostras ambientais não pode ser cultivada ou não sobrevive por muito tempo em condições “in vitro” (Borsodi et al., 1998; Cho; Kim, 2000). Isto tem levado à utilização de diferentes ferramentas moleculares para a caracterização de microrganismos ambientais, muitas delas baseadas na detecção e caracterização de seqüências do gene do ribossoma 16S presentes nestes ambientes (Cho; Kim, 2000).

Sendo assim, é possível concluir que o tratamento dos dejetos ao longo do sistema estudado, apesar de não modificar a contagem de mesófilos aeróbios, propiciou a modificação do perfil das bactérias presentes. Enquanto no início predominaram bactérias com características de coliformes, no final aumentou a parcela de bactérias com características mais compatíveis com microrganismos ambientais, inclusive aquelas com maior dificuldade de sobrevivência às condições “in vitro”.

BIBLIOGRAFIA

1. ATLAS, R; BARTHA, R. **Microbial Ecology**. 4 ed. California/EUA, Benjamin/Cummings, 1998. 694 p.
2. BELLI FILHO, P.; COSTA, R.H.R. da; SOARES, S.R.; CASTILHOS Jr.; A.B.; PERDOMO, C.C. Gestão Ambiental dos Sistemas de produção de Suínos para o Sul do Brasil. In: FRANKENBERG, C.L.C.; RAYA-RODRIGUES, M.T.; CANTELLI, M. **Gerenciamento de resíduos e Certificação Ambiental**. Porto Alegre, PUCRS, 2000. p. 280 - 291.
3. BORSODI, A. K.; FARKAS, I.; KURDI, P. Numerical analysis of planktonic and reed biofilm bacterial communities of lake Fertö (Neusiedlersee, Hungary/Austria). **Wat.Res.**, Great Britain, v. 32, n. 6, p. 1831 - 1840, 1998.

4. CÁCERES, R. A. **Estadística multivariante y no paramétrica com SPSS**. Madrid: Díaz de Santos, 1995. 389 p.
5. CHARÁ, J. D. O. El potencial de las excretas porcinas para uso múltiple y los sistemas de descontaminación. **CONTAMINACIÓN Y RECICLAJE EN LA PRODUCCIÓN PORCINA: ASPECTOS LEGALES TÉCNICOS Y ECONÔMICOS**, Santiago de Cali/ Colombia, 20 - 22 de agosto de 1998, Colômbia, CIPAV/ Asociación Colombiana de Porcinicultores, 1998. p. 49 - 50.
6. CHIKH, G.; POURQUIÉ, J.; KAISER, P.; DAVILA, A.M. Charecterization of bacterial flora isolated from a pilot-scale lagoon processing swine manure. **Can. J. Microbiol.** n. 43, p. 1079 - 1083, 1997.
7. CHO, J. C.; KIM, SS. J. Increase in bacterial community diversity in subsurface aquifers receiving livestock wastewater input. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 66, n. 3, p. 956 - 965, 2000.
8. EDWARDS, M. L.; LILLEY, A. K.; TIMMS-WILSON, T. H.; THOMPSON, I. P.; COOPER, I. Characterisation of the culturable heterotrophic bacterial community in a small eutrophic lake (Priest Pot). **FEMS Microbiology Ecology**, n. 35, p. 295 - 304, 2001.
9. MAC FADDIN, J. F. **Biochemical Test for Identification of Medical Bacteria**. 3 ed. Philadelphia, Williams & Wilkins, 2000. 912 p.
10. SANTURIO, G.L.A.; BORGES, V.F.; SCHMIDT, V. Compostação sólida de dejetos animais: a antibiose como indicador de maturação do processo. **SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA**, 7, Porto Alegre, 16 a 20 de outubro de 1995. Porto Alegre, PROPESP/UFRGS, 1995. p. 89.
11. SCHMIDT, V.; GOTTARDI, C. P. T.; SANTOS, M. A. A.; CARDOSO, M. R. I. Perfil físico-químico e microbiológico de uma estação de tratamento de dejetos suínos. **Ars Veterinária**, São Paulo. (no prelo)
12. STRAUCH, D. Disease agents in feces and their epidemiologic significance. **Tierarztl. Prax. Suppl.** n. 3, p. 21 -27, 1988.
13. STRAUCH, D. Survival of pathogenic micro-organisms and parasites in excreta, manure and sewage sludge. **Veterinary Science and Technology**, v. 10, n. 3, p. 813 -846, 1991.
14. THURSFIELD, M. **Veterinary Epidemiology**. London, Butterworths, 1986. 280 p.

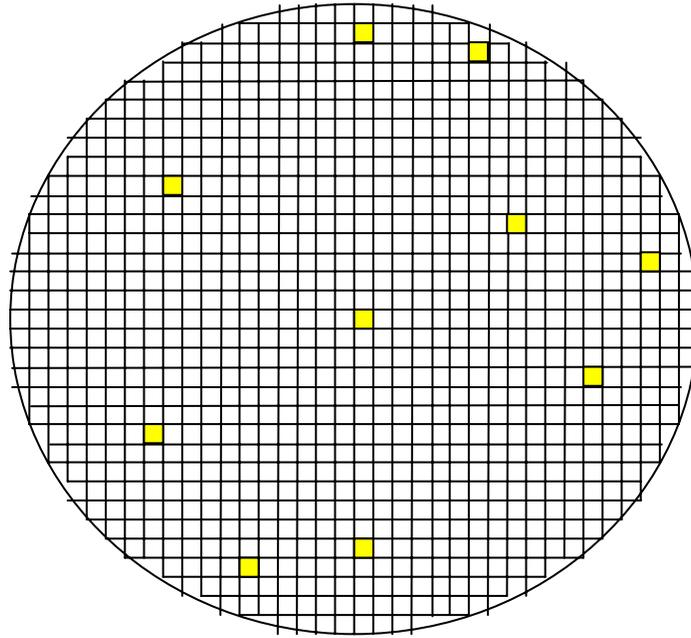


FIGURA 6.1: Mapa de quadrantes com áreas pré-determinadas construído para a coleta de colônias a serem caracterizadas.

TABELA 6.1: Número médio, mínimo e máximo de unidades formadoras de colônias por mL de dejetos liquefeitos em sete pontos (PA, P1, P3, P9, P10, P11 e P14) de um sistema de lagoas interligadas para o tratamento de dejetos suínos em duas estações climáticas (primavera/verão e outono/inverno), no sul da Brasil.

Pontos	Outono/ inverno		Primavera/ verão	
	média	mínimo - máximo	média	mínimo - máximo
P1	$8,2 \times 10^5$	$1 \times 10^4 - 3 \times 10^6$	$3,4 \times 10^4$	$2 \times 10^3 - 1,4 \times 10^6$
P3	$7,7 \times 10^5$	$1 \times 10^4 - 3,9 \times 10^6$	$1,6 \times 10^5$	$4 \times 10^3 - 5 \times 10^6$
PA	$1,2 \times 10^6$	$1 \times 10^2 - 7,9 \times 10^6$	$1,5 \times 10^6$	$1 \times 10^4 - 8,3 \times 10^6$
P9	$6,6 \times 10^4$	$1 \times 10^2 - 3,4 \times 10^5$	$2,6 \times 10^4$	$1 \times 10^2 - 2,8 \times 10^5$
P10	$2,5 \times 10^6$	$1 \times 10^3 - 1,34 \times 10^6$	$9,6 \times 10^5$	$1 \times 10^4 - 3,6 \times 10^6$
P11	$1,1 \times 10^5$	$2 \times 10^2 - 6,4 \times 10^5$	5×10^5	$1 \times 10^2 - 3,1 \times 10^6$
P14	$3,2 \times 10^5$	$6 \times 10^2 - 1,47 \times 10^6$	$1,6 \times 10^6$	$4 \times 10^3 - 2,6 \times 10^7$

TABELA 6.2: Número de tipos coloniais diversos (S), Diversidade (D) e Equitabilidade (E) médias de sete pontos de amostragem (PA a P14) de um sistema de lagoas interligadas para o tratamento de dejetos de suínos.

Ponto	outono/inverno			primavera/verão		
	S	D	E	S	D	E
PA	24	3,69 ^a	0,63	21	4,25 ^a	0,605
P1	24	3,41 ^{ab}	0,535	21	3,58 ^{ab}	0,524
P3	24	3,01 ^{ab}	0,513	21	4,14 ^{ab}	0,569
P9	25	2,75 ^b	0,472	25	2,82 ^b	0,478
P10	25	1,62 ^c	0,443	12	1,71 ^c	0,635
P11	26	2,02 ^c	0,516	19	2,18 ^c	0,552
P14	24	1,71 ^c	0,464	20	2,37 ^c	0,518

a, b, c = letras diferentes na mesma coluna significam diferença estatística significativa ($p < 0,005$)

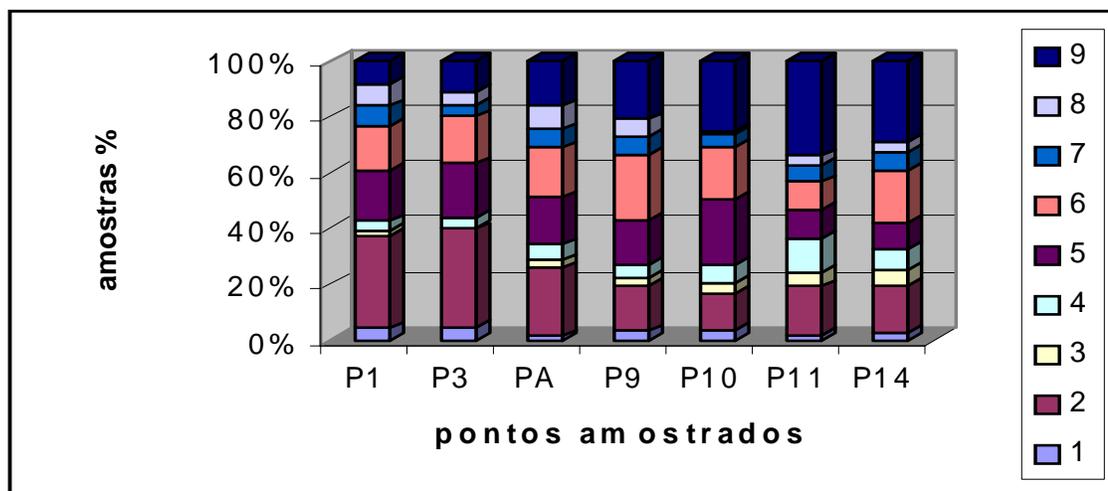


FIGURA 6.2: Características de colônias isoladas de diferentes pontos de um sistema de tratamento de dejetos de suínos (P1: n =223; P3: n = 242; PA: n = 243; P9: n = 228; P10: n = 213; P14: n = 220), onde: 1 = Gram negativo/ Oxidase negativo/ sem crescimento em McConkey; 2 = Gram negativo/ Oxidase negativo/ com crescimento em McConkey; 3 = Gram negativo / Oxidase positivo/ sem crescimento em McConkey; 4 = Gram negativo/ Oxidase positivo/ com crescimento em McConkey; 5 = Coco Gram positivo/ Catalase positiva; 6 = Coco Gram positivo/ Catalase negativa; 7 = Bastonete Gram positivo/ Catalase positiva; 8 = Batonete Gram positivo/ Catalase negativa; 9 = amostras não recuperadas.

CAPÍTULO 7

DISCUSSÃO GERAL

7.1 DISCUSSÃO

Os resultados obtidos no presente estudo demonstram que o sistema de lagoas interligadas para o tratamento de dejetos de suínos foi eficaz na redução do número de microrganismos. Por outro lado, verificou-se que embora tenham ocorrido reduções nos parâmetros físico-químicos, estes ainda estão acima dos valores fixados na legislação. Uma observação importante quanto à legislação vigente no estado de Santa Catarina é que esta fixa valores máximos de emissão em efluentes ou permite a redução destes em 80%. Desta forma, a empresa que possuir o afluente do sistema com alta carga orgânica pode reduzi-la em 80% e, mesmo assim, liberar ao corpo coletor quantidades superiores ao fixado como máximo permitido. Devemos ainda lembrar que esta condição não está presente na legislação de outros estados brasileiros, como é o caso do Rio Grande do Sul, onde estão alojados produtores integrados à Empresa. Por outro lado, caso a legislação catarinense seja revista e esta condição eliminada, a empresa necessitaria de alterações imediatas para atendê-la. Este fato preocupa a Empresa, o que tem motivado sua participação em projetos de pesquisa que otimizem os sistemas de tratamento utilizados em todos os segmentos da produção.

As quantidades de fósforo total (lançamento mínimo de 61 mg/L) e de nitrogênio total (lançamento mínimo de 410 mg/L) observadas no final do sistema (P14) estão acima da concentração máxima permitida (1,0 mg/L e 10,0 mg/L para PT e NT, respectivamente) no Estado de Santa Catarina, estabelecidos pelos Decretos N° 14.250 e N° 19.380/83. Os valores médios de NO_3^- apresentaram redução significativa após a lagoa anaeróbia (P9) mantendo, a partir daí, uma leve e constante redução que, entretanto, não é significativa. Isto por que nas lagoas aeróbias (P10 a P14) ocorre a amonificação (transformação do nitrogênio orgânico em amônia) seguida de nitrificação, onde bactérias dos gêneros *Nitrosomonas* e *Nitrobacter* oxidam a amônia transformando-a em NO_3^- . Após a formação do nitrato, bactérias desnitrificantes, representadas pelo gênero *Pseudomonas*, na ausência de oxigênio utilizam-no como acceptor final de elétrons, convertendo o nitrato em gás nitrogênio (N_2) e N_2O , ainda que a acumulação de nitrito (NO_2^-) possa ocorrer (Prescott et al., 1996); este fato pôde ser

observado em nosso estudo, na medida que houve redução significativa de NO_2 após a lagoa de sedimentação (P3) e nas etapas seguintes do sistema não ocorreu redução significativa. Considera-se que na ausência da etapa de desnitrificação, 50% do nitrogênio original permanecerá no efluente (Ford, 1993).

A fim de reduzir a emissão de fósforo e nitrogênio no efluente, principal problema do sistema estudado, a adição de alumínio ao tratamento aeróbio poderia ser utilizada para remover o fósforo inorgânico (Ford, 1993; Jorgensen; Vollenweider, 1989), bem como a construção de biofiltros verticais (wetlands) uma vez que este sistema possui uma área anaeróbia que possibilita a denitrificação e as plantas presentes têm capacidade de absorção de fósforo e nitrogênio (Jorgensen; Vollenweider, 1989). A Empresa, com orientação e supervisão do Departamento de Engenharia Química e de Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina e do Instituto de Engenharia Sanitária e Gerenciamento de Efluentes da Universidade de Hannover, optou pela inserção de biofiltros verticais construídos após a última lagoa aeróbia (P14, no sistema estudado). Estes demonstraram ser econômica e tecnicamente satisfatórios, apresentando resultados significantes na remoção de fósforo e nitrogênio (Sezerino et al., 2002). Contudo, como o estudo dos biofiltros não contemplou a caracterização microbiológica, surge o questionamento sobre a ação das macrófitas utilizadas sobre a redução ou eliminação de microrganismos.

Durante o período de monitoramento do sistema, verificou-se que houve redução quantitativa significativa no número de coliformes totais e fecais e salmonelas recuperados ao final do sistema. Confrontando nossos dados com os valores máximos permitidos na legislação, pode-se perceber que o efluente do sistema, em certos momentos, apresenta características microbiológicas de classe de água melhor do que aquelas dos corpos coletores. O que é desejável, na medida em que há estudos nos quais se tenciona redirecionar este efluente ao processo produtivo, utilizando-o como água de lavagem ou mesmo introduzindo peixes nas lagoas do sistema, visando sua otimização na captação de recursos econômicos ao produtor. Entretanto, este é um aspecto que merece maior investigação, na medida em que se desconhece qualitativamente a característica microbiológica desse material.

Este fato pôde ser observado ao determinar-se os índices de diversidade e equitabilidade da composição microbiana. Observou-se que o índice de diversidade varia entre os diferentes pontos do sistema e, embora ocorra redução deste ao longo do sistema, a equitabilidade é sempre diferente de um (01), indicando que ocorre predominância de um tipo morfológico. Quando avaliadas as características morfotintoriais e bioquímicas, as enterobactérias foram os microrganismos de maior representatividade no afluente do sistema e os enterococos, no efluente. Pode-se ainda identificar as espécies encontradas e caracterizá-las quanto à presença de fatores de virulência e resistência, bem como determinar sua efetiva participação na eliminação de agentes patogênicos através de competição ou outro meio, visando integrá-las e/ou potencializá-las nos sistemas de tratamento de efluentes.

Tão questionável quanto a presença de microrganismos no efluente é a emissão de agentes bacterianos, inclusive saprófitas, com alto índice de resistência a antimicrobianos, bem como a incorporação de resíduos destes e outros fármacos aos corpos coletores, inclusive potencialmente mutagênicos. Avaliou-se o perfil de resistência a antimicrobianos de amostras de *Escherichia coli* e *Salmonella* sp. isoladas em diferentes pontos do sistema estudado. Verificou-se multiresistência antimicrobiana em todas etapas do sistema de tratamento tanto para *E. coli* como para *Salmonella*. Observaram-se, ainda, altos índices de resistência (99,5% de *E. coli* e 94,5% de *Salmonella*) frente aos antimicrobianos testados, desde o início (P1) até o final do sistema (P14), indicando que os microorganismos sofreram pressão seletiva pelo uso constante destes fármacos (Fedorka-Cray, 1999; Boggard; Stobbering, 2000; Linton, 1988) no tratamento de doenças (Barcellos; Sobestiansky, 1998) e como promotores de crescimento, uma vez que os antimicrobianos estão presentes no manejo adotado na granja do sistema de tratamento de dejetos em estudo. Esta alta pressão de seleção também resultou em grande variabilidade dos perfis de resistência das amostras, como pode ser constatado nos dendrogramas construídos. Na distância Euclidiana 2,0 observou-se a formação de 5 a 7 grupamentos para *E. coli* e 3 para *Salmonella*, não havendo um predomínio de qualquer um deles em qualquer dos pontos amostrados. Em plantas de tratamento de dejetos tem sido verificada tanto a redução dos índices de

resistência antimicrobiana (Avignon; Lafont, 1995; Kish Lampky, 1983; Bell et al., 1983), bem como seu incremento (Morozzi et al., 1988; Hassani et al., 1992). Observou-se incremento ou redução no percentual de amostras resistentes, entretanto as amostras de *E. coli* e *Salmonella* mantiveram-se multiresistentes ao longo do sistema. Este é um dado preocupante, uma vez que microorganismos patogênicos ao homem, como é o caso da *Salmonella* Typhimurium, apresentam resistência a antimicrobianos os quais não são utilizados na produção animal, mas são de uso prioritário em medicina humana, como é o caso das quinolonas. Estes resultados vêm somar-se à discussão sobre o uso intensivo de antimicrobianos na produção de suínos e sua conseqüência à saúde humana e animal.

Outro fator que deve ser considerado em relação ao monitoramento do sistema estudado é que, a partir desses resultados, é possível estabelecer-se quais as condições mínimas necessárias ao tratamento de dejetos suínos em criações não industriais, como é o caso de propriedades integradas; lembrando que nestas situações o volume de dejetos é menor, mas a área disponível para implantação de um sistema de tratamento é, também, reduzida. A produção de efluente líquido é a realidade do sistema produtivo suinícola brasileiro e tem sido preferida no manejo intensivo de suínos por exigir menor esforço humano e ser compatível com a automação (Strauch, 1987). Por esta razão dá-se ênfase ao tratamento em sistema de lagoas interligadas.

Observou-se que a separação física de sólidos e líquidos foi uma etapa importante à redução de parâmetros físicos e químicos no sistema de tratamento de lagoas, uma vez que grande parte da matéria orgânica é direcionada à lagoa de lodo (PA, no sistema estudado). Contudo, evidenciou-se ser necessário realizar um tratamento deste material visando, principalmente, o controle de microorganismos patogênicos. A compostação seria uma alternativa econômica e tecnicamente viável para o tratamento deste material, pois nesse sistema o processo de decomposição da matéria orgânica gera calor suficiente à eliminação dos microorganismos. Este fato deve ser observado por que, mesmo que o material oriundo da lagoa de lodo não seja destinado a um corpo coletor, este material é empregado na adubação de pastagens e hortas, constituindo-se em risco potencial à saúde pública, uma vez que *Salmonella*, por exemplo, pode sobreviver meses após a aplicação no solo (Schandler; Craven, 1981; Strauch et al., 1981).

Outro ponto imprescindível à composição de um sistema de lagoas interligadas é a lagoa anaeróbia, a qual poderia ser substituída por um reator anaeróbio, que utiliza menor área construída mas, contudo, demanda gastos adicionais à sua construção. Na lagoa anaeróbia (P9, no sistema estudado) é onde ocorrem as reduções mais significativas dos parâmetros físico-químicos. O efluente desta lagoa seria então, direcionado a uma lagoa facultativa, onde seria produzido efluente com alta concentração de nitrato, oriundo do processo de nitrificação. Este efluente seria direcionado a um biofiltro vertical onde o excedente de fósforo é retido pelas macrófitas e o nitrato é eliminado no processo de desnitrificação que ocorre na zona anaeróbia existente. Deste modo, o efluente gerado ao final do sistema estaria em conformidade com a legislação quanto aos parâmetros físico-químicos e sem risco potencial poluidor. Quanto aos aspectos microbiológicos, estudos têm demonstrado que as macrófitas também reteriam estes agentes (Hill; Sobsey, 2001), eliminando o risco à saúde humana e animal.

Restaria, ainda, o problema da resistência a antimicrobianos. Contudo este é um capítulo a ser amplamente discutido com todos os segmentos da cadeia produtiva, uma vez que implica em profundas modificações no sistema de produção e manejo desta e de outras espécies animais.

BIBLIOGRAFIA

1. ANDERSEN, S. R. Effects of WasteWater Treatment on the Species Composition and Antibiotic Resistance of Coliform Bacteria. **Current Microbiology**, New York, v.26, p. 97 - 103, 1993.
2. ASCECALIDAD, E.U. (org.) **HACCP: Plan generico para el aseguramiento de la calidad de la carne fresca de cerdo**. Colômbia, Asociación Colombiana de porcicultores, 1998. 65 p.
3. ATLAS, R; BARTHA, R. **Microbial Ecology**. 4 ed. California/EUA, Benjamin/Cummings, 1998. 694 p.
4. AVIGNON, M.; LAFONT, J.P. [Antibiotic-resistant coliforms in a purification station on a pig-breeding farm]. **Ann. Rech. Vet.** v. 16, n. 3, p. 245 - 253, 1985.
5. BARCELLOS, D. E. S. N.; SOBESTIANSKI, J. **Uso de antimicrobianos em Suinocultura**. Goiânia: 1998. p.107.
6. BELL, J. B.; ELLIOT, G. E.; SMITH, D. W. Influence of sewage treatment and urbanization on selection of multiple resistance in fecal coliforms populations. **Applied and Environmental Microbiology**. v. 46, n. 1, p. 227 - 232, 1983.
7. BELLI FILHO, P.; COSTA, R. H. R. da; SOARES, S. R.; CASTILHOS Jr.; A. B.; PERDOMO, C. C. Gestão Ambiental dos Sistemas de Produção de Suínos para o Sul do Brasil. In: FRANKENBERG, C. L. C.; RAYA-RODRIGUES, M. T.; CANTELLI, M. **Gerenciamento de Resíduos e Certificação Ambiental**. Porto Alegre, PUCRS, 2000. p. 280 - 291.
8. BLAHA, K. Solids separation and dewatering. In: TAIGANIDES, E. P. (ed). **Animal Wastes**. Applied Sci. Publ, 1977. Cap. 16, p. 183 - 195. (referência incompleta)
9. BOGAARD, A. E. van den; STOBBERING, E. E. Epidemiology of resistance to antibiotics: Links between animals and humans. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 14, p. 327 - 335, 2000.
10. BRUM, M. C. Sources of manure: swine. In: HATFIELD, J. L.; STEWARD, B. A (ed) **Animal Waste Utilization: Effective Use of Manure as a Soil Resource**. Michigan/ USA, Ann Arbor, 1998. p. 49 - 63.
11. CHARÁ, J. D. O. El potencial de las excretas porcinas para uso múltiple y los sistemas de descontaminación. CONTAMINACIÓN Y RECICLAJE EN LA PRODUCCIÓN PORCINA: ASPECTOS LEGALES TÉCNICOS Y ECONÔMICOS,

- Santiago de Cali/ Colombia, 20 - 22 de agosto de 1998, Colômbia, CIPAV/ Asociación Colombiana de Porcinicultores, 1998. p. 49 - 50.
12. CONAMA - CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE - Resolução N° 274 de 29 de novembro de 2000. Disponível na Internet: <http://www.mma.gov.br/port/conama>. Arquivo capturado em 02 de maio de 2002.
 13. CORTÉS, A. A. Tasas Retributivas para el Control de la Contaminación del Agua en Colombia. CONTAMINACIÓN Y RECICLAJE EN LA PRODUCCIÓN PORCINA: ASPECTOS LEGALES TÉCNICOS Y ECONÔMICOS, Santiago de Cali/ Colombia, 20 - 22 de agosto de 1998, Colômbia, CIPAV/ Asociación Colombiana de Porcinicultores, 1998. P. 22 - 33.
 14. CRESTANI, A M. Visão empresarial da suinocultura contemporânea. SEMINÁRIO NACIONAL DE SUINOCULTURA, 1, Concórdia/SC, outubro, 1995. Concórdia, Escola Agrotécnica Federal, 1995. P. 16 -17. Anais.
 15. CRUZ, F. **BSE (Encefalopatia Espongiforme dos Bovinos)**. Disponível na Internet: <http://planeta.terra.com.br/saude/franciscocruz/epidemiologia.htm>. Arquivo capturado em 12 de abril de 2002.
 16. DAY, D. L.; FUNK, T. L. Processing Manure: Physical, Chemical and Biological Treatment. In: HATFIELD, J. L.; STEWARD, B. A (ed) **Animal Waste Utilization: Effective use of manure as a Soil Resource**. Michigan/ USA, Ann Arbor, 1998. p. 243 - 282.
 17. DMAE - Departamento Municipal de Águas e Esgotos/ PMPA. **Análises físicas, químicas e biológicas em águas e resíduos líquidos**. Porto Alegre, DMAE / CORSAN, sd. 274 p. Manual Técnico N° 39.
 18. ESPEJO, R. P. Porcinocultura Intensiva y Medio Ambiente en México: Situación Actual y Perspectivas. CONTAMINACIÓN Y RECICLAJE EN LA PRODUCCIÓN PORCINA: ASPECTOS LEGALES TÉCNICOS Y ECONÔMICOS, Santiago de Cali/ Colombia, 20 - 22 de agosto de 1998, Colômbia, CIPAV/ Asociación Colombiana de Porcinicultores, 1998. P. 1 - 15.
 19. FAO (Roma, Itália) **China**: recycling of organic wastes in agriculture. Roma, 1977. 10 p. (FAO Soils Bulletin, 40).
 20. FEDORKA-CRAY, P. J.; PETERSEN, K. E.; DARGATZ, D. A.; TOLLEFSON, L.; WINELAND, N. E.; HEADRICK, M.; HOLLINGER, K.; FERRIS, K. National Antimicrobial Resistance Monitoring System: Results for Swine. In: **INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON THE EPIDEMIOLOGY AND**

- CONTROL OF SALMONELLA IN PORK, 3.**, Washington. Proceedings Washington. 1999. p.248-249.
- 21 FEPAM - Fundação Estadual de Proteção Ambiental Henrique Luís Roessler. **Critérios técnicos referentes à localização e à disposição de resíduos de estabelecimentos rurais destinados a suinicultura e avicultura.** Porto Alegre, FEPAM, 1995.
 22. FRANKLIN, A. Current status of antibiotic resistance in animal production. **Acta Vet. Scand. Suppl.**, n. 92, p. 23 - 28, 1999.
 23. FRANSON, M. A. H. (ed.) **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater.** 15 ed. Washington, APHA, 1995.
 24. FORD, T. E. (ed) **Aquatic Microbiology: an ecological approach.** Boston, Blackwell, 1993. 518 p.
 25. FUNDAÇÃO DO MEIO AMBIENTE DO ESTADO DE SANTA CATARINA - FATMA. DECRETO N° 14.250, de 5 de junho de 1981. Disponível na Internet: <http://www.sc.gov.br/webfatma>. Arquivo capturado em 02 de maio de 2002.
 26. FUNDAÇÃO DO MEIO AMBIENTE DO ESTADO DE SANTA CATARINA - FATMA. DECRETO N° 19.380/1983. Disponível na Internet: <http://www.sc.gov.br/webfatma>. Arquivo capturado em 02 de maio de 2002.
 27. FUNDAÇÃO DO MEIO AMBIENTE DO ESTADO DE SANTA CATARINA - FATMA. Portaria Intersetorial N° 01/92, de 27 de outubro de 1992. Disponível na Internet: <http://www.sc.gov.br/webfatma>. Arquivo capturado em 02 de maio de 2002.
 28. GIRALDO, S. La porcinocultura Antioqueña en el campo ambiental. CONTAMINACIÓN Y RECICLAJE EN LA PRODUCCIÓN PORCINA: ASPECTOS LEGALES TÉCNICOS Y ECONÔMICOS, Santiago de Cali/ Colombia, 20 - 22 de agosto de 1998, Colômbia, CIPAV/ Asociación Colombiana de Porcinicultores, 1998. P. 41 - 49.
 29. GONZALO, M. P.; ARRIBAS, R. M.; LATORRE, E.; BAQUERO, F.; MARTINEZ, J. L. Sewage dilution and loss of antibiotic resistance and virulence determinants in *E. coli*. **FEMS Microbiol. Lett.**, v. 50, n. 1 -2, p. 93 -96, 1989.
 30. GUTIERREZ, A. R.; TAMAYO, S. S. Caracterización del sistema de manejo de porquinaza en varias explotaciones porcinas del norte de Antioquia. CONTAMINACIÓN Y RECICLAJE EN LA PRODUCCIÓN PORCINA: ASPECTOS LEGALES TÉCNICOS Y ECONÔMICOS, Santiago de Cali/

Colombia, 20 - 22 de agosto de 1998, Colômbia, CIPAV/ Associação Colombiana de Porcinicultores, 1998. P. 35 - 40.

31. HAMMOND, R. C. Animal Waste: A now Problem. **JAVMA**, v.161, n.11, p. 1322 - 1324, 1972.
32. HASSANI, L.; IMZILN, B.; GAUTHIER, M. J. Antibiotic-resistant *Escherichia coli* from wastewater before and after treatment in stabilization ponds in the arid region of Marakech, Morocco. **Letters in Applied Microbiology**, v.15, p.228 - 231, 1992.
33. HAWKINS, J. C. The handling of animal wastes. **The Veterinary Record**, v. 102, p. 162 - 165, 1978.
34. HILL, V. R.; SOBSEY, M. D. Removal of *Salmonella* and microbial indicators in constructed wetlands treating swine wastewater. **Water Sci. Technol.** v. 44, n. 11 - 12, p. 215 - 222, 2001.
35. JONES, P. N. Health hazards associated with the handling of animal wastes. **The Veterinary Records**, v.5, p.4 -7 , 1980.
36. JORGENSEN, S. E.; VOLLENWEIDER, R. A. **Guidelines of Lake Management: Principles of Lake Management**. Shiga/Japão, ILEC, 1989. v. 1, 199 p.
37. KANTAWANICHKUL, S.; NEAMKAM, P.; SHUTES, R. B. Nitrogen removal in a combined system: vertical vegetated bed over horizontal flow sand bed. **Water Science Technology**. v. 44, n. 11 - 12, p. 137 - 142, 2001.
38. KIECKHÖFER, H. Controle de doenças entéricas. SEMINÁRIO NACIONAL DE SUINOCULTURA, 1, Concórdia/SC, outubro, 1995. Concórdia, Escola Agrotécnica Federal, 1995. P. 18 -20. Anais.
39. KISH, A. J.; LAMPKY, J. R. Survival incidence of antibiotic-resistant coliforms in a lagoon system. **Jornal WPCF**, v. 55, n. 5, p. 506 - 511, 1983.
40. LARSEN, H. E.; MUNCH, B.; SCHLUNDT, J. Use of indicators for monitoring the reduction of pathogens in animal waste treated in biogas plants. **Zentralblatt Hygiene Umweltmed.** v. 195, n. 5 - 6, p. 544 - 555, 1994.
41. LÉON, G. S; CAVALLINI, J. M. **Tratamento e Uso de Águas Residuárias**. Campina Grande/ PB, UFP, 1999. 109 p.
42. LIAO, C. M.; MAEKAWA, T.; CHIANG, H. C.; WU, C. F. Removal nitrogen and phosphorus from swine wastewater by intermittent aeration processes. *Journal of Environmental Science Health* , v.28, n.3, p. 335 - 374, 1993. (PubMed: 8514970 em 06/02/99).

43. LINTON, A. H. Plasmids in the environment. **Schriften Ver Wasser Boden Lufthyg**, v. 78, p. 197 - 224, 1988.
44. LUCA, S. J de. Alternativas de controle da poluição. In: PORTO, R. L. L. (org.) **Hidrologia Ambiental**. São Paulo, EDUSP, 1991. p. 299 - 348.
45. MALDONADO, J. H. Tasas retributivas para el control de la contaminación del agua en Colombia. CONTAMINACIÓN Y RECICLAJE EN LA PRODUCCIÓN PORCINA: ASPECTOS LEGALES TÉCNICOS Y ECONÓMICOS, Santiago de Cali/ Colombia, 20 - 22 de agosto de 1998, Colômbia, CIPAV/ Asociación Colombiana de Porcinicultores, 1998. P. 17 - 26.
46. MOROZZI, G.; SPORTOLARI, R.; CALDINI, G.; CENCI, G.; MOROSI, A. The effect of anaerobic and aerobic wastewater treatment on fecal coliforms and antibiotic-resistant fecal coliforms. **Zentralbl. Bakteriол. Mikrobiol. Hyg.[B]**, v. 185, n. 4 -5, p. 340 - 349, 1988.
47. MOUTON, J. W. Combination therapy as a tool to prevent emergence of bacterial resistance. *Infection*, v. 27, suplemento 2, p. S24 - S28, 1999.
48. NIEMI, M.; SIBAKOV, M.; NIEMELA, S. Antibiotic resistance among different species of fecal coliforms isolated from water samples. **Appl. Environ. Microbiol.** v.45, n. 1, p. 79 - 83, 1983.
49. OLIVEIRA, P. A. V. (cord). **Manual de manejo e utilização de dejetos suínos**. Concórdia, Santa Catarina: Embrapa-CNPSA, 1993. 188p.
50. PÁDUA, H. B. Variáveis físicas, químicas e biológicas para caracterização das águas em sistemas abertos. In: MAIA, N. B. (cord.). **Indicadores Ambientais**, Sorocaba, USP, 1997. p. 89 - 98.
51. PELCZAR JR, M. J.; CHAN, E. C. S.; KRIEG, N. R.; EDWARDS, D. D.; PELCZAR, M. F. **Microbiologia: Conceitos e aplicação**. 2 ed. São Paulo, Makron, 1996. v.1. 524 p.
52. PERDOMO, C. C. Sugestões para manejo, tratamento e utilização de dejetos suínos. Concórdia, Embrapa - Suínos e Aves, 1999. Instrução Técnica para o Suinocultor N° 12. 2 p.
53. PRESCOTT, L. M.; HARLEY, J. P.; KLEIN, D. A. **Microbiology**. 3 ed. Dubuque/USA, WCB, 1996. 129 p. v.1.
54. REDDY, G. B.; HUNT, P. G.; PHILLIPS, R.; STONE, K. GRUBBS, A. Treatment of swine wastewater in marsh-pond-marsh constructed wetlands. **Water Science Technology**, v. 44, n. 11 - 12, p. 545 - 550, 2001.

55. RUIZ, R. L. **Microbiologia Zootécnica**. São Paulo, Rocca, 1992. 314 p.
56. SCHANDLER, D. S.; CRAVEN, J. A. A note on the persistence of *Salmonella havana* and fecal coliforms on a naturally contaminated piggery effluent disposal site. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 51, p. 45 - 49, 1981.
57. SEZERINO, P. H., REGINATTO SPILLER, V., SANTOS, M. A., KAYSER, K., KUNST, S., PHILIPPI, L. S., SOARES, H. M. Nutrient removal of piggery effluent using vertical constructed wetlands in South Brazil. In: 5th INTERNATIONAL IWA SPECIALIST GROUP CONFERENCE ON WASTE STABILISATION PONDS, Auckland, New Zealand. **Proceedings: IWA / NZWWA**, 2002. pp. 297-235.
58. SIMPSON, J. R. Some aspects of the biochemistry of anaerobic digestion. England, University of New Castle, 1959 apud OLIVEIRA, P.AV. de (coord.) **Manual de Manejo e Utilização de Dejetos Suínos**. Concórdia, EMBRAPA - CNPSA, 1993. 188 p.
59. SSMA - SECRETARIA DA SAÚDE E DO MEIO AMBIENTE . Norma Técnica SSMA 01/89. **Diário Oficial do Estado**, 29 de março, p. 14 - 15, 1989.
60. STRAUCH, D. (ed.) **Animal Production and environmental Health**. Amsterdam, Elsevier, 1987.
61. STRAUCH, D.; KONIG, W.; PHILIPP, W. EVERS, F. H. [Survival of salmonellas and ascaris eggs during sludge utilization in forestry]. **Zentralbl. Bakteriol. Mikrobiol. Hyg. [B]**, v. 174, n. 5, p. 461 - 470, 1981.
62. STRAUCH, D. Disease agents in feces and their epidemiological significance. **Tierarztl. Prax. Suppl.** n. 3, p. 21 -27, 1988.
63. STRAUCH, D. Survival of pathogenic micro-organisms and parasites in excreta, manure and sewage sludge. **Veterinary Science and Technology**, v. 10, n. 3, p. 813 -846, 1991.
64. STRAUCH, D.; BALLARINI, G. Hygienic aspects of the production and agricultural use of animal waste. **Zentrall. Veterinarmed. [B]**. v.43, n. 3, p. 176 - 228, 1994.
65. STRAUCH, D.; PHILIPP, W. [Communicable disease problems of sewage sludge]. **Zentralbl. Bakteriol. Mikrobiol. Hyg. [B]**. v.178, n. 1-2, p. 142 - 154, 1983.
66. TAUK - TORNISIELO, S. M. Microorganismos como indicadores de impactos ambientais. In: MAIA, N. B. (coord.) **Indicadores ambientais**. Sorocaba, Martos, 1997. p. 157 -184.

67. TILCHE, A; BORTONE, G.; GARUTI, G.; MLASPINA, F. Post-treatment of anaerobic effluents. **Antonie Van Leeuwenhoek**, v.69, n. 1, p. 47 - 59, 1996.

Curriculum vitae resumido

Filha de Erna Wanda Schmidt e Helvino Schmidt, Verônica Schmidt nasceu em 19 de fevereiro de 1961, em Porto Alegre no Rio Grande do Sul. Coursou o 1º e 2º graus na Escola de Primeiro e Segundo Graus Pastor Dohms, em Porto Alegre. Graduou-se em Medicina Veterinária, em fevereiro de 1985, pela Universidade Federal de Rio Grande do Sul. Especializou-se em Medicina Veterinária Preventiva, em 1986 e em Educação Rural, em 1997, pela UFRGS. Recebeu o título de Mestre em Medicina Veterinária, na área de concentração de Doenças Parasitárias, pelo Pós-graduação da Faculdade de Veterinária da UFRGS, em 1991. É professora do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva da UFRGS, desde março de 1990. Estagiou junto ao Departamento de Engenharia de Meio Ambiente da Universidade de Kyoto no período de junho de 1996 a março de 1997.

Ingressou no Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias em 1998.