

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
KEILA YOUKO FUJII

PRESENÇA DE AGENTES BACTERIANOS E PARASITÁRIOS EM FEZES DE
EQUINOS E RESÍDUOS DE COCHEIRA DE CENTROS DE TREINAMENTO
SUBMETIDOS A DIFERENTES PROCESSOS DE COMPOSTAGEM

CURITIBA
2012

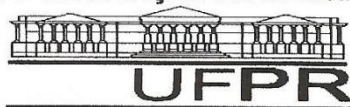
KEILA YOUKO FUJII

PRESENÇA DE AGENTES BACTERIANOS E PARASITÁRIOS EM FEZES DE
EQUINOS E RESÍDUOS DE COCHEIRA DE CENTROS DE TREINAMENTO
SUBMETIDOS A DIFERENTES PROCESSOS DE COMPOSTAGEM

Dissertação apresentada como requisito para obtenção do grau de Mestre, pelo programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias do Setor de Ciências Agrárias, da Universidade Federal do Paraná – UFPR.

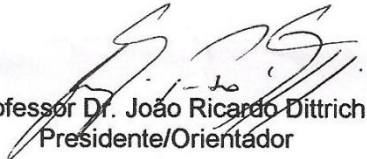
Orientador: Prof. Dr João Ricardo Dittrich
Coorientadora: Prof^a. Edilene Alcantara de Castro

CURITBA
2012

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**PARECER**

A Comissão Examinadora da Defesa da Dissertação intitulada “**PRESENÇA DE AGENTES BACTERIANOS E PARASITÁRIOS EM FEZES DE EQUINOS E RESÍDUOS DE COCHEIRA DE CENTROS DE TREINAMENTO SUBMETIDOS A DIFERENTES PROCESSOS DE COMPOSTAGEM**” apresentada pela Mestranda **KEILA YOUKO FUJII** declara ante os méritos demonstrados pela Candidata, e de acordo com o Art. 79 da Resolução nº 65/09–CEPE/UFPR, que considerou a candidata APROVADA para receber o Título de Mestre em Ciências Veterinárias, na Área de Concentração em Ciências Veterinárias.

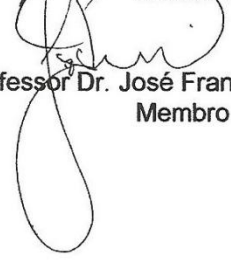
Curitiba, 21 de março de 2012



Professor Dr. João Ricardo Dittrich
Presidente/Orientador



Professora Dra. Beatriz Monte Serrat
Membro



Professor Dr. José Francisco G. Warth
Membro



Universidade Federal do Paraná
Setor de Ciências Agrárias
Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA SCA

CERTIFICADO

Certificamos que o protocolo no. 033/2010, referente ao projeto “Caracterização e tratamento de dejetos de equinos para a redução de patógenos no ambiente na saúde animal e humana”, sob a responsabilidade de Keila Youko Fujii, na forma que foi apresentado, foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais do Setor de Ciências Agrárias, em reunião realizada dia 13 de Setembro de 2010. Este certificado expira em 13 de agosto de 2011.

CERTIFICATE

We certify that the protocol number 033/2010, regarding the project “characterization and waste treatment equine for pathogen reduction on environment and animal and human health”, in charge of Keila Youko Fujii, in the terms it was presented, was approved by the Animal Use Ethics Committee of the Agricultural Sciences Campus of the Universidade Federal do Paraná (Federal University of the State of Paraná, Southern Brazil) during session on September 2010. This certificate expires on September, 2011.

Curitiba, 13 de Setembro de 2010.



Geraldo Camilo Alberton
Presidente



Patrick Schmidt
Vice-Presidente

Comissão de Ética no Uso de Animais
Setor de Ciências Agrárias
Universidade Federal do Paraná.

Dedico:

A uma pessoa que esteve ao meu lado nos momentos mais difíceis da minha vida, e que em passos dados por minhas próprias pernas talvez não pudesse ir tão longe, mas a força do seu amor me fez percorrer distâncias inimagináveis. Dedico esse trabalho ao meu marido Renato, no qual sempre irei lhe dedicar a minha vida.

AGRADECIMENTOS

Á Deus, pela constante companhia e apoio em todos os momentos de minha vida.

Aos meus pais, que sempre foram o meu exemplo, trabalhando exaustivamente para garantir a minha educação e minha continuidade nos estudos.

Aos meus irmãos que mesmo não estando presentes constantemente nessa minha importante fase da vida, sempre me deram apoio.

Ao orientador Prof. João Ricardo Dittrich pela dedicação no exercício do ensino, concedendo-me total liberdade de trabalho, pela oportunidade de desenvolver este trabalho, acreditando, confiando e ajudando em meu crescimento profissional e científico.

Aos coorientadores Prof^a. Edilene e Prof. José Francisco, por cederem seus tempos em me ajudar.

Á Prof^a. Rosangela, por permitir a utilização do laboratório de Patologia Clínica.

Aos Laboratórios de Nutrição Animal, Microbiologia e Ornitopatologia e Parasitologia da UFPR.

Á UFPR que, pela segunda vez se tornou o meu segundo lar.

Aos meus mestres na Universidade que sempre serviram de exemplo profissional.

Á minha amiga Damaris, que em todos os momentos de extrema necessidade esteve ao meu lado e em silêncio ouvia minhas inúmeras reclamações. Obrigada por ser essa pessoa iluminada em minha vida e que em todos esses anos de convivência me mostrou o que é um verdadeiro amigo.

Ao meu amigo e colega Emanuel, que me ajudou muito durante esses dois anos, além de muitas vezes ter que aturar meu jeito difícil.

Á minha amiga Flávia que ainda se faz tão presente em minha vida.

Á Lais, amiga e colega de apartamento, que se fez marcante nesses dois últimos anos em minha vida.

Aos amigos e colegas de mestrado da UFPR e alunos de graduação pela contribuição no experimento.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	10
LISTA DE TABELAS	12
LISTA DE ABREVIACÕES, SIGLAS E UNIDADES	13
RESUMO	15
ABSTRACT	16
CAPITULO I – REVISÃO DE LITERATURA - CARACTERIZAÇÃO DA COMPOSTAGEM E MICRORGANISMOS PATOGÊNICOS DE COCHEIRA	18
1. INTRODUÇÃO	19
2. COMPOSTAGEM	21
2.1. Aeração	22
2.2. Temperatura.....	23
2.3. Umidade	25
2.4. pH	25
2.5. Microrganismos patogênicos	26
2.5.6. Enterobactérias.....	28
3. <i>CRYPTOSPORIDIUM</i> sp	31
3.1. Epidemiologia	33
3.2. Sobrevivência	36
3.3. Patogenia e sinais clínicos	37
3.4. Diagnóstico	38
3.5. Profilaxia	38
4. <i>STRONGYLUS</i> sp.	40
4.1. Classificação biológica	40
4.2. Características morfológicas	41
4.3. Ciclo biológico	42
4.3.1. Ciclo de vida no exterior	43
4.3.1.1. Desenvolvimento dos estágios de vida livre	43
4.3.2. Ciclo de vida no hospedeiro	44
4.3.3. Sobrevivência nas fezes e pastagem	45

4.3.4. Sinais clínicos e laboratoriais	46
4.3.4.1. Subfamília Strongylinae	46
4.3.4.2. Subfamília Cyathostominae	47
4.3.5. Diagnóstico da estrogilidose	48
4.3.5.1. Técnicas coproparasitológicas	48
4.3.6. Controle e profilaxia	50
5. CONCLUSÃO	52
REFERÊNCIAS.....	53

CAPÍTULO II - PREVALÊNCIA DE *CRYPTOSPORIDUM* spp. EM DOIS CENTROS DE TREINAMENTO DE EQUINOS NA REGIÃO DE CURITIBA, PARANÁ..... 63

RESUMO	64
ABSTRAT	64
1. INTRODUÇÃO	65
2. MATERIAL E MÉTODOS	67
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	69
4. CONCLUSÃO	72
REFERÊNCIAS	73

CAPÍTULO III - INFLUÊNCIA DOS PROCESSOS UTILIZADOS NO TRATAMENTO DE RESÍDUOS DE COCHEIRA NA REDUÇÃO OU ELIMINAÇÃO DE OVOS E LARVAS INFECTANTES DO GÊNERO *STRONGYLUS* spp. 76

RESUMO	77
ABSTRAT	78
1. INTRODUÇÃO	78
2. MATERIAL E MÉTODOS	80
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	83
4. CONCLUSÃO	94
REFERÊNCIAS	94

CAPITULO IV - INFLUÊNCIA DOS METABOLISMOS FERMENTATIVOS E OXIDATIVOS NA VARIAÇÃO DA POPULAÇÃO BACTERIANA PRESENTE NA COMPOSTAGEM DE RESÍDUOS DE COCHEIRAS.....97

RESUMO	98
ABSTRAT	98
1. INTRODUÇÃO	99
2. MATERIAL E MÉTODOS	101
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	103
4. CONCLUSÃO	115
REFERÊNCIAS	115
CONSIDERAÇÕES FINAIS	118

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO III

- FIGURA 1 - TEMPERATURA INTERNA INICIAL, FINAL, MÍNIMA E MÁXIMA DOS DIFERENTES TRATAMENTOS NO PERÍODO EXPERIMENTAL. 84
- FIGURA 2 - LARVAS POR GRAMA DE RESÍDUO (LGR) NA PARTE INTERNA E SUPERFICIAL, TEMPERATURA INTERNA E SUPERFICIAL DA COMPOSTAGEM AERÓBICA MAIOR (CAM)87
- FIGURA 3 - LARVAS POR GRAMA DE RESÍDUO (LGR) NA PARTE INTERNA E SUPERFICIAL, TEMPERATURA INTERNA E SUPERFICIAL DA COMPOSTAGEM ABERTA SEM REVOLVIMENTO MAIOR (CASRM). 88
- FIGURA 4 - LARVAS POR GRAMA DE RESÍDUO (LGR) NA PARTE INTERNA E SUPERFICIAL, TEMPERATURA INTERNA E SUPERFICIAL DA COMPOSTAGEM AERÓBICA MENOR (CAM) 89
- FIGURA 5 - LARVAS POR GRAMA DE RESÍDUO (LGR) NA PARTE INTERNA E SUPERFICIAL, TEMPERATURA INTERNA E SUPERFICIAL DA COMPOSTAGEM ABERTA SEM REVOLVIMENTO MENOR (CASRM). 90
- FIGURA 6 - LARVAS POR GRAMA DE RESÍDUO (LGR) NA PARTE INTERNA E SUPERFICIAL, TEMPERATURA INTERNA E SUPERFICIAL DO BIODIGESTOR ANAERÓBICO (CF)..... 91
- FIGURA 7 - VALORES DE UMIDADE (%) DA PARTE INTERNA DOS DIFERENTES TRATAMENTOS..... 92
- FIGURA 8 - VALORES DE UMIDADE (%) DA PARTE SUPERFICIAL DOS DIFERENTES TATAMENTOS 93

FIGURA 9 - pH INICIAL E FINAL DA PARTE INTERNA E SUPERFICIAL DOS DIFERENTES TRATAMENTOS.	93
---	----

CAPÍTULO IV

FIGURA 1 - TEMPERATURA MÉDIA DA PARTE INTERNA OBSERVADA DURANTE O PROCESSO DE COMPOSTAGEM DO MATERIAL	104
---	-----

FIGURA 2 – CONTAGEM DE BACTÉRIAS ($\text{Log}_{10} \text{UFCg}^{-1}$) OBTIDA DA REGIÃO CENTRAL DOS TRATAMENTOS NO INÍCIO E FINAL DO EXPERIMENTO.	105
---	-----

FIGURA 3 - CONTAGEM DE BACTÉRIAS ($\text{Log}_{10} \text{UFCg}^{-1}$), DA REGIÃO SUPERFICIAL DOS TRATAMENTOS NO INÍCIO E FINAL DO EXPERIMENTO.	105
---	-----

FIGURA 4 - CONTAGEM DE BACTÉRIAS ($\text{Log}_{10} \text{UFCg}^{-1}$), UMIDADE E TEMPERATURA NA REGIÃO INTERNA E SUPERFICIAL DA COMPOSTAGEM AERÓBICA (CAM).	107
--	-----

FIGURA 5 - CONTAGEM DE BACTÉRIAS ($\text{Log}_{10} \text{UFCg}^{-1}$), UMIDADE E TEMPERATURA NA REGIÃO INTERNA E SUPERFICIAL DA COMPOSTAGEM AERÓBICA MENOR (CAm).	107
--	-----

FIGURA 6 - CONTAGEM DE BACTÉRIAS ($\text{Log}_{10} \text{UFCg}^{-1}$), UMIDADE E TEMPERATURA NA REGIÃO INTERNA E SUPERFICIAL DA COMPOSTAGEM ABERTA SEM REVOLVIMENTO MAIOR (CASRM).	110
---	-----

FIGURA 7 – CONTAGEM DE BACTÉRIAS ($\text{Log}_{10} \text{UFCg}^{-1}$), UMIDADE E TEMPERATURA NA REGIÃO INTERNA E SUPERFICIAL DA COMPOSTAGEM ABERTA SEM REVOLVIMENTO MENOR (CASRm).....	110
--	-----

LISTA DE TABELAS

CAPITULO I

TABELA 1 - TEMPOS E TEMPERATURAS NECESSÁRIAS PARA DESTRUIÇÃO DE PATÓGENOS EM BIOSSÓLIDOS 27

TABELA 2 - ESPÉCIES DE *CRYPTOSPORIDIUM* E PRINCIPAIS HOSPEDEIROS. 32

TABELA 3 - SINAIS CLÍNICOS E ANORMALIDADES PROVOCADAS PELAS LARVAS DAS ESPÉCIES DE “GRANDES ESTRÔNGILOS” EM EQÜÍDEOS 47

CAPÍTULO II

TABELA 1 - FREQUÊNCIAS OBSERVADAS (EM PORCENTAGEM) NO TOTAL DE EQUINOS AMOSTRADOS E PARA OS DIFERENTES PARÂMETROS, CENTRO DE TREINAMENTO, RAÇAS E SEXO E SEUS RESPECTIVOS DESVIOS 71

CAPÍTULO II

TABELA 1 - LARVAS POR GRAMA DE RESÍDUO NO INÍCIO E FINAL NA PARTE CENTRAL E SUPERFICIAL DOS TRATAMENTOS. 86

LISTA DE ABREVIações, SIGLAS E UNIDADES

BH - Brasileiro de Hipismo

cm - Centímetro

CAM - Compostagem aberta em maior volume

CAm - Compostagem aberta menor volume

CASRM - Compostagem aberta sem revolvimento em maior volume

CASRm - Compostagem aberta sem revolvimento em menor

CF - Compostagem anaeróbica em biodigestor

CT 1 - Centro de treinamento 1

CT 2 - Centro de treinamento 2

°C - Grau Celsius

ETARs - Estações de tratamento de águas residuais

h - Horas

IMS-IF - Separação imunomagnética e imunofluorescência

JCSM - Jockey Clube de Santa Maria

PCR - Reação em cadeia da polimerase

ph - Pontencial Hidrogênico

spp. - Espécies

Kg - Quilograma

LGF - Larvas por grama de resíduo

L1 - Larva de primeiro estágio

L2 - Larva de segundo estágio

L3 - Larva de terceiro estágio

L - Litro

Log₁₀ - Logarítimo na base 10

m - Metros

µm - Micromêtro

µl - Microlitro

mm - Milímitro

N - Número

OMS - Organização Mundial da Saúde

O.P.G - Ovos por grama

P - Peso

p - Probabilidade

PSI - Puro Sangue Inglês

RPMon - Regimento da Polícia Montada Coronel Dulcídio

Sanepar - Saneamento do Paraná

SRD - Sem Raça Definida

UFCg⁻¹ - Unidade formadora de colônia por grama

VRGB - Ágar Cristal Violeta Vermelho Neutro Bile Glicose

V - Volume

CARACTERIZAÇÃO E TRATAMENTO DE DEJETOS DE EQUINOS PARA A REDUÇÃO DE PATÓGENOS NO AMBIENTE

(*Characterization and waste treatment of horses for reducing pathogens in the environment*)

RESUMO

A contaminação ambiental por dejetos de animais de sangue quente constitui um dos maiores problemas relacionados à poluição fecal de rios, lagos e mananciais, afetando igualmente tanto áreas rurais quanto urbanas. Tendo em vista a importância de doenças de caráter zoonótico e do manejo correto dos resíduos orgânicos de origem animal, foi conduzida uma pesquisa sobre a prevalência de *Cryptosporidium* spp. em dois centros de treinamento de equinos no município de Curitiba, Paraná e a caracterização de processos de compostagem de resíduos de cocheira para avaliar a eficiência na redução ou eliminação de microrganismos patogênicos. Foram analisados 108 cavalos sendo 48 procedentes do Centro de Treinamento 1 e 60 do Centro de Treinamento 2. A metodologia utilizada para a confirmação da presença de oocistos de *Cryptosporidium* spp. foi a técnica de Ziehl-Neelsen modificada, 1981. A prevalência encontrada foi de 18,52% para todas as amostras de fezes dos animais analisados. Comparando as prevalências encontradas nos dois centros de treinamento, o primeiro apresentou 4,16% e o segundo 30%. Ao caracterizarmos processos de compostagem de resíduos de cocheira foi avaliado a eficiência do mesmo na redução ou eliminação de ovos e larvas infectantes de *Strongylus* sp. e enterobactéria da Família *Enterobacteriaceae*. Os tratamentos utilizados foram compostagem aberta sem revolvimento em menor volume (CASRm) e em maior volume (CASRM), compostagem aberta com revolvimento em menor volume (CAm) e em maior volume (CAM) e compostagem anaeróbica em biodigestor (CF), em três repetições. As temperaturas no centro das CASRM e CAM atingiram seu máximo no primeiro dia de avaliação, próximas a 60°C e permaneceram superiores a 50°C somente nos três primeiros dias e no restante do período experimental, se manteve próximo dos 30°C. Nos demais tratamentos, a temperatura permaneceu entre os valores de 30 e 30,4°C, caído para temperaturas próximas do ambiental. Inicialmente o número de larvas na amostra foi de 25,3 larvas por grama de resíduo e a contagem bacteriana foi de 8,04 Log₁₀(UFC). Após os tratamentos no final do experimento a redução das larvas infectantes de terceiro estágio na parte central das compostagens foram de 97% (CAM), 87% (CAm), 90% (CASRM) e 100% (CF), e de apenas 26% para o tratamento CASRm. A contagem de enterobactérias bacteriana nas partes internas e superficiais dos tratamentos CAM, CAm e CASRm tiveram uma diminuição de

1,61Log₁₀(UFCg⁻¹) e 0,24Log₁₀(UFCg⁻¹); 1,55Log₁₀(UFCg⁻¹) e 1,9Log₁₀UFCg⁻¹; 2,9 Log₁₀(UFCg⁻¹) e 4,74Log₁₀(UFCg⁻¹), porém a CASRM teve um aumento de e 0,86Log₁₀(UFCg⁻¹) na região superficial e uma diminuição de 0,24 Log₁₀(UFCg⁻¹) na parte interna. Os resultados indicam que a simples disposição dos resíduos de coqueira sem manejo adequado e em pequenos volumes, não há eliminação total de ovos e larvas de parasitas e enterobactérias.

Palavras-chaves: compostagem, ambiente, criptosporidiose, enterobactérias, *Strongylus* sp., temperatura

ABSTRAT

Environmental contamination by waste from warm-blooded animals is one of the biggest problems related to fecal pollution of rivers, lakes and fountains, also affecting both rural and urban areas. Given the importance of managing correct of organic waste of animal origin, we conducted a survey on the prevalence of *Cryptosporidium* spp. two training centers in the city of horses of Curitiba, Paraná and characterization of composting processes of waste of stable for evaluating the efficiency in reduction or elimination of pathogenic microorganisms. Were analysed 108 horses of which 48 coming from the Training Center 1 and 60 Training Center 2. The methodology used to confirm the presence of *Cryptosporidium* sp. was the Ziehl-Neelsen modified, 1981. The prevalence was 18.52% for all samples of faeces of the animals examined. Comparing the prevalence found in the two training centers, 4.16% had the first and the second 30%. Characterize the processes of waste composting barn and assess the efficiency for the reduction or elimination of eggs and infective larvae of *Strongylus* sp and Enterobacter the Family *Enterobacteriaceae*. The treatments were: opened composting without revolving in a smaller volume (CASRm) and in larger volume (CASRM), opened composting with revolving in a smaller volume (CAm) and in larger volume (CAM), and composting anaerobic in biodigester (CF), and the latter not used for the bacterial count, in three replicates in three replicates. The parameters monitored were temperature, moisture and control parasites by stool coproculture, in the beginning and the end of the experimental period and during the revolving of CAm and CAM. Temperature at the center of CAM and CASRM reached a maximum on the first day, approximately 60 °C, remaining over 50 °C only in the first three days. In the others treatments the maximum temperature was between 30 °C. Initially the number of larvae in the sample was 25.3 larvae per gram of residue, and the bacterial count was 8.04 log₁₀ (CFU). After treatments at the end of the experiment to reduce the infective third stage larvae in the central part of the compost were 97% (CAM), 87% (CAm), 90% (CASRM) e 100% (CF), and only 26% for the treatment CASRm. The count enterobacter the internal parts and surface treatment of CAM, CAm and CASRm had a

decrease of $1.61 \log_{10} (\text{UFCg}^{-1})$ and $0.24 \log_{10} (\text{UFCg}^{-1})$, $1.55 \log_{10} (\text{UFCg}^{-1})$ and $1.9 \text{ Log}_{10}(\text{UFCg}^{-1})$, $2.9 \log_{10} (\text{UFCg}^{-1})$ and $4.74 \text{ Log}_{10} (\text{UFCg}^{-1})$, but the CASRM increased by $0.86 \text{ Log}_{10} (\text{UFCg}^{-1})$ in surface region and a decrease of $0.24 \text{ Log}_{10} (\text{UFCg}^{-1})$ on the inside. The results indicate that the simple provision of waste without stable and proper handling small volumes, there is total elimination of eggs and larvae of parasites and enterobacter.

Keywords: composting environment, cryptosporidiosis, enterobacter, Strongylus sp., temperature

CAPÍTULO I

REVISÃO DE LITERATURA - CARACTERIZAÇÃO DA COMPOSTAGEM E MICROORGANISMOS PATÓGENICOS DE COCHEIRA

1. INTRODUÇÃO

Um dos principais problemas da produção animal é o grande volume de resíduos orgânicos produzidos diariamente em áreas reduzidas, compostos principalmente por fezes, urina e pelo material utilizado nas camas dos animais. Quando dispostos de forma inadequada no meio ambiente, sem tratamento prévio, estes componentes trazem conseqüências indesejáveis como a contaminação de solos, rios, proliferação de insetos, roedores, além de prevalência de enfermidades nos animais e problemas relacionados à saúde pública.

De acordo com OLIVEIRA (1993), estes problemas ligados aos grandes sistemas de confinamento estão intimamente relacionados com o manejo do resíduo orgânico de origem animal e a incidência de infecções latentes aumenta quando a presença de animais infectados acaba eliminando o agente patogênico por meio da urina, fezes, sangue, saliva. Os microrganismos potencialmente presentes nestas secreções, muitos de natureza zoonótica, acumulam-se no piso das instalações, bem como bebedouros e cama, podendo infectar outros animais ou humanos. Dependendo das condições e da sobrevivência do patógeno nas fezes contaminadas dos animais, estes resíduos são uma importante fonte de reinfecção tanto para o homem quanto para o rebanho.

Portanto a presença constante de ovos, larvas e oocistos de helmintos e protozoários, além das bactérias nos dejetos dos animais interfere no desenvolvimento pleno da atividade pecuária, sendo os helmintos gastrintestinais o de maior destaque (MACRAE, 1993). Os prejuízos causados

por esses patógenos estão relacionados ao retardo na produção, custos com tratamento profilático e curativo e em casos extremos, a morte dos animais. Quando relacionado à zoonose os principais agentes causadores de infecções nos humanos são encontrados na família *Enterobacteriaceae*, principalmente os gêneros: *Escherichia*, *Shigella*, *Salmonella*, *Enterobacter*, *Yersinia*, *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Serratia* e *Morganella* (MURRAY et al., 2000; TRABULSI et al., 2002)

Na tentativa de equacionar esses problemas, vários métodos de tratamento e disposição de resíduos orgânicos foram e vêm sendo pesquisados em todo o mundo (VERGNOX et al., 2009), destacando-se assim a compostagem. Este método objetiva a conversão do material orgânico que não se encontra em condições de ser incorporado ao solo, em um material admissível para que esta mistura possa ser realizada, assim como na destruição da viabilidade das sementes, de infestantes e de microrganismos patogênicos (HARUTA et al., 2005).

Tendo em vista a preocupação com a contaminação ambiental, sanidade animal e problemas relacionados à saúde pública, estudos foram realizados para determinar a prevalência de oocistos de *Cryptosporidium* sp. nas fezes de cavalos pertencentes a Centros de Treinamento e a eficiência da redução de ovos e larvas infectantes de *Strongylus* sp. e enterobactérias da família *Enterobacteriaceae* presentes nos resíduos de origem animal, bem como a viabilidade desses patógenos nos diferentes processos de tratamento dos dejetos.

2. Compostagem

A compostagem é uma das técnicas mais antigas empregada para o tratamento e reciclagem dos resíduos gerados na produção animal. De acordo com a Portaria nº 15/96 de 23 de Janeiro, na alínea i) do nº3 define-se compostagem como um “processo de reciclagem onde há degradação biológica aeróbia ou anaeróbia de resíduos orgânicos de modo a proceder à sua estabilização, produzindo uma substância húmica, utilizável em algumas circunstâncias como condicionador do solo” (BRASIL, 1996).

A decomposição da matéria orgânica aeróbio é realizado na presença de oxigênio livre e por microrganismos aeróbios, sendo caracterizado pela alta temperatura desenvolvida no composto, ausência de maus odores, menor tempo de degradação da matéria orgânica e reações de oxidação e oxigenação que se dão no processo, conduzindo o substrato a ter no final um índice pH maior que 7,0. O processo anaeróbio é realizado principalmente por bactérias que decompõem a matéria orgânica por fermentação, na ausência de oxigênio, sendo caracterizada pela baixa temperatura desenvolvida, produção de maus odores, reação de redução química que ocorrem na massa em fermentação, maior tempo de cura em relação ao processo aeróbio e pela tendência do composto se tornar ácido (KIEHL, 2004).

O sistema de compostagem aeróbio é o mais utilizado e recomendado, pois possibilita uma maior atividade microbiana, um maior grau de estabilização da matéria orgânica em menor tempo (KIEHL, 2001), além de proporcionar melhores condições estéticas e de saúde pública (KIEHL, 1985).

De acordo com DIAZ, et al. (1993) a disponibilidade de oxigênio, umidade, temperatura, pH, composição dos resíduos são aspectos determinantes e essenciais para a performance da compostagem, assim como os nutrientes, como carbono (principal fonte de energia) e nitrogênio (necessário para a síntese celular), são fundamentais ao crescimento bacteriano.

2.1. Aeração

A aeração é o fator mais importante a ser considerado no processo de decomposição da matéria orgânica (PEIXOTO, 1981), sendo necessária a criação de condições favoráveis para o crescimento e para o metabolismo dos microrganismos responsáveis pela estabilização da matéria orgânica. O oxigênio presente no meio irá atuar de modo determinante na velocidade de decomposição da matéria orgânica, sendo que a aeração depende da granulometria e da umidade dos resíduos. A falta deste elemento pode se tornar em fator limitante para a atividade microbiana e prolongar o ciclo de compostagem (KIEHL, 2004). Desta forma, COSTA (2005) afirma que a intensificação dos revolvimentos nas leiras diminui o tempo de compostagem.

A eficiência dos processos aeróbios sobre os anaeróbios na estabilização de resíduos orgânicos vem cientificamente sendo comprovada, onde se conclui que o consumo máximo de oxigênio ocorre quando a temperatura da pilha está em torno de 55°C, fase em que se torna necessário revolvimento das leiras e/ou leiras com injeção de ar.

2.2. Temperatura

A montagem das pilhas de compostagem tem como principal objetivo o aquecimento da massa, permitindo que o calor gerado na degradação da matéria orgânica não se dissipe, atuando positivamente no desenvolvimento da microflora termofílica e na eliminação de patógenos, sementes de plantas daninhas e possíveis substâncias fitotóxicas. Quando se processa a compostagem em montes, com massas que são bons isolantes térmicos, o calor produzido se acumula e a temperatura atinge valores elevados, podendo chegar até 80° C (AMORIM et al., 2004).

Os componentes orgânicos biodegradáveis passam por etapas sucessivas de transformação sob a ação de diversos grupos de microrganismos, resultando num processo bioquímico altamente complexo. Na medida em que o processo de compostagem se inicia, há proliferação de populações complexas de diversos grupos de microrganismos (bactérias, fungos, actinomicetos), que vão se sucedendo de acordo com as características do meio. De acordo com suas temperaturas ótimas, estes microrganismos são classificados em psicrófilos (0 – 20 °C), mesófilos (15 – 43 °C) e termófilos (40 - 85 °C) (PROSAB, 1999).

Para melhor compreensão da variação da temperatura na compostagem, foi identificadas quatro importantes fases da temperatura durante o processo (BERNAL et al., 1998; TRAUTMANN e OLYNCIW, 2005):

- 1ª) Fase mesofílica: é a fase em que predominam temperaturas moderadas, até cerca de 40 °C. Tem duração média de dois a cinco dias.
- 2ª) Fase termofílica: quando o material atinge sua temperatura máxima (> 40 °C) e é degradado mais rapidamente. Esta fase pode ter a duração de poucos

dias a vários meses, de acordo com as características do material sendo compostado.

3ª) Fase de resfriamento: é marcada pela queda da temperatura para valores da temperatura ambiente.

4ª) Fase da maturação: é o período de estabilização que produz um composto maturado, altamente estabilizado e humificado, livre de toxicidade.

A temperatura constitui-se num dos fatores mais indicativos da eficiência do processo sendo o ideal 55 °C, devendo evitar temperaturas acima de 65 °C por causarem eliminação dos microorganismos mineralizadores responsáveis pela degradação dos resíduos orgânicos (FIALHO et al., 2005; PEREIRA NETO, 2007).

Temperaturas acima de 60 °C afetam a taxa de decomposição da matéria orgânica dos resíduos como um resultado da diminuição da atividade microbiana (HASSEN et al., 2001). As temperaturas acima de 70 °C por longo período restringem a ação dos organismos mais sensíveis, insolubiliza proteínas hidrossolúveis, provoca alterações químicas indesejáveis e desprendimento de amônia, se o material possuir baixa relação C/N (KIEHL, 2004).

Assim, a capacidade de sanitização do processo de compostagem está relacionada às várias reações biológicas que são dependentes dos valores de temperaturas encontrados nas pilhas, valores acima de 55 °C para máxima sanitização, entre 45 e 55 °C para melhorar a taxa de degradação e entre 35 e 40 °C para aumentar a diversidade microbiana (BUSTAMENTE et al., 2008).

2.3.Umidade

A presença da água no decorrer da compostagem é fundamental para as necessidades fisiológicas dos organismos. A matéria orgânica destinada à composição deve possuir uma umidade em torno de 50%, sendo os limites máximos e mínimos iguais a 60 e 40 %, respectivamente (AMORIM et al., 2004).

Se a umidade for baixa, a atividade microbiana fica comprometida e se for alta, a decomposição é mais lenta, a oxigenação é prejudicada e ocorre a anaerobiose. Neste último caso há a geração de um líquido escuro, de odor desagradável, denominado chorume ou sumeiro (BRASIL, 2004; FIALHO et al., 2005; RIHANI et al., 2010). Assim, o controle do excesso de umidade é importantíssimo para evitar a anaerobiose.

No caso de matéria-prima com teor de umidade alto, sugere-se adicionar um material que absorva esse excesso. No caso de matéria-prima de baixo teor de umidade é só adicionar água ou outro resíduo orgânico com elevado teor de umidade (PEREIRA NETO, 2007). Na fase final da compostagem a quantidade de água decresce, o que reduz a intensa atividade microbiológica e ao mesmo tempo, diminui os custos de transporte de composto maturado (RIHANI et al., 2010).

2.4. pH

A faixa de pH considerada ótima para o desenvolvimento dos microrganismos responsáveis pela compostagem situa-se entre 5,5 e 8,5, uma vez que a maioria das enzimas encontram-se ativas nesta faixa de pH (RODRIGUES et al., 2006). Porém, PEREIRA NETO (2007) afirma que a

compostagem pode ser desenvolvida em uma faixa de pH entre 4,5 e 9,5, sendo que os valores extremos são automaticamente regulados pelos microrganismos, por meio da degradação dos compostos, que produzem subprodutos ácidos ou básicos, conforme a necessidade do meio. No entanto, PRIMAVESI (1981) afirma que as alterações do pH podem ativar ou quase inativar as enzimas presentes nos microrganismos.

2.5. Microrganismos patogênicos

Resíduos sólidos orgânicos que servem de matéria-prima para compostagem, podem ser portadores de organismos patogênicos danosos não somente para plantas quanto para o homem e animais. A ausência de microrganismos patogênicos no composto final é extremamente importante, uma vez que este vai ser utilizado em aplicações nas quais as pessoas estarão diretamente expostas. A sobrevivência de patógenos nestes compostos é influenciada por diversos fatores, como temperatura, pH, umidade, salinidade, condições do solo, competição com outros microrganismos.

O tempo de sobrevivência de patógenos no solo como bactérias e vírus, pode variar de alguns dias a um ano, no caso dos ovos de helmintos são os que mais persistem no solo podendo permanecer viáveis por um período de 7 anos (USEPA, 2005), indicando, desta forma, que é o microrganismo patogênico que requer maior preocupação quando se utiliza biossólidos na agricultura, pois, segundo BONNET, LARA e DOMASZAK (2000), basta apenas um ovo de helminto para infectar um hospedeiro, em contrapartida os demais grupos de patógenos que necessitam de uma dose mínima infectiva

para causar doença, de acordo com a virulência da cepa e a resistência imunológica de indivíduos sadios.

Altas temperaturas por um curto espaço de tempo, ou baixas temperaturas por longo período, são igualmente eficientes na eliminação dos microrganismos patogênicos nos resíduos orgânicos. De acordo com HAUG (1980), temperaturas entre 55 °C e 60 °C por um dia ou dois são letais para todos os vírus patogênicos, bactérias, protozoários (inclusive cistos) e ovos de helmintos.

Na tabela 1 é possível verificar as temperaturas letais e os tempos de exposição necessários para a esterilização de alguns microrganismos patogênicos encontrados em resíduos orgânicos.

Tabela 1 - Tempos e temperaturas necessárias para destruição de patógenos em biossólidos.

Organismo	Tempo de exposição (em minutos) para a destruição de patógenos a várias temperaturas				
	50 °C	55 °C	60 °C	65 °C	70 °C
Entamoeba histolícia	5				
Ovos de Ascaris lumbricóides	60	7			
<i>Brucella abortus</i>		60	3		
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>		45			4
<i>Salmonella typhi</i>			30		4
<i>Escherichia coli</i>			60		5
<i>Micrococcus pyogenes</i> var. <i>aureus</i>					20
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>					20
<i>Shigella</i> sp.	60				
<i>Mycobacterium diphtheria</i>	45				
<i>Necator americanus</i>	50				
<i>Taenia saginata</i>					5
Vírus					25

Fonte: Stern, (1974), citado por Epstein (1998)

2.5.1 Enterobactérias

As enterobactérias pertencentes à família *Enterobacteriaceae* se apresentam em forma de bacilos Gram-negativos, medindo em geral 0,3-1,8µm. Estes microrganismos podem ser imóveis ou móveis. Deste último são por meio de flagelos peritríquios, ou são imóveis. São anaeróbios facultativos e quimioorganotróficos, tendo tanto o metabolismo aeróbico como o fermentativo. A maioria das espécies se desenvolve bem a temperatura de 37°C, entretanto algumas têm temperatura ótima entre 25 e 30°C e são frequentemente mais ativas metabolicamente a estas temperaturas (HOLT et al. 1994). Existem cerca de 28 gêneros e mais de 80 espécies de bactérias da família *Enterobacteriaceae*, sem incluir ainda o grande número de sorotipos de *Salmonella* (QUINN et al., 1994).

Com distribuição mundial, são encontradas no solo, na água, frutas, vegetais, grãos, flores, árvores e em animais, desde insetos ao homem. Há uma grande heterogeneidade na ecologia e hospedeiros, sendo potencialmente patogênicas para os seres humanos, animais e insetos. Inúmeras espécies causam doenças diarréicas incluindo febre tifóide e disenteria bacilar. Muitas espécies que não estão associadas com doenças diarréicas são frequentemente referenciadas como patógenos oportunistas. Muitas destas espécies assim como as que causam doenças diarréicas podem causar uma variedade de infecções extraintestinais incluindo bacteremia, meningite, feridas e infecções do trato respiratório e urinário (HOLT et al., 1994). A maioria dessas bactérias habitam os intestinos do homem e dos animais, seja como membros da microbiota normal ou como agentes infecciosos (TRABULSI e CAMPOS, 2002).

A presença de enterobactérias é frequentemente usada como indicador para possível contaminação fecal decorrente de inadequado processamento ou contaminação pós-processamento de alimentos e também da água (TORNADIJO et al., 2001). Muitos microrganismos desta família são de importância para a saúde pública. Dentre estes, destaca-se os tipicamente enteropatogênicos ao homem (*Salmonella* e *Shigella*) e outros que apresentam apenas alguns sorotipos enteropatogênicos como é o caso do gênero *Escherichia*, *Edwardsiella*, *Klebsiella*, *Proteus* e *Yersinia* (HOLT et al., 1994).

Segundo QUINN et al. (1994) a família *Enterobacteriaceae* pode ser dividida em três grupos baseados na sua patogenicidade para os animais:

- Patogenicidade incerta, onde estão incluídas espécies de 17 gêneros de enterobactérias. Neste grupo estão incluídas a *Cedecea* sp., *Enterobacter agglomerans*, *Providencia* sp, entre outras.
- Patógenos oportunistas que ocasionalmente causam infecções em animais, onde estão incluídas espécies dos gêneros *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Serratia*, *Edwardsiella*, *Citrobacter*, *Morganella* e *Shigella*.
- Grande patogenicidade para animais, tais como *Salmonella* sp., *Escherichia coli* e três espécies de *Yersinia*.

A sobrevivência das enterobacterias no ambiente varia muito e os principais fatores que podem interferir são as condições ambientais tais como o estresse hídrico e potencial osmótico, temperatura, radiação Ultra Violeta (UV), pH, amônia orgânica e inorgânica além da predação, competição e presença de nutrientes (JAMIESON et al., 2002; FERGUSON et al., 2003).

Em ambientes ricos em nutrientes, como as fezes dos animais, podem oferecer proteção contra agressões ambientais como a radiação solar UV,

dessecação e variações de temperatura, promovendo dessa forma a sobrevivência ou mesmo a propagação de agentes de potencial zoonótico. Isso pode ser agravado quando as temperaturas são baixas, a umidade continua ótima e a aeração utilizada principalmente na compostagem com resíduos de origem animal não é usada (USEPA, 2005).

Várias pesquisas nesta área têm sido desenvolvidas para mostrar o tempo de sobrevivência de agentes patogênicos nos dejetos dos animais, o modo de disseminação no campo, assim como os tratamentos utilizados para diminuir ou eliminar completamente esses agentes.

3. *Cryptosporidium* sp.

O primeiro relato de infecção por parasita do gênero *Cryptosporidium* foi feito por Ernest Edward Tyzzer, em 1907, que descreveu o parasita em glândulas gástricas de camundongos, denominando-o *Cryptosporidium muris*. Em 1912, o mesmo pesquisador identificou uma segunda espécie, *C. parvum*, cujos oocistos eram menores do que os do *C. muris* (FAYER, 1997).

Atualmente o *C. parvum* é reconhecido entre as espécies de *Cryptosporidium* como sendo responsável pela criptosporidiose nos humanos e nos animais, podendo a doença manter-se a um nível endêmico ou emergir em surtos epidêmicos (SMITH e ROSE, 1990).

Classificado como organismo protista, este protozoário pertencente ao Filo Apicomplexa, Classe Esporozoasida, Subclasse Coccidiasina, Ordem Eucoccidiorida, Subordem Eimeriorina, Família Cryptosporiidae, Gênero *Cryptosporidium* (LEVINE, 1984). De acordo com XIAO e FAYER, (2008) atualmente este gênero tem 21 espécies e aproximadamente 40 genótipos, sendo que numerosos vertebrados, tais como mamíferos, aves, répteis, peixes e anfíbios, são hospedeiros (Tabela 2).

Para considerar válida uma espécie de *Cryptosporidium* sp. são necessárias seguir algumas normas como: informação dos dados morfométricos dos oocistos, dos estágios de desenvolvimento, da caracterização genética, da identificação de hospedeiros infectados natural e experimentalmente (XIAO et al., 2000; FAYER, 2010). De acordo com a tabela 2 são descritos às principais espécies e hospedeiros do *Cryptosporidium* sp.

Tabela 2 – Espécies de *Cryptosporidium* e principais hospedeiros.

Espécies de <i>Cryptosporidium</i>	Principais hospedeiros
<i>Cryptosporidium andersoni</i>	Bovinos, camelos (Lindsay et al., 2000)
<i>Cryptosporidium baileyi</i>	Aves (Current et al., 1986)
<i>Cryptosporidium bovis</i>	Bovinos (Fayer et al., 2005)
<i>Cryptosporidium canis</i>	Cães (Fayer et al., 2001)
<i>Cryptosporidium fayeri</i>	Canguru vermelho (Ryan et al., 2008)
<i>Cryptosporidium fragile</i>	Anfíbios (Jirku et al., 2008)
<i>Cryptosporidium felis</i>	Gatos (Iseki, 1979)
<i>Cryptosporidium galli</i>	Aves (Pavlasek, 1999)
<i>Cryptosporidium hominis</i>	Humanos, macacos (Morgan-Ryan et al., 2002)
<i>Cryptosporidium macropodum</i>	Canguru cinza (Power e Ryan, 2008)
<i>Cryptosporidium meleagridis</i>	Perus, humanos (Slavin, 1955)
<i>Cryptosporidium molnari</i>	Peixes (Alvarez-Pellitero e Sitjà-Bobadilla, 2002)
<i>Cryptosporidium muris</i>	Roedores (Tyzzer, 1910)
<i>Cryptosporidium parvum</i>	Bovinos, outros ruminantes, humanos (Tyzzer, 1912)
<i>Cryptosporidium ryanae</i>	Bovinos (Fayer et al., 2008)
<i>Cryptosporidium scophthalmi</i>	Peixes (Alvarez-Pellitero et al., 2004)
<i>Cryptosporidium serpentis</i>	Serpentes (Levine, 1980; Brownstein et al., 1977)
<i>Cryptosporidium suis</i>	Suínos (Ryan et al., 2004)
<i>Cryptosporidium varanii</i>	Lagarto-monitor (Pavlasek et al., 1995)
<i>Cryptosporidium xiaoi</i>	Ovinos (Fayer e Santín, 2009)
<i>Cryptosporidium wrairi</i>	Porquinho-da-índia (Vetterling et al., 1971)

Fonte: Fayer (2009) e Fayer e Santín (2009)

O parasito possui diversas formas dependendo da fase do ciclo biológico. Os oocistos, formas de resistência, são esféricos ou elípticos, com parede lisa e dupla, e medem de 3,0 a 8,5 µm de diâmetro. Os oocistos maduros contêm quatro esporozoítos não inclusos em um esporocisto e esta configuração estrutural única estabelece a principal característica taxonômica para identificação do gênero. Existem dois tipos de oocistos: os de parede espessa e resistentes (80%) são eliminados nas fezes, são responsáveis pela

transmissão entre os hospedeiros e os de parede delgada (20%), liberam os seus esporozoítos no intestino, causando auto-infecção interna (AKIYOSHI et al., 2003).

Todos os estágios de desenvolvimento (assexual e sexual) deste protozoário ocorrem no interior de um único hospedeiro (AMARANTE, 1992; O'DONOGHUE, 1995). O início do ciclo biológico ocorre com a ingestão dos oocistos viáveis presentes na água ou alimentos contaminados, bem como nas fezes de animais e pessoas infectadas. Em decorrência de fatores como temperatura, enzimas pancreáticas, condições redutoras, dióxido de carbono, e sais biliares ocorre o rompimento da parede dos oocistos no intestino delgado, possibilitando a liberação dos esporozoítos infectantes (SMITH e ROSE, 1998). Estes penetram na microvilosidades da célula epitelial do intestino delgado, formando um vacúolo parasitóforo de localização intracelular extracitoplasmática (PEREIRA, 2007).

Após o desenvolvimento assexual e sexual nas células epiteliais adjacentes o oocisto esporulado é liberado do vacúolo parasitóforo e eliminado nas fezes, constituindo a forma exógena infectante (AMARANTE, 1992).

3.1. Epidemiologia

Vários são os fatores que influenciam a epidemiologia desse protozoário: tamanho reduzido e variado dos oocistos que permite sua passagem por filtros usualmente empregados nos processos de tratamento de água, baixas doses infectantes, oocistos esporulados já infectantes quando eliminados com as fezes, tanto seres humanos como animais se apresentarem como reservatórios

de infecção (SMITH et al., 2006) e sua resistência a diferentes produtos químicos usados no processo de tratamento de água (PEREIRA et al., 2008).

A transmissão direta (contato com pessoas ou animais infectados) ou indireta (ingestão de água contaminada e de alimentos contaminados, inalação dos oocistos) é favorecida por densidade populacional alta (CACCIÒ et al., 2005). O emprego de fezes de animais como adubo orgânico em culturas vegetais pode causar infecção direta pela formação de aerossóis ou contaminar águas superficiais e subterrâneas. A ingestão de água contaminada mostra-se a principal via de infecção humana (FAYER et al., 2000). Pelo menos 165 surtos epidêmicos foram registrados nos últimos anos por consumo de água contaminada com *C. parvum* (KARANIS et al., 2007).

O parasito tem distribuição mundial e pode ser encontrado tanto em países desenvolvidos como em desenvolvimento. Anualmente ocorrem de 250 a 500 milhões de casos de infecção por *Cryptosporidium* sp. na Ásia, África e América Latina. Relatos evidenciam que o parasito está presente em 80 a 97% das águas superficiais e em 26 a 54% das águas tratadas (SMITH e ROSE, 1998; LUNA et al., 2002).

No Brasil, durante muito tempo os estudos sobre *Cryptosporidium* sp. e criptosporidiose relacionavam-se a levantamentos epidemiológicos em algumas regiões do país. Atualmente já existem investigações realizadas em praticamente todas as regiões, e muitas delas incluem caracterização genotípica e seqüenciamento.

A criptosporidiose na produção animal, GOMES et al. (2008) encontraram uma prevalência de 75% em cavalos, no Jockey Clube de Santa Maria JCSM), no estado do Rio Grande do Sul. TOSCAN et al. (2010),

constataram a presença deste mesmo parasita em 80,8% das amostras das fezes analisadas também do JCSM. Prevalências altas (de 17% até 100%) foram relatadas no Canadá e EUA por COLEMAN et al. (1989) e OLSON et al. (1997).

QUADROS (2002) estimou média de 17% dos bovinos analisados como positivos para *Cryptosporidium* sp., em propriedades de Lages (Santa Catarina). Em um estudo na Malásia, FARIZAWATI et al. (2005) encontraram 98% de positividade para *Cryptosporidium* sp. em amostras de esgoto oriundo de bovinos, com concentrações entre 20 e $3,1 \times 10^3$ oocistos/mL. Na pesquisa de COKLIN et al. (2007), realizada com bovinos de Ontário (Canadá), houve incidência de 27,3% de *Cryptosporidium* sp., destes, 21,7% eram *C. parvum*, representando potencial zoonótico. CASTRO-HERMIDA et al. (2007) conduziram um estudo com ruminantes adultos na Galícia (noroeste da Espanha) e detectaram oocistos de *Cryptosporidium* sp. em 8,4% dos bovinos, 5,3% dos ovinos e 7,7% dos caprinos.

BROOK et al. (2008) confirmaram 28% de bezerros infectados por *Cryptosporidium*, num estudo em fazendas de Cheshire (nordeste da Inglaterra). THOMAZ et al. (2007) efetuaram exame genotípico de *Cryptosporidium* em gatos, cães e bovinos, no estado de São Paulo. Verificaram que todos os gatos se encontravam infectados por *C. felis* e todos os cães por *C. canis*. Nos bovinos a prevalência da espécie *C. parvum* foi de 88,88%.

Com relação à presença de oocistos de *Cryptosporidium* sp. no ambiente, GAMBA et al. (2000) apontaram a contaminação de águas superficiais em oito de dez pontos examinados no município de

Itaquaquecetuba (São Paulo). FRANCO et al. (2001), em pesquisa de oocistos em águas superficiais do rio Atibaia, assinalaram a presença deles durante três semanas consecutivas. No município de Campinas, o protozoário foi observado em água mineral de marcas conhecidas no mercado (0,2 oocistos/L a 0,5 oocistos/L) (FRANCO e CANTUSIO NETO, 2002). HELLER et al. (2004) evidenciaram a presença de *Cryptosporidium* sp. em água de mananciais, em concentrações elevadas, com 510 oocistos/L. A taxa média foi de 6 a 20 oocistos/L. Em efluentes de estações de tratamento de água, os autores detectaram quantidades de oocistos de *Cryptosporidium* superiores às citadas na Europa. IACOVSKI et al. (2004) averiguaram amostras de lodo de esgoto da Estação de Tratamento de Esgoto de Florianópolis (Santa Catarina), mediante técnicas de separação imunomagnética e imunofluorescência (IMS-IF): das 27 amostras coletadas, 74,07% possuíam *Cryptosporidium* sp. ARAÚJO (2008) analisou 30 amostras de água oriundas do estado de São Paulo em 2006 e achou *Cryptosporidium* em 30% delas

3.2. Sobrevivência

Os protozoários de veiculação hídrica têm como característica comum resistir por meses no ambiente externo, especialmente na água. No ambiente, os oocistos de *Cryptosporidium* sp. podem sobreviver por até um ano a 4°C (TAMBURRINI et al., 1999), na água permanecem viáveis por até 176 dias, em água do mar por 35 dias e em fezes sobrevivem 130 dias. Com congelamento a - 22°C uma pequena proporção de oocistos ainda resisti por 775 horas. A dessecação é o único fator que realmente afeta a sobrevivência deles. Com 4 horas de dessecação 100% dos oocistos morrem (ROBERTSON et al., 1992).

A irradiação solar também representa um importante fator na inativação de oocistos de *Cryptosporidium* sp. (KING et al., 2008).

3.3. Patogenia e sinais clínicos

A patogenia causada por *Cryptosporidium* resulta da invasão e destruição dos enterócitos pelos parasitos, levando a atrofia das vilosidades em graus variados, hiperplasia das células da cripta intestinal, infiltração de células inflamatórias na lamina própria e diminuição das microvilosidades. O local principal de instalação é o intestino delgado, embora o parasito possa ser difundido por todo o trato gastrintestinal e locais extra-intestinais (CHALMERS e DAVIES, 2010).

A criptosporidiose normalmente é uma doença de remissão espontânea em adultos sadios, mas, extremamente grave, em grupos mais vulneráveis, como crianças, idosos e imunodeprimidos, ou seja, pacientes submetidos a transplantes, sob tratamento para certos tipos de câncer e principalmente aqueles portadores da síndrome da imunodeficiência adquirida (SIDA), com o agravante de não se conhecer tratamento efetivo (HACHICH et al., 2000).

O aspecto mais comum de criptosporidiose em mamíferos é a diarréia aquosa profusa que algumas vezes parece amarelo-palha na coloração e pode ter um odor ofensivo (O'DONOGHUE, 1995). Outros sinais clínicos observados incluem desidratação, má-absorção, febre, anorexia, perda de peso, fraqueza, depressão, sonolência e algumas vezes distensão abdominal. A maioria dos animais exhibe recuperação espontânea dentro de uma a duas semanas de infecção, mas mortalidades significativas podem ocorrer em animais jovens.

Em animais imunossuprimidos ou imunodeficientes infecções graves têm sido detectadas, podendo ocorrer definhamento e morte (O'DONOGHUE, 1995).

3.4. Diagnóstico

A cryptosporidiose não pode ser clinicamente distinguida de outras diarreias causadas por numerosos outros organismos patogênicos, portanto o diagnóstico mais comumente usado é o exame de fezes para a detecção dos oocistos utilizando a coloração de Giemsa ou uma de suas variações (verde-malaquita, metenamina de prata e nicrosina), por ser de rápida realização, fácil e pouco dispendiosa (ANDRADE NETO e ASSEF, 1996). Para determinar a espécie de *Cryptosporidium* sp. envolvida, o uso da reação em cadeia da polimerase (PCR) torna-se necessária. Se o objetivo é saber se o hospedeiro alguma vez foi exposto ao protozoário, então métodos sorológicos podem ser empregados (HUBER, 2007).

3.5. Profilaxia

Devido à limitada disponibilidade de drogas e a pouca eficácia destas contra a criptosporidiose, medidas higiênico-sanitárias e um manejo adequado são as melhores formas de combate à doença (GRAAF et al., 1999).

Na produção animal, deve-se ser realizado a destinação e tratamento adequado dos resíduos, evitando depositar próximo de rios e mananciais. Controle de roedores, limpeza e desinfecção periódica do ambiente, incluindo bebedoures e comedouros. Desinfecção e esterilização dos materiais. Animais infectados devem ser mantidos em ambientes isolados dos demais animais saudáveis e utilização de vestuários adequados.

É necessário avaliar a eficiência do processo de tratamento das águas destinadas ao consumo na remoção dos oocistos e prevenir a minimização do eventual papel do esgoto tratado como origem de contaminação oocística (MAYER e PALMER, 1996).

4. *Strongylus* sp.

Uma das grandes preocupações relacionadas à saúde animal é controle das enfermidades, dentre elas as verminoses que acometem os eqüinos. A alta incidência de infecções parasitárias é favorecida pelo manejo desses animais. A fauna parasitária nesta espécie compreende várias famílias/gêneros distintas, entre elas, podemos citar os Grandes Estrongilídeos (*Strongylus vulgaris*, *S. equinus*, *S. edentatus*), *Parascaris equorum*, *Oxyuris equi*, *Strongyloides westeri* e *Anoplocephala* sp. e os Pequenos Estrongilídeos (*Cyathostomum* sp., *Triodontophorus* sp., *Cylicostephanus* sp.) (MOLENTO, 2005). Tais parasitas constituem um dos sérios fatores que interferem no desenvolvimento da atividade pecuária, sendo que alguns dos prejuízos estão relacionados ao retardo da produção, custos com tratamentos e até mesmo a morte do animal.

4.1. Classificação Biológica

Os nematódeos que podem parasitar os cavalos pertencem a 7 subordens, 12 famílias, 29 gêneros e 83 espécies. A grande maioria (19 gêneros e 64 espécies) são membros da família Strongylidae Baird, 1853, a qual engloba o mais comum e o mais patogênico parasita de cavalos. Os membros da família Strongylidae encontram-se dividida em duas subfamílias: Strongylinae Railliet, 1885 e Cyathostominae Nicoli, 1927 (LICHTENFELS et al., 2008).

4.2. Características Morfológicas

Subfamília Strongylinae Railliet, 1885

Esta subfamília é constituída por 14 espécies, organizadas em 5 gêneros (LICHTENFELS et al., 2008). O gênero *Strongylus* Müller, 1780, contém 3 espécies importantes.

Strongylus vulgaris (Looss, 1900) Railliet e Henry, 1909

Morfologicamente, o *Strongylus vulgaris* tem o corpo retilíneo, é de cor cinza escuro, apresenta dois grandes dentes com ápice arredondado, os machos variam de 12 a 16 mm e as fêmeas de 20 a 25 mm (FORTES, 2004) e distingue-se por possuir uma cápsula bucal com um par de dentes arredondados no seu fundo que se estendem aproximadamente até meio da cápsula bucal e por o lobo dorsal da bolsa copuladora ser mais comprido que os lobos laterais (TARAZONA VILAS et al., 1999; LICHTENFELS et al., 2008).

Este parasita é considerado o agente mais patogênico das helmintoses de equídeos, principalmente na sua forma imatura, em decorrência das lesões que causam no seu processo de migração pelo sistema arterial mesentérico, sendo responsáveis por quadro de cólica severo (DUNCAN e PIRIE et al. 1974; OGBOURNE et al. 1985).

Strongylus edentatus (Looss, 1900) Railliet & Henry, 1909

Os machos medem 22-26 mm e as fêmeas 32-43 mm. Tem como característica distinta das demais espécies do gênero *Strongylus* o fato de possuir uma cápsula bucal desprovida de dentes (TARAZONA VILAS et al.,

1999; LICHTENFELS et al., 2008). Apresentam o conduto dorsal bem desenvolvido (FORTES, 2004).

Strongylus equinus Müller, 1780

Os machos desta espécie medem 24-36 mm e as fêmeas 39-46 mm. Tem como característica única a existência no fundo da cápsula bucal de um grande dente dorsal bífido e dois dentes ventrais pontiagudos menores (TARAZONA VILAS et al., 1999; LICHTENFELS et al., 2008).

Subfamília Cyathostominae Nicoli, 1927

Os ciatostomíneos são compostos por 50 espécies válidas organizadas em 14 gêneros (LICHTENFELS et al., 2008). Apesar da existência destas inúmeras espécies apenas cerca de 10 são abundantes e reportadas regularmente, podendo constituir cerca de 90% do número total de adultos de ciatostomíneos presentes no lúmen intestinal (OGBOURNE, 1976; OGBOURNE, 1978; MATTHEWS et al., 2004). Apresentam cápsula bucal desenvolvida com coroa radiada, variando a quantidade de dentes de acordo com a espécie. A variação de tamanho é de 9 a 25 mm.

4.3. Ciclo Biológico

As espécies da família Strongylidae apresentam ciclo de vida direto, sem hospedeiro intermediário, com uma fase exógena (com estádios larvares de vida livre no ambiente), em que as condições ambientais para o desenvolvimento e sobrevivência das formas larvares livres são idênticas para as duas subfamílias, e com uma etapa endógena em que as larvas de

diferentes espécies realizam migrações larvares mais ou menos complexas no organismo dos hospedeiros (REINEMEYER, 2009).

O número de ovos viáveis é condicionado por diversos fatores, sendo a temperatura e a umidade os mais importantes, além da concentração de oxigênio, a luz solar, o tipo de cobertura vegetal, os predadores, os organismos coprófagos e todos os fatores bióticos e abióticos que possam estar presentes nas fezes dos eqüídeos (MADEIRA DE CARVALHO, 2003).

4.3.1 Ciclo de vida no exterior

4.3.1.1 Desenvolvimento dos estádios de vida livre

A fase pré-parasitária envolve período desenvolvimento no meio-ambiente, usualmente na pastagem. Após a ovopostura das fêmeas adultas no intestino grosso do hospedeiro, os ovos não embrionados, são eliminados para o exterior juntamente com as fezes. Estes ovos encontram-se rodeados por uma bainha quitinosa fina apresentando um formato elíptico e no seu interior está presente uma mórula com blastómeros de tamanho grande. Os ovos de ciatostomíneos, que constituem 75 a 100% dos ovos eliminados nas fezes em equinos naturalmente infectados (BOWMAN et al., 2003), são indistinguíveis dos produzidos pelos grandes estrogilídeos (MONAHAN, 2000).

No ambiente após o desenvolvimento embrionário e sob condições favoráveis de oxigênio, temperatura (considerada ótima próxima de 25°C) e umidade as larvas eclodem a partir dos ovos, liberando as larvas de primeiro estágio (L1) já nas primeiras 24 horas. Estes primeiros dois tipos de larvas pré-infectantes são rãbitiformes, possuindo um esôfago com uma parte anterior fusiforme, que se continua posteriormente por um bulbo. Ambas alimentam-se

de bactérias e protozoários fecais e substâncias presentes nas fezes (OGBOURNE, 1978; TARAZONA VILAS et al., 1999). Depois de uma segunda muda e ainda dependente dos fatores ambientais, as L2 transformam-se na forma infectante para os eqüídeos, as larvas no terceiro estágio (L3). Pode levar apenas uma semana, nestas condições, para os ovos se transformarem em L3.

Os ovos que passam nas fezes não são tão resistentes às influências do meio-ambiente. As L3 conservam a cutícula das L2 que funciona como bainha protetora. Esta promove uma proteção considerável contra as condições ambientais desfavoráveis como a dessecação, permitindo a permanência na pastagem por períodos prolongados (MONAHAN, 2000; NIELSEN et al., 2007; CORNING, 2009).

As larvas são móveis e apresenta geotropismo negativo, fototropismo positivo para luz de fraca intensidade e hidrotropismo positivo sobem na vegetação e aumentam as chances de ingestão na pastagem pelos eqüídeos. As L3 são infectantes apenas quando ingeridas pelos eqüídeos. No hospedeiro o ciclo biológico processa-se de maneira distinta nas espécies referidas e continua com a transformação para larvas de 4^o e 5^o estágio até chegar à formas adultas (LYONS et al., 1999).

4.3.2. Ciclo de vida no hospedeiro

Após o desenvolvimento das larvas infectantes no meio externo, o ciclo de vida dos estrogilídeos prossegue com a infecção dos eqüídeos através da ingestão das L3 (REINEMEYER, 2008). Após a ingestão, as L3 passam pelo

estômago e alcançam o lúmen do intestino delgado, onde perdem a bainha que as envolve desde a segunda muda (BOWMAN et al., 2003).

4.3.3. Sobrevivência nas fezes e pastagem

O desenvolvimento e a sobrevivência de larvas na pastagem e no bolo fecal dos animais são influenciados por fatores ambientais variando de uma área geográfica para outra, dependendo das condições e características dos locais. Em temperaturas baixas (7,5 – 10°C) o desenvolvimento de ovos e larvas é menor, aumentando a um ponto máximo em altas temperaturas (38°C), porém é posteriormente afetado de forma negativa ocorrendo a morte das larvas (STROMBERG, 2007). Este mesmo autor relata que é difícil avaliar os efeitos da temperatura sem levar em consideração a umidade, sendo importante, pois previne à dessecação e conseqüentemente a morte das larvas em desenvolvimento. Esta variável também exerce influencia na motilidade e movimentação das larvas pela pastagem, portanto, quando o meio ambiente é seco, a movimentação das larvas sobre a pastagem se torna quase impossível, forçando uma imigração para o solo logo abaixo da massa fecal. Para que ocorra o desenvolvimento larvar a umidade mínima deve ser de 30% (COUTO et al. 2008),

De acordo com NIELSEN et al. (2007) a faixa de temperatura ideal para o desenvolvimento de larvas de strongilídeos está entre 25-33°C. Nesta temperatura, as larvas podem atingir o estágio de L3 em três ou quatro dias, sendo 28°C a melhor temperatura para o desenvolvimento. A temperatura máxima para o desenvolvimento até o estágio de larva infectante é de 38°C, pois a 40°C foi relatada uma morte muito rápida dos ovos. A temperatura

mínima observada para a eclosão das larvas foi entre 7,5°C e 10°C, porém foi observado desenvolvimento nos ovos embrionados a temperatura inferior. Abaixo de 4°C o desenvolvimento dos ovos é interrompido.

Estudos realizados por ENGLISH (1979) sobre o desenvolvimento das larvas nas fezes durante todos os meses do ano mostraram que durante o verão as larvas de strongilídeos eclodiam em até dois dias. Durante o inverno, a eclosão das larvas levou até duas semanas. Nos meses mais quentes as larvas sofreram mudas muito rapidamente, observando que nesse período todas as larvas se tornaram infectantes em apenas sete dias e durante o inverno, este mesmo processo demorou até cinco semanas. Apesar de o desenvolvimento ser rápido durante o verão, a sobrevivência das larvas foi baixa (1-10%). A sobrevivência das larvas foi elevada durante os períodos de outono e inverno, sendo encontradas nas fezes por até 20 semanas, no verão essa período foi menor de apenas quatro semanas.

Em condições tropicais, BEZERRA et al. (2007) avaliaram a sobrevivência e a migração de larvas infectantes de eqüinos. A sobrevivência das L3 nas fezes variou de quatro a nove semanas durante o período chuvoso e oito a 15 semanas no período seco. Para gramíneas, a sobrevivência das larvas foi de duas a oito semanas no período chuvoso e de cinco a 13 semanas no período seco.

4.3.4. Sinais clínicos e laboratoriais

4.3.4.1. Subfamília Strongylinae

As infecções por strongilídeos em eqüinos podem estar associadas a várias alterações no hospedeiro. Os maiores danos causados pelos grandes

estrôngilos são a arterite tromboembólica da artéria mesentérica cranial e o comprometimento da circulação intestinal local causada pela migração durante a fase larval (REICHMANN et al., 2001). A gravidade destes sinais está relacionada com número de larvas ingeridas, com a idade e imunidade do hospedeiro, podendo os equídeos infectados apresentar sinais variados que vão desde a ausência de sintomatologia até a morte (TARAZONA VILAS et al., 1999).

Tabela 3 – Sinais clínicos e anormalidades provocadas pelas larvas das espécies de “grandes estrôngilos” em eqüídeos.

Sinais clínicos e anormalidades	Espécies de grandes estrôngilos		
	<i>S. equinus</i>	<i>S. edentatus</i>	<i>S. vulgaris</i>
Aneurismas	-	-	+
Claudicação	-	-	+
Cólica	+	+	+
Desenvolvimento retardado	+	+	+
Diarréia	+	+	+
Distúrbios digestivos	+	+	+
Emaciação	+	+	+
Encefalite (esporádica)	-	-	+
Endoarterite	-	-	+
Febre	+	+	+
Pelagem desuniforme alterada	+	+	+
Redução capacidade trabalho	+	+	+
Síndrome anêmica	+	+	+

Fonte: Turner (1984).

4.3.4.2. Subfamília Cyathostominae

O animal infectado tem um aproveitamento nutricional comprometido. Os parasitos interferem com a digestibilidade da matéria-seca provocando sinais clínicos como: perda de peso, pêlos eriçados e sem brilho, podendo evoluir para quadros mais grave, com diarréia progressiva, emaciação,

hipoalbuminemia, edema subcutâneo, anasarca, eventualmente, morte, principalmente nos casos de “ciatostomíase larval” (UHLINGER, 1991).

4.3.5. Diagnóstico da estrogilidose

Conhecer o histórico completo do animal é uma ferramenta útil para o diagnóstico de estrogilidose clínica. O diagnóstico pode ser feito através de exames coproparasitológico, com o intuito de identificar os ovos, as larvas e os adultos.

As técnicas coprológicas são simples, fáceis de executar, relativamente baratas e, em regra geral, quando os animais se encontram parasitados são sempre positivas (MADEIRA DE CARVALHO, 2006). O diagnóstico coproparasitológico deve começar pelo exame macroscópico das fezes, observando se existem alterações de consistência e aspecto das fezes (diarréicas, sanguinolentas) e se estão presente formas parasitárias, nomeadamente formas adultas e/ou larvares de estrogilídeos, com colorações entre branco rosado a vermelho-rubi, respectivamente (MADEIRA DE CARVALHO, 2006). O exame microscópico pode ser qualitativo ou quantitativo.

4.3.5.1. Técnicas coproparasitológicas

As técnicas coproparasitológicas podem ser realizadas através dos exames qualitativos (método de flutuação - Técnica de Willis Mollay e sedimentação espontânea) e quantitativos, importante no diagnóstico de estrogilidose, realizada através da contagem de ovos por grama (O.P.G) – Técnica de Gordon e Whitlock modificada usando a câmara de McMaster,

Técnica de Roberts'Osollivan e a coprocultura, cultura "in vitro" das formas parasitárias que se encontram nas fezes (HOFFMANN, 1987).

As larvas podem ser identificadas através das coproculturas, recorrendo ao método de Técnica de Baermann (1917), modificado por COUTINHO et. al., (1951). A coprocultura é realizada para observar as formas infectantes e distinguir o género e/ou espécie dos nemátodes da família Strongylidae. A identificação de larvas de estrongilídeos é realizada através da observação do número e forma das células intestinais, comprimento total da larva, incluindo a bainha, presença ou ausência de bainha perilarvar e aspecto da cauda da bainha (MADEIRA DE CARVALHO, 2000).

Segundo MADEIRA DE CARVALHO (2001), as larvas de *S.equinus* são as mais difíceis de assinalar e as larvas do género *Strongylus* possuem bainha, cauda em forma de chicote e cauda da bainha comprida ($\geq 175 \mu\text{m}$), sendo as várias espécies diferenciadas pelas seguintes características:

- *Strongylus equinus*: os machos medem 24 – 36 mm e as fêmeas 39 – 46 mm e apresentam de 16 células intestinais.
- *Strongylus edentatus*: os machos medem 22 – 26 mm e as fêmeas 32 – 43 mm e apresentam de 18 a 20 células intestinais.
- *Strongylus vulgaris*: os machos medem 12 – 16 mm e as fêmeas 20 – 25 mm e apresentam mais de 20 células intestinais (FORTES, 2004; URQUHART, 2001).

A maioria destes parasitas adultos tem dentes e os machos apresentam bolsa copuladora, a diferenciação das três espécies baseia-se na diferença de tamanho e na presença/ausência dos dentes e do seu formato na base da cápsula bucal:

- *S. vulgaris* – Podem medir entre 1,5 a 2,5 cm de comprimento e possuem dois dentes arredondados em forma de orelha.
- *S. edentatus* – Medem entre 2,5 e 4,5 cm e não possuem dentes.
- *S. equinus* – O seu comprimento está compreendido entre os 2,5 e os 5 cm e possuem três dentes cônicos, sendo que um deles se situa dorsalmente, é bífido e é maior do que os outros (URQUHART, 2001; KAUFMANN, 1996).

4.3.6. Controle e profilaxia

O controle desses nematóides geralmente é feito pela utilização de anti-helmínticos, porém o seu uso indiscriminado e a ausência de estratégias adequadas de controle resultam no desenvolvimento de uma resistência destes parasitas pelos fármacos utilizados (MATTHEWS et al., 2004).

A forma de controle adotado na maioria dos criatórios é exclusivamente os compostos antiparasitários por sua praticidade e eficiência, por sua ótima relação custo-benefício e pela facilidade de aquisição. Dentre os compostos disponíveis, existem quatro grupos químicos distintos que são os mais utilizados: os benzimidazóis (albendazole e oxibendazole), as pirimidinas e imidazotiazóis (pamoato de pirantel e levamisole) e o grupo das lactonas macrocíclicas (ivermectina e moxidectin). A grande diferença entre os grupos químicos está no seu mecanismo de ação diferenciado e nas formas de eliminação parasitária (MOLENTO, 2005).

De acordo com LYONS et al. (1999) um manejo adequado é parte essencial do controle de strongilídeos. Remoção das fezes duas vezes por semana (RADOSTITIS et al., 2000), a utilização de fungos nematófagos promovem uma diminuição das larvas infectantes em refúgio na pastagem e

uma conseqüente ingestão de L3 pelos eqüinos, limitando assim a utilização de anti-helmínticos (RÉDUA et al., 2002).

O controle biológico deve ser utilizado como uma medida profilática, não devendo ser visto como substituto ao tratamento químico tradicional. Ele é uma ferramenta que pode trazer uma alternativa segura e sustentável ao manejo integrado contra o parasitismo (LARSEN, 1999).

Quanto às pastagens, devem ser mistas (cavalos e ruminantes) ou alternadas. Deve evitar-se a sobrelotação dos parques e proceder à drenagem dos mesmos. Todos os cavalos mantidos sob o mesmo sistema de alimentação devem ser tratados de preferência ao mesmo tempo (KAUFAMNN, 1996) e os equídeos recém-adquiridos devem ser desparasitados antes da entrada na exploração. Devem monitorizar-se as fezes dos equídeos através de análises, a fim de controlar os níveis parasitários.

5. CONCLUSÕES

Com base no exposto, fica claro o papel desempenhado pelo meio ambiente na disseminação de doenças. Surge então, além da preocupação com a saúde humana e animal, a necessidade de avaliar a saúde ambiental. A Saúde Ambiental é um conceito que associa fatores de riscos ambientais a doenças e agravos da saúde de populações expostas a determinados agentes físico, químicos e biológicos em situações definidas como não ocupacionais. As modificações ambientais afetam de forma geral a distribuição das doenças infecciosas. Os vínculos entre desenvolvimento econômico, condições ambientais e de saúde são muito estreitos, pois as condições para a transmissão de várias doenças são propiciadas pela forma com que são realizadas as intervenções humanas no ambiente (PIGNATTI, 2004).

A equideocultura apresenta impactos ambientais que devem ser resolvidos a fim de evitar problemas de saúde animal e humana. O tratamento dos dejetos produzidos pela atividade é uma alternativa para esse dilema. Os procedimentos adequados para o tratamento de dejetos de origem animal é de extrema importância, além de preservar o ambiente, garante sua comercialização, fato que representa uma fonte de renda alternativa nas propriedades. Estas práticas também contribuem para o saneamento, reduzindo o número de patógenos. Contudo, antes de iniciar o uso de um módulo de tratamento de dejetos é preciso elaboração cuidadosa do projeto e constante manutenção das unidades de tratamento, para evitar problemas de contaminação ambiental ou de disseminação de doenças.

REFERÊNCIAS

AKIYOSHI, D.E.; DILO, J.; PEARSON, C.; CHAPMAN, S.; TUMWINE, J.; TZIPORI, S. Characterization of *Cryptosporidium meleagridis* of human origin passaged through different host species. **Infection and Immunity**, v. 71, p.1.828-1.832, 2003.

AMARANTE, H. M. B. **Ocorrência do *Cryptosporidium* sp. em indivíduos imunocompetentes e imunodeficientes em Curitiba**. Dissertação (Mestrado em Medicina Interna) - Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1992.

AMORIM, A. C., LUCAS JUNIOR, J., RESENDE, K. T. Utilização de dejetos produzidos por caprinos como substrato para os processos de compostagem e vermicompostagem. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola**, Jaboticabal, v. 24, n. 1, p. 16-24. 2004.

ANDRADE NETO, J.L.; ASSEF, M.C.V. Criptosporidiose e microsporidiose. In: VERONESI, R **Tratado de Infectologia**. São Paulo: Editora Ateneu, p.1170-1172, 1996.

ARAÚJO, R.S. **Genotipagem de *Cryptosporidium* spp. provenientes de amostras de águas superficiais e recreacionais como fonte de informação da dispersão de espécies no ambiente**. Dissertação de mestrado. Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, p.122, 2008.

BERNAL, M. P.; SÁNCHEZ-MONEDERO, M. A.; PAREDES, C.; ROIG, A. Carbon mineralization from organic wastes at different composting stages during their incubation with soil. **Agriculture Ecosystems & Environment**, v. 69, p. 175-189, 1998.

BEZERRA, S.Q.; COUTO, M.C.M.; SOUZA, T.M.; BEVILAQUA, C.M.L.; ANJOS, D.H.S.; SAMPAIO, I.B.M.; RODRIGUES, M.L.A. Ciastostomíneos (Strongylidae – Cyathostominae) parasitas de cavalos: ecologia experimental dos estágios pré-parasíticos em gramínea tifton 85 (*Cynodon* spp. cv. Tifton 85) na Baixada Fluminense, RJ, Brasil. **Parasitologia Latinoamericana**, v.62, n.1-2, 2007.

BONNET, B.R.P.; LARA, A.I. DE; DOMASZAK, S.C. Indicadores Biológicos da Qualidade Sanitária do Lodo de Esgoto. In: ANDREOLI, C.V.; BONNET, B.R.P. (Coord). **Manual de Métodos para Análise Microbiológicas e Parasitológicas em Reciclagem Agrícola de Lodo de Esgoto**. 2.ed.rev. e ampl. Curitiba: Sanepar, p.11-26, 2000.

BOWMAN, D.D., LYNN, R.C., EBERHARD, M.L. & ALCARAZ, A. **Georgis' Parasitology for Veterinarians**. Philadelphia W.B. Saunders Company, n. 8, p.174-180; 287-300, 2003.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente, Portaria nº 15/96 de 23 de Janeiro, alínea i) nº 3, 1996.

BRASIL, Fundação Nacional de Saúde. Manual de saneamento. Brasília: Fundação Nacional de Saúde, 2004

BROOK, E.; HART, C.A.; FRENCH, N.; CHRISTLEY, R. Prevalence and risk factors for *Cryptosporidium* spp. infection in young calves. **Veterinary Parasitology**, v.152, p.46-52, 2008.

BUSTAMANTE, M. A.; MORAL, R.; PAREDES, C.; VARGAS-GARCÍA, M. C.; SUÁREZ-ESTRELLA, F.; MORENO, J. Evolution of the pathogen content during co-composting of winery and distillery wastes. **Bioresource Technology**, v.99, p. 7299-7306, 2008.

CACCIÒ, S.M.; THOMPSON, R.C.A.; McLAUHLIN, J.; SMITH, H.V. Unravelling *Cryptosporidium* and *Giardia* epidemiology. **Trends in Parasitology**, v. 21, n. 9, p. 430- 437, 2005.

CHALMERS, R. M.; DAVIES, A. P. Minireview: Clinical cryptosporidiosis. **Experimental Parasitology**, v.124, p. 138-146, 2010.

COKLIN, T.; FARBER, J.; PARRINGTON, L.; DIXON, B. Prevalence and molecular characterization of *Giardia duodenalis* and *Cryptosporidium* spp. in dairy cattle in Ontario, Canada. **Veterinary Parasitology**, v.150, p.297-305, 2007.

COLEMAN, S. U.; KLEI, T.R.; FRENCH, D.D.; CHAPMAN, M.R.; CORSTVET, R.E. Prevalence of *Cryptosporidium* sp. in equids in Louisiana. **American Journal of Veterinary Research**, v.50, p.575-577, 1989.

COUTINHO, J.O.; CAMPOS, R. e AMATO NETO, V. Nota sobre diagnóstico e prevalência da estrogiloidose em São Paulo. **Revista Clínica de São Paulo**, vol. XXVII, nº 1-2, p.11-20, 1995.

CORNING, S. Equine cyathostomins: a review of biology, clinical significance and therapy. **Parasite & Vectors**, p.1-6, 2009.

COSTA, M.S.S. **Caracterização dos dejetos de novilhos superprecoces: reciclagem energética e de nutrientes**. Tese (Doutorado em Agronomia). Faculdade de Ciências Agronômicas. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho". Botucatu, p. 98, 2005.

DIAZ, L.F.; SAVAGE, G. M.; EGGERTH, L. L. **Composting and Recycling Municipal Solid Waste**. Boca Raton, Lewis Publishers, 1993.

DUNCAN J L; PIRIE H M. Strongyle infection in horse: life cycle, pathogenesis, epidemiology and immunity. In: Helminths diseases of cattle, sheep and horses in Europe. **Proceedings of a workshop**, University of Glasgow Veterinary School, 9-14 April, 1973, Glasgow: G. M. Urquart e J. Armour. p. 115-126, 1974.

EDERLI, B.B. **Ocorrência da infecção por *Cryptosporidium* sp. em bezerros da microrregião de Campos dos Goytacazes no Estado do Rio de Janeiro.** Dissertação (Mestrado em Produção Animal), Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, 2002.

ENGLISH, A.W. Epidemiology of equine strongylosis in Southern Queensland. 1. bionomics of free-living stages in feces and pasture. **Australian Veterinary Journal**, v.55, n.7, p.299-305, 1979.

EPSTEIN, E. **The Science of composting.** Technomic Publishing Co, Lancaster, USA, p.487, 1998.

FARIZAWATI, S.; LIM, Y.A.L.; AHMAD, R.A.; FATIMAH, C.T.N.I.; SITI-NOR, Y. Contribution of cattle farms towards river contamination with *Giardia* cysts and *Cryptosporidium* oocysts in Sungai Langat Basin. **Tropical Biomedicine** v.22(2), p.89-98, 2005.

FAYER, R. ***Cryptosporidium* and Cryptosporidiosis.** Boca Raton: CRC, p.251, 1997.

FAYER, R.; MORGAN, U. M.; UPTON, S. J. Epidemiology of *Cryptosporidium*: transmission, detection and identification. **International Journal for Parasitology**, v. 30, n. 12-13, p. 1305-1322, 2000.

FAYER, R. Taxonomy and species delimitation in *Cryptosporidium*. **Experimental Parasitology**, v. 124, n. 1, p. 90-97, 2010.

FAYER, R.; SANTÍN, M. *Cryptosporidium xiaoi* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) in sheep (*Ovis aries*). **Veterinary Parasitology**, v. 164, p. 192-200, 2009.

FERGUSON, C., A.M.R. HUSMAN, N. ALTAVILLA, D. DEERE, and N. ASHBOLT. Fate and transport of surface water pathogens in watersheds, Crit. Rev. **Environmental Science Technology**, v.33, p.299-361, 2003.

FIALHO, L.L. Monitoramento Químico e Físico do Processo de Compostagem de Diferentes Resíduos Orgânicos. Relatório técnico. São Carlos, SP.: **Embrapa Instrumentação Agropecuária**, 2005.

FORTES, E. (2004) **Parasitologia veterinária**, São Paulo: Ícone

FRANCO, R.M.B.; CANTUSIO NETO, R. Occurrence of cryptosporidial oocysts and *Giardia* cysts in bottled mineral water commercialized in the city of Campinas, state of São Paulo, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.87(2), p.205-207, 2002.

FRANCO, R.M.B.; ROCHA-EBERHARDT, R.; CANTUSIO NETO, R. Occurrence of *Cryptosporidium* oocysts and *Giardia* cysts in raw water from the Atibaia River, Campinas, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v.43(2), p.109-111, 2001.

GAMBA, R.C.; CIAPINA, E.M.P.; BATELLO, E.R.; ESPÍNDOLA, R.S.; SILVA, A.L.B.; PACHECO, A.; PELLIZARI, V.H. Detection of *Cryptosporidium* sp. oocysts in groundwater for human consumption in Itaquaquecetuba city, S. Paulo, Brasil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.31, p.151-153, 2000.

GEORGACAKIS, D., TSAVDARIS, A.; BAKOULI, J.; SYMEONIDIS, S. Composting solid swine manure and lignite mixtures with selected plant residues. **Bioresource Technology**, v.78: p.107-109, 1996.

GOLUEKE, C.G. **Composing: a study of the process and its principles**. 4.ed. Emmaus: Rodale Press, p.110, 1976.

GOMES, A.D. et al. Prevalência de *Cryptosporidium* spp e *Giardia* sp em equinos estabulados no Jockey Club de Santa Maria – RS, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.38, n.9, p.2662-2665, 2008.

GRAAF, D.C.; VANOPDENBOSCH, E.; ORTEGA-MORA, L.M.; ABBASSI, H.; PEETERS, J.E. A review of the importance of cryptosporidiosis in farm animals. **International Journal for Parasitology**, v. 29, n. 8, p. 1269-1287, 1999.

HACHICH, E. M.; GALVANI, A.T.; MENEGON, N.; PADULA, J.A.; SATO, M.I.Z. Importancia do controle dos parasitos patogenicos *Giardia* e *Cryptosporidium* em aguas captadas para consumo humano. In: **XXVII Congresso Interamericano de Ingenieria Sanitaria Y Ambiental**, Porto Alegre, Brasil, 2000

HASSEN, A.; BELGUITH, K.; JEDIDI, N.; CHERIF, A.; CHERIF, M.; BOUDABOUS, A. Microbial characterization during composting of municipal solid waste. **Bioresource Technology**, v. 80, p. 217-225, 2001.

HAUG, R.T. **Compost engineering: principles and practices**. Ann Arbor: Ann Arbor Science, p. 655, 1980.

HARUTA, S.; NAKAYAMA, T.; NAKAMURA, K.; HEMMI, H.; ISHII, M.; IGARASHI, Y.; NISHINO, T. Microbial diversity in biodegradation and reutilization processes of garbage. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v.99, p.1-11, 2005.

HELLER, L.; BASTOS, R.K.X.; VIEIRA, M.B.C.M. Oocistos de *Cryptosporidium* e cistos de *Giardia*: circulação no ambiente e riscos à saúde humana. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v.13, n.2, p.79-92, 2004.

HOFFMANN, R.P. **Diagnóstico de parasitismo veterinário**. Editora SULINA, Porto Alegre, 1987

HOLT, J.G.; KRIEG, N.R.; SNEATH, P.H.A.; STALEY, J.T.; WILLIAMS, S.T. Facultatively anaerobic gram-negative rods. In: **Bergey's Manual of determinative bacteriology**. Baltimore: Williams & Wilkins, n.9, p.787, 1994.

HUBER, F. **Caracterização genotípica e estudo filogenético de *Cryptosporidium* spp. obtidos de diferentes hospedeiros.** 60 f. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias) - Departamento de Parasitologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2007.

IACOVSKI, R.B.; BARARDI, C.R.M.; SIMÕES, C.M.O. Detection and enumeration of *Cryptosporidium* sp. oocysts in sewage sludge samples from the city of Florianópolis (Brazil) by using immunomagnetic separation combined with indirect immunofluorescence assay. **Waste Management & Research**, v.22, p.171-176, 2004.

JAMIESON, R.C., R.J. GORDON, K.E. SHARPLES, G.W. STRATTON, AND MADANI, A. Movement and persistence of fecal bacteria in agricultural soils and subsurface drainage water: A review, **Can. Biosys Engineering**, p.9,2002.

KARANIS P, KOURENTI C, SMITH H (). Waterborne transmission of protozoan parasites: a worldwide review of outbreaks and lessons learnt. **Journal of Water and Health**, v.5(1), p.1-38, 2007.

KAUFMANN, J. **Parasitic infections of domestic animals – a diagnostic manual.** Basel, Boston, Berlin: Birkhäuser, 1996.

KIEHL, E.J. **Fertilizantes orgânicos.** Editora Agronômica Ceres Ltda. Piracicaba, p.492, 1985.

KIEHL, J.C. **Producao de composto orgânico e vermicomposto.** Informe Agropecuario, Belo Horizonte, v.22, p. 40-42, 47-52, 2001.

KIEHL, E. J. **Manual de compostagem: maturação e qualidade do composto.** São Paulo: Editado pelo autor, 4ª edição, p.1, 2004.

KING, B.J.; HOEFEL, D.; DAMINATO, D.P.; FANOK, S.; MONIS, P.T. Solar UV reduces *Cryptosporidium parvum* oocyst infectivity in environmental waters. **Journal of Applied Microbiology**, v.104, p.1.311-1.323, 2008.

KUZMINA, T.A.; TOLLIVER, S.C.; LYONS, E.T. Three recently recognized species of cyathostomes (Nematoda: Strongylidae) in equids in Kentucky. **Parasitology Research**, v.108, n.5, p.1179-1184, 2011.

LARSEN, M. Biological control of helminthes. **International Journal for Parasitology**, v.29, n. 1, p. 139-146, 1999.

LEVINE, N. D. Taxonomy and review of the coccidian genus *Cryptosporidium* (Protozoa, Apicomplexa). **Journal of Protozoology**, v.31, p.94-98, 1984.

LICHTENFELS, J.R., KHARCHENKO, V.A., DVOJNOS, G.M. Illustrated identification keys to strongylid parasites (Strongylidae: Nematoda) of horses, zebras and asses (Equidae). **Veterinary Parasitology**, v.156, p.4–161, 2008.

LUNA, S.; REYES, L.; CHINCHILLA, M.; CATARINELLA, G. Presencia de ooquistes de *Cryptosporidium* spp. en aguas superficiales en Costa Rica. **Parasitologia Latinoamericana**, v.57(1-2), p.63-65, 2002.

LYONS, E.T., TOLLIVER, S.C.; DRUDGE, J.H. Historical perspective of cyathostomes: prevalence, treatment and control programs. **Veterinary Parasitology**, v.85, p.97-112, 1999.

MACRAE J.C. Metabolic consequences of intestinal parasitism. **Proceedings of the Nutrition Society**, v.52, p.121-130, 1993.

MADEIRA DE CARVALHO, L.M. **Disciplina de parasitologia: notas de apoio às aulas práticas**. Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária – Universidade Técnica de Lisboa, p.58-88, 2000.

MADEIRA DE CARVALHO, L. M. **Epidemiologia e controlo da estrongilidose em diferentes sistemas de produção equina em Portugal, 2001**. Tese de Dissertação de Doutoramento, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Técnica de Lisboa. Lisboa.

MADEIRA DE CARVALHO, L. M. Estrongilidoses dos equídeos – aspectos da sua epidemiologia, terapêutica e controlo. *Medicina Veterinária – publicação semestral da AEFMV*, v. 117, n. 58, p. 6-15, 2003.

MADEIRA DE CARVALHO, L. M. (2006) – **Estrongilidose dos Equídeos – Biologia, Patologia, Epidemiologia e Controle**, p. 277-326. In Tovar, J. & Reina, D. (Eds.): “*In Memoriam Prof. Ignacio Navarrete López-Cózar*”, ISBN 84-690-2894-4, Facultad de Veterinaria, Cáceres, España, p.660, 2006 .

MATTHEWS, J. B.; HODGKINSON, J. E.; DOWDALL, S. M. J.; PROUDMAN, C. J. Recent developments in research into the Cyathostominae and *Anoplocephala perfoliata*. **Veterinary Research**, v. 35, n. 4, p. 371-381, 2004.

MAYER, C.L.; PALMER, C.J. Evaluation of PCR, Nested PCR, and Fluorescent Antibodies for Detection of *Giardia* and *Cryptosporidium* Species in Wastewater, **Applied and Environmental Microbiology**, v.62(6), p.2081-2085, 1996.

MOLENTO, M.B. Resistência parasitária em helmintos de eqüídeos e propostas de manejo. **Ciência Rural**, Santa Maria, RS, v.35, n.6, p.120-131, 2005.

MONAHAN C. **Anthelmintic control strategies for horses. Companion and Exotic Animal Parasitology**, D.D. Bowman, p. 1-11, 2000. Acessado em 17 de março de 2011. Disponível em: http://www.ivis.org/advances/Parasit_Bowman/monahan_equine/chapter_frm.asp?LA=1

MURRAY, P.R. et al. **Enterobacteriaceae**. In: *Microbiologia Médica*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. p.193-203.

NIELSEN, M.K.; KAPLAN, R.M.; THAMSBORG, S.M.; MONRAD, J.; OLSEN, S.N. Climatic influences on development and survival of free-living stages of equine strongyles: implications for worm control strategies and managing anthelmintic resistance. **Veterinary Journal**, n.174, v. 1, p.23-32, 2007.

O'DONOGHUE, P. J. *Cryptosporidium* and Cryptosporidiosis in Man and Animals. **International Journal for Parasitology**, v. 25, n. 2, p. 139-195, 1995.

OGBOURNE C P. The Prevalence, relative abundance and site 1 distribution of nematode of the subfamily Cyathostominae in horses killed in Britain. **Journal Helminthol** v.50, p. 203-14, 1976.

OGBOURNE, C.P. Pathogenesis of cyathostome (*Trichonema*) infections of the horse: A review. Commonwealth Institute of Helminthology Miscellaneous Publications. **Farnham Royal: Commonwealth Agricultural Bureaux**, p. 25, 1978.

OGBOURNE, C. P.; DUNCAN, J.L. *Strongylus vulgaris* in the horse: its biology and veterinary importance. 2.ed. **Slough: Commonwealth Institute of Parasitology (Miscellaneous publication)**, v. 9, p. 68, 1985.

OLIVEIRA, P.A. **V Manual de manejo e utilização dos dejetos suínos**. Embrapa-cnpsa, Concórdia, 1993.

OLSON, M. E.; THORLAKSON, C.L.; DESELLIERS, L. *Giardia* and *Cryptosporidium* in Canadian farms animals. **Veterinary Parasitology**, v.68, p.375-381, 1997.

PEIXOTO, J. O. **Destinação final de resíduos, nem sempre uma opção econômica**. Engenharia Sanitária, p.15-18, 1981.

PEREIRA NETO, J.T. 2007. **Manual de compostagem: processo de baixo custo**. UFV. Viçosa, p.81, 2007.

PEREIRA, J.T., COSTA, A.O., OLIVEIRA SILVA, M.B., SCHUCHARD, W., OSAKI, S.C., CASTRO, E.A., PAULINO, R.C., THOMAZ SOCCOL, V. Comparing the efficacy of chlorine, chlorine dioxide, and ozone in the inactivation of *Cryptosporidium parvum* in water from Parana state, Southern Brazil. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v 151, (2-3), p. 464-473, 2008.

PEREIRA, J. T., **Métodos de desinfecção em água contendo *Cryptosporidium parvum* (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) e sua detecção por técnica de biologia molecular**. 92 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia, Parasitologia, Patologia) - Setores de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2007. Disponível em: <<http://dspace.c3sl.ufpr.br:8080/dspace/handle/1884/13537>>

PIGNATTI, M.G. Saúde e ambiente: as doenças emergentes no Brasil. **Ambiente & Sociedade**, v.7, n.1, p.133-148, 2004.

PRIMAVESI, A. **O manejo ecológico do solo: agricultura em regiões tropicais**. Nobel. São Paulo, p. 535, 1981.

PROSAB. **Manual prático para compostagem de bio-sólidos**. Rio de Janeiro: ABES, 1999

QUADROS, R.M. **Ocorrência de *Cryptosporidium* spp. (Tyzzer, 1907) detectada pelo método de imunofluorescência através da técnica de coloração da auramina em bovinos de propriedades rurais do município de Lages (SC), Brasil**. Dissertação de mestrado. Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, p.53, 2002.

QUINN, P.J. *et al.* **Clinical Veterinary Microbiology**. London: Mosby, p.648, 1994.

RADOSTITIS O.M.; GAY, C.C.; HINCHCLIFF, K.W.; CONSTABLE, P.D. **Veterinary medicine: A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats**. Philadelphia: Saunders Elsevier, n.9, 2000.

RÉDUA, C.R.O.; SICILIANO, S.; MIJUÇA, F.; ARAÚJO, J.V.; RODRIGUES, M.L.A. Avaliação da pastagem do fungo nematofago *Monacrosporium thaumasium* pelo trato gastrointestinal de eqüinos. **Ciencia Animal**, v.12, n. 2, p. 133-139, 2002.

REINEMEYER C.R. Parasite control recommendation for horses during the first year of life. *Proceedings of the American Association of Equine Practitioners Texas, USA*, p. 143-154, 2008. Acessado em 17 de março de 2011. Disponível em: <http://www.ivis.org/>

REINEMEYER, C.R. Controlling strongyle parasites of horses: a mandate for change. **Proceedings of the 55th annual convention the American Association of Equine Practitioners - Las Vegas, USA**, p. 353-360, 2009. Acessado em 20 de fevereiro de 2011. Disponível em: <http://www.ivis.org/proceedings/aaep/2009/z9100109000352.pdf>.

RIHANI, M.; MALAMIS, D.; BIHAOUI, B.; ETAHIRI, S.; LOIZIDOU, M.; ASSOBBEI, O. In-vessel treatment of urban primary sludge by aerobic composting. **Bioresource Technology**, v.101, p. 5988-5995, 2010.

ROBERTSON, L.J.; CAMPBELL, A.T.; SMITH, H.V. Survival of *Cryptosporidium parvum* oocysts under various environmental pressures. **Applied and Environmental Microbiology**, v.58:3, p.494-3.500, 1992.

RODRIGUES, M.S.; SILVA, F.C.; BARREIRA, L.P.; KOVACS, A. Compostagem: reciclagem de resíduos sólidos orgânicos. In: Spadotto, C.A.; Ribeiro, W. **Gestão de Resíduos na agricultura e agroindústria**. FEPAF. Botucatu. p. 63-94, 2006.

SMITH, H.V.; ROSE J.B. Waterborne cryptosporidiosis: Current Status. **Parasitology Today**, v.14, p.14-22, 1998.

SMITH HV, CACCIÒ SM, TAIT A, MCLAUCHLIN J, THOMPSON RCA (). Tools for investigating the environmental transmission of *Cryptosporidium* and *Giardia* infections in humans. **Trends in Parasitology**, v. 22(4), p.160-167, 2006.

TAMBURRINI, A.; TOSINI, F.L.A.; ROSA, G.; POZIO, E.; CACCIÒ, S. Identification and characterization of three antigenic proteins from *Cryptosporidium parvum* sporozoites using a DNA library expressing poly-histidine tagged peptides. **International Journal for Parasitology**, v.29(12), p.1.925-1.933, 1999.

TARAZONA VILAS, J.M. Estrongilidosis causadas por grandes y pequeños strongilos. In M. Cordero del Campillo, F. A. Rojo Vázquez, A.R. Martínez Fernández, C. Sánchez Acedo, S. Hernández Rodríguez, I. Navarrete López-Cozar, P. Díez Baños, H. Quiroz Romero & M. Carvalho Varela, **Parasitología Veterinaria**. Madrid, España: McGraw-Hill-Interamericana de España, S. A. U, p. 545-560, 1999.

THOMAZ, A.; MEIRELES, M.; SOARES, R.; PENA, H.; GENNARI, S. Molecular identification of *Cryptosporidium* spp. from fecal samples of felines, canines and bovines in the state of São Paulo, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 150, n. 4, p. 291-296, 2007.

TOSCAN, G.; PEREIRA, R.C.F.; VOGEL, F.S.F.; SANGIONI, L.. Comparação da prevalência de *Cryptosporidium* spp. em equinos de tração e em atletas do Jockey Club de Santa Maria, RS, Brasil. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 11, n. 2, p. 436-440, 2010.

TORNADIJO, M.E.; GARCÍA, M.C.; FRESNO, J.M.; CARBALLO, J. Study of *Enterobacteriaceae* during the manufacture and ripening of San Simón cheese. **Food Microbiology**, London, v.18, p. 499–509, 2001.

TRABULSI, L.R.; ALTERTHUM, F.; GOMPERTZ, O.F.; CANDEIAS, J.A.N.; **Microbiologia**. 3ed., Editora Atheneu, Rio de Janeiro, p.586, 2002.

TRABULSI, L.R.; CAMPOS, L.C. Generalidades sobre enterobactérias. In.: TRABULSI, L.R. *et al.* Microbiologia. 3 ed. São Paulo: Atheneu, p.207-213, 2002.

TRAUTMANN N.; OLYNCIW, E. Compost Microorganisms. 2005. Acessado em: http://www.compost.css.cornell.edu/composting_homepage.html

TURNER, A.S. **Diseases of the horse**: a handbook for science and practice. Basel: Karger, p.478, 1984.

UHLINGER, C.A. Equine Small Strangles: epidemiology, pathology and control. **Compendium Continuing Education**., v.13, p.863-869, 1991.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (USEPA). **Detecting and Mitigating the Environmental Impact of Fecal Pathogens Originating from Confined Animal Feeding Operations: Review.** Washington, DC, 2005. Disponível em: <http://www.epa.gov/pdf>. Acesso em Ago. 2011.

URQUHART, G. M.; ARMOUR, J.; DUNCAN, J.L.; DUNN, A.M.; JENNINGS, F.W. **Veterinary Parasitology.** Oxford: Blackwell Science Ltd, n.2, 2001.

VERGNOUX, A.; GUILIANO, M.; LE DRÉAN, Y.; KISTER, J.; DUPUY, N.; DOUMENQ, P.. Monitoring of the evolution of an industrial compost and prediction of some compost properties by NIR spectroscopy. *Sci. Total Environ.* 2009. Disponível em :[http:// www.sciencedirect.com](http://www.sciencedirect.com). Acessado em: 12/03/2011.

XIAO, L.; MORGAN, U.M.; FAYER, R.; THOMPSON, R.C.A.; LAL, A.A. *Cryptosporidium* Systematics and Implications for Public Health. **Parasitology Today**, v. 16, n. 7, p. 287-292, 2000.

XIAO, L.; FAYER, R., Molecular characterization of species and genotypes of *Cryptosporidium* and *Giardia* and assessment of zoonotic transmission. **International Journal for Parasitology**, v. 38, p. 1239-1255, 2008.

CAPÍTULO II

PREVALÊNCIA DE *CRYPTOSPORIDUM* spp. EM DOIS CENTROS DE
TREINAMENTO DE EQUINOS NA REGIÃO DE CURITIBA, PARANÁ.

*PREVALÊNCIA DE CRYPTOSPORIDIUM spp. EM DOIS CENTROS DE
TREINAMENTO DE EQUINOS NA REGIÃO DE CURITIBA, PARANÁ.*

*(Prevalence of Cryptosporidium spp. in two Centers of Training Horses in
Curitiba, Paraná.)*

RESUMO

O protozoário *Cryptosporidium* spp. vem ganhando importância dentro da Saúde Pública e da comunidade científica devido a capacidade de causar doenças e por ser um perigoso agente contaminante de água e alimentos. Este parasita pode infectar diferentes espécies animais, inclusive o ser humano. O objetivo deste estudo foi determinar a prevalência de *Cryptosporidium* spp. em dois centros de treinamentos de equinos no município de Curitiba, Paraná. Foram analisados 108 cavalos sendo 48 procedentes do Centro de Treinamento 1 e 60 do Centro de Treinamento 2. A metodologia utilizada para a confirmação da presença de oocistos de *Cryptosporidium* spp. foi a técnica de Ziehl-Neelsen modificada, 1981. A prevalência encontrada foi de 18,52% para todas as amostras de fezes dos animais analisados. Houve diferença estatística significativa quando comparadas as prevalências encontradas nos dois centros de treinamento, sendo no primeiro de 4,16% e 30% no segundo. Não houve diferença estatística significativa na prevalência quando considerados os parâmetros: idade, sexo e raça dos animais avaliados. Diante dos dados apresentados, o trabalho revelou uma população de cavalos como hospedeira assintomática do *Cryptosporidium* spp., favorecendo a contaminação ambiental e potencial contaminação humana.

Palavras-chaves: ambiente; cavalos; criptosporidose

ABSTRACT

The protozoan *Cryptosporidium* spp. has been gaining importance in the Public Health and the scientific community due to its ability to cause disease and to be a dangerous contaminant of food and water. The *Cryptosporidium* spp. can infect different animal species, including humans. Thus the purpose of this study was to determine the prevalence of *Cryptosporidium* spp. in two training centers for horses in the city of Curitiba, Paraná. Were analysed 108 horses of which 48 coming from the Training Center 1 and 60 Training Center 2. The methodology used to confirm the presence of *Cryptosporidium* sp. was the Ziehl-Neelsen modified, 1981. The prevalence was 18.52% for all samples of the animals examined. Statistical significant difference when comparing the

prevalence detected in two training centers, the first being 4.16% and 30% in the second. There was no statistical significant difference in prevalence when considering the following parameters: age, sex and breed of animals evaluated. Face of the data presented, the study revealed a population of horses as a host asymptomatic of *Cryptosporidium* spp., encouraging environmental contamination and potential human contamination.

Key words: criptosporidiosis; environment; horses

1. INTRODUÇÃO

As espécies do protozoário do gênero *Cryptosporidium* pertencentes à família Cryptosporidiidae são coccídeos oportunistas que parasitam as células do epitélio gastrintestinal e/ou a árvore brônquica (FAYER et al., 2000). São reconhecidas 19 espécies de *Cryptosporidium* as quais foram confirmadas por dados moleculares, morfológicos e biológicos (FAYER, 2010). Segundo CARVALHO (2009) falta uma uniformidade na nomenclatura usada pelos pesquisadores para a classificação deste parasita.

Estes protozoários apresentam um dos menores oocistos e seu diagnóstico preciso é difícil por meio das técnicas coproparasitológicas usuais. Os oocistos são esféricos ou ovóides e medem em média 5,3-4,5µm (Irwin, 2002). Quando parasita o intestino, o *Cryptosporidium* spp. é capaz de determinar danos às microvilosidades, dificultando desta forma a absorção de nutrientes e prejudicando o desempenho dos animais (O'DONOGUE, 1985), resultando na redução na taxa de crescimento, na piora da conversão alimentar ou na perda de peso, conforme observado por OLSON et al. (1995).

Estes coccídeos são capazes de parasitar diversas espécies, inclusive o homem. A infecção em hospedeiros imunocompetentes é auto-limitante, com duração de poucos dias a três semanas e em hospedeiros

imunocomprometidos pode resultar em diarreia crônica debilitante, desidratação, má-absorção, enfraquecimento progressivo e morte (FAYER, 1997). No entanto, indivíduos jovens ou velhos e imunossuprimidos são os mais severamente afetados (MORGAN et al., 2000; MILLER et al., 2003).

A transmissão desses parasitos ocorre principalmente pela via fecal-oral, ou por meio da ingestão de água e alimentos contaminados com oocistos (JOHNSON, 1997). Vários fatores contribuem para a ampla dispersão dos oocistos de *Cryptosporidium* no ambiente como o nível de contaminação ambiental, sobrevivência da forma infectante às diversas condições do meio (ROBERTSON et al., 1992) e resistência do oocisto aos métodos usados no tratamento da água como a cloração e a filtração (KORICH et al., 1990). KIRKPATRICK e SKAND (1985) relataram que animais infectados com estes parasitas raramente manifestam sinais associados com diarreia, letargia e anorexia. Os dados de frequência de infecções por *Cryptosporidium* spp. em eqüinos são poucos conhecidos e acredita-se que a maioria dos animais infectados sejam portadores assintomáticos (OLSON, et al. 1997).

A criptosporidiose, por não ser exclusiva apenas de países em desenvolvimento e por figurar no Programa de Doenças Negligenciadas da Organização Mundial da Saúde (OMS), torna-se uma protozoonose com implicações legais para as autoridades de Vigilância Sanitária, devido ao seu impacto em Saúde Pública (LUDWIG e MARQUES, 2008). Entretanto, o impacto sanitário e econômico desta zoonose ainda é indeterminado, principalmente porque alguns representantes do gênero *Cryptosporidium* não são espécie-específicos e facultam risco de transmissão para outros animais e para humanos (PONCE GORDO F., HERRERA S. e CASTRO A.T, 2002).

TRAUB et al. (2005) concluíram que o contato direto durante o trabalho e/ou a recreação com eqüinos infectados por *Cryptosporidium* spp. podem constituir fontes importantes de infecção para seres humanos. Inúmeros relatos de casos de transmissão zoonótica de *Cryptosporidium* spp. de animais para o ser humano foram também inferidos em estudos epidemiológicos, a maioria envolvendo pessoas que cuidavam de animais de estimação ou de fazenda. A transmissão zoonótica foi confirmada várias vezes por infecção acidental de atendentes de animais, estudantes ou pesquisadores que manipulavam isolados veterinários (O'DONOGHUE, 1995).

Portanto, o presente estudo teve como objetivo determinar, por meio da técnica de Ziehl-Neelsen modificada, a prevalência de *Cryptosporidium* spp. em dois centros de treinamento de eqüinos no município de Curitiba, Paraná.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido no período de outubro de 2010 a janeiro de 2011 em dois centros de treinamento de eqüinos localizados no município de Curitiba, Paraná. Foram avaliados 108 animais, destes 48 pertenciam ao Centro de Treinamento 1 (CT 1) e 60 ao Centro de Treinamento 2 (CT 2). Dos 48 animais do CT 1, 35 eram machos e 13 eram fêmeas, 26 pertenciam à raça Brasileiro de Hipismo (BH), sete eram animais Sem Raça Definida (SRD), cinco Puro Sangue Inglês (PSI) e 10 pertenciam a outras raças. Dos 60 animais oriundos do CT 2, 48 eram machos e 12 fêmeas, 45 eram animais Sem Raça Definida (SRD), sete Brasileiro de Hipismo (BH), três Lusitano, três Puro Sangue Inglês (PSI) e dois Appaloosa. A idade desses animais variou entre

três e 21 anos. Os animais utilizados não apresentavam qualquer alteração clínica sugestiva.

A base de alimentação dos animais do CT 2 era constituída de três partes de ração concentrada (14% de proteína bruta) e duas partes de aveia branca não achatada. Desta mistura era fornecida 4 kg por dia, divididos em duas vezes (pela manhã e pela tarde) em cochos de cimento fixados no interior da cocheira. Também era fornecido feno de alfafa 2 kg uma vez ao dia, 20 kg capim verde (capim elefante, braquiária e cetária) e 20 gramas de sal mineral para cada animal. As camas eram compostas de serragem, sendo as fezes e urina dos animais removidos uma vez ao dia e depositados próximas as cocheiras até a sua retirada. No CT 1, cada animal recebia uma dieta específica dependendo do proprietário, semelhante ao CT 2. No entanto as diferenças ocorriam nas proporções e na qualidade da ração concentrada utilizada que dependia das atividades atléticas de cada animal. As camas eram formadas de maravalha e o conteúdo desta cama, composta por urina e fezes, era removido duas vezes ao dia. A cada oito dias eram recolocados 50 kg de maravalha para substituir a cama retirada. A água utilizada nos dois locais era tratada pela Companhia de Saneamento do Paraná (Sanepar), sendo a conexão de fornecimento individual.

As amostras (fezes frescas) foram coletadas diretamente do bolo fecal imediatamente após a excreção, tendo-se o cuidado da coleta ser apenas na porção superior do bolo fecal, sem contaminação com a cama presente na cocheira. Estas amostras foram identificadas e armazenadas em caixas de isopor isotérmicas em temperatura controlada contendo gelo reciclável e

transportada até o Laboratório de Parasitologia Veterinária no Departamento de Patologia Básica da Universidade Federal do Paraná para serem analisadas.

A metodologia utilizada para a confirmação da presença de oocistos de *Cryptosporidium* sp. foi a técnica de esfregaço de fezes em lâmina, corado com álcool-ácido-resistente pelo Método de Ziehl-Neelsen modificado (Henriksen e Pohlenz, 1981). A pesquisa do protozoário foi feita em microscópio óptico inicialmente com aumento de 400 vezes. Após a observação de alguma estrutura similar a um oocisto passava-se para o aumento de 1000 vezes no qual se depositava uma gota do óleo de imersão sobre o esfregaço para melhor visualização.

Para a análise estatística empregou-se a análise de variância pelo programa estatístico SISVAR 5.3 (1999) e as médias, quando significativas, comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade (entre os centros de treinamento).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A prevalência encontrada foi de 18,52% (20/108) para todas as amostras dos animais analisados, porém quando comparada as prevalências encontradas no CT 1 e CT 2, houve diferença estatística ($p < 0,05$).

Dos 48 animais da CT 1, dois (4,16%) foram positivos para *Cryptosporidium* spp. Estes dados diferem daqueles apresentados por Gomes et al. (2008) que encontraram uma prevalência de 75%, no Jockey Clube de Santa Maria (JCSM), no estado do Rio Grande do Sul. De acordo com este mesmo autor o alto índice pode estar atribuído à água contaminada com

oocistos infectantes, sugerindo contaminação hídrica no JCSM. Em outro trabalho, TOSCAN et al. (2010) analisaram 52 animais, também do JCSM, constatando a presença deste mesmo parasita em 80,8% das amostras das fezes analisadas. BRACCINI et al. (1994) analisaram 11 amostras de fezes de equinos em um haras localizado no Município de Taquara/RS, destes animais, 81,8% estavam positivos para a presença de oocistos. Porém, um estudo realizado em um centro de equitação na região ocidental da Polônia, em Wielkopolska, MAJEWSKA et al. (2004) demonstraram uma prevalência de 3,5%, de infecção de equinos com *Cryptosporidium* spp., resultados próximos aos que foram obtidos no CT 1. Outro resultado, com a ausência de oocistos do protozoário, foi relatado por JOHNSON et al. (1997) na Região da Califórnia, que trabalharam com amostras fecais de 91 animais. MORAIS (2008) realizou um estudo na Microrregião de Uberlândia em uma propriedade com 31 animais, destes todos os resultados foram negativos.

Das amostras coletadas no CT 2, 30% (18/60) foram positivas para *Cryptosporidium* spp. O resultado foi relativamente alto quando comparado a um estudo realizado na Corporação Militar/RJ onde a prevalência descrita foi de 0,65% (SOUZA et al., 2009). A alta prevalência no CT 2, provavelmente, é devido ao manejo que esses animais são submetidos, com a higienização dos tratadores, limpezas das baias, situações de estresses proporcionadas por treinamentos exaustivos, assim como pela possível contaminação da água e dos alimentos com oocistos infectantes. CAUSAPÉ et al. (2002) e BOMFIM et al. (2005) citam o ambiente de confinamento como sendo mais favorável à infecção pelo protozoário devido ao fato dos animais ficarem mais tempo nas instalações e pelo aumento de dejetos e umidade no local de criação.

Tabela 1: Freqüências observadas (em porcentagem) no total de equinos amostrados e para os diferentes parâmetros, centro de treinamento, raças e sexo e seus respectivos desvios.

Total	Centro de treinamento		Raças		Sexo	
	CT 1	CT 2	Sem raça definida	Outras raças puras	Machos	Fêmeas
18,52	4,17 b	30,00 a	15,80 a	12,50 a	12,27 a	12,50 a
±3,90	±2,019	±4,62	±2,019	±4,96	±1,33	±3,53

Valores seguidos da mesma letra não diferem significamente para o teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

No CT 1 os animais passam menos tempo confinados saindo de suas baias para treinamento e competições. Outro fator importante no manejo e a freqüência com que são limpas as baias desses animais. Enquanto que no CT 1 as baias são limpas 2 vezes por dia, no CT 2 a limpeza é feita apenas 1 vez por dia, acumulando desse modo fezes no ambiente e criando uma maior oportunidade para a contaminação local e a disseminação dos oocistos para outras baias através dos próprios tratadores. Diversos autores comentam que o tipo de piso, a higiene, uso de desinfetante, procedência da água consumida pelos animais, tipo de alimentação e armazenamento do mesmo, influencia de forma significativa no risco a infecção por *Cryptosporidium* spp. (HAMNES et al., 2006; BROOK et al., 2008).

Não houve diferença significativa entre as classes de idade de 0 a 3 anos, de 3,1 a 6; 6,1 a 9; 9,1 a 12; 12,1 a 15; 15,1 a 18 e 18,1 a 21 para os animais em relação a prevalência de *Cryptosporidium* spp. Possivelmente isso se deve ao pequeno número de potros e animais jovens analisados e as boas condições de manejo do CT 1. TOSCAN et al. (2010) também relataram que a variável idade não apresentou diferença estatística. Porém, REINEMEYER,

KLINE e SATUFFER (1984), consideram a idade como um fator de risco para os eqüinos, bem como em outros animais, sendo os recém-nascidos e os animais jovens os que apresentam a maior taxa de oocistos presentes nas fezes devido a imaturidade do sistema imunológico.

Também não houve diferença estatística significativa de casos de presença de oocistos nas fezes entre machos (75%) e fêmeas (25%) ($p > 0,05$), devido o maior número de fezes de machos serem avaliados em relação a pouca quantidade de fêmeas. GOMES et al. (2008) em seus estudos encontraram uma prevalência em machos de 75,6% e nas fêmeas de 76,2% não havendo diferença estatística.

A prevalência encontrada entre animais de raças puras foi de 25% e em animais SRD foi de 75%. No entanto, não houve diferença estatística significativa entre essas duas populações. Entretanto, TOSCAN et al. (2010) observaram uma maior prevalência do protozoário entre os equinos da raça PSI (80,8%) quando comparados aos SRD (38,5%).

4. CONCLUSÃO

Os dados obtidos nesse trabalho mostraram diferenças nas prevalências de *Cryptosporidium* spp. entre os animais do CT1 e do CT2, decorrente das diferentes formas de manejo ao qual são submetidos. A presença de *Cryptosporidium* spp. em animais assintomáticos é de grande preocupação em termos de Saúde Pública, porque esses animais tornam-se fontes de contaminação ambiental, por meio de seus dejetos, (fezes e cama) e potencial contaminação dos seres humanos.

REFERÊNCIAS

BOMFIM, T.C.B. et al. Natural infection by *Giardia* sp. and *Cryptosporidium* sp in dairy goats, associated with possible risk factors of the studied properties. **Veterinary Parasitology**, v.134, n.1-2, p.9-13, 2005.

BRACCINI, G. L., et al. *Cryptosporidium parvum* em eqüinos no Município de Taquara, RS, Brasil. **Arquivo da Faculdade de Veterinária**, UFRGS, Porto Alegre, v.22, p.64-69, 1994.

BROOK, E.J et al., Detection of *Cryptosporidium* oocysts in fresh and frozen cattle faeces: comparison of three methods. **Letters in Applied Microbiology**, v.46, p.26-31, 2008.

CAUSAPE, A.C. et al. Prevalence and analysis of potential risk factors for *Cryptosporidium parvum* infection in lambs in Zaragoza (Northeastern Spain). **Veterinary Parasitology**, v.104, n.4, p.287-298, 2002.

CARVALHO, T.T.R. Estado atual do conhecimento de *Cryptosporidium* e *Giardia*. **Revista de Patologia Tropical**. v. 38, n.1, p. 1-16, 2009.

FAYER, R. Taxonomy and species delimitation in *Cryptosporidium*. **Experimental Parasitology**. v.124, p.90-97, 2010.

FAYER, R.; MORGAN, U. M.; UPTON, S. J. Epidemiology of *Cryptosporidium*: transmission, detection and identification. **International Journal for Parasitology**, v. 30, p.1305-1322, 2000.

FAYER, R. **Cryptosporidium and Cryptosporidiosis**. Boca Raton: CRC, p.251, 1997.

GOMES, A.D. et al. Prevalência de *Cryptosporidium* spp e *Giardia* sp em eqüinos estabulados no Jockey Club de Santa Maria – RS, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.38, n.9, p.2662-2665, 2008.

HAMNES, I.S., GJERDE, B., ROBERTSON, L., Prevalence of *Giardia* and *Cryptosporidium* in dairy calves in three areas of Norway. **Veterinary Parasitology**, n.140, p. 204-216, 2006.

HENRIKSEN, S.A.; POHLENZ, J.F.L. Staining of Cryptosporidia by a modified Ziehl-Neelsen technique. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v.22, n.3-4, p.594-596, 1981.

IRWIN, P.J. Companion Animal Parasitology: A clinical perspective. **International Journal for Parasitology**, v.32, n.5, p. 581-593, 2002.

JOHNSON, E. et al. The prevalence of shedding of *Cryptosporidium* and *Giardia* spp. based on a single fecal sample collection from each of 91 horses used for backcountry recreation. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v.9, p.56-60, 1997.

KIRKPATRICK C.E.; SKAND, D.L. *Giardia* in a horse. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v.187, p.163-164, 1985.

KORICH D.G. et al. Effects of ozone, chlorine dioxide, chlorine, and monochloramine on *Cryptosporidium parvum* oocyst viability. **Applied and Environmental Microbiology**, v.56, p.1423-1428, 1990.

LUDWIG, R., MARQUES, S. M. T. Primeiro relato de *Cryptosporidium* spp. em emas (*Rhea americana*) cativas de zoológico no Brasil. **Parasitologia Latina Americana** v.63, p.76-80, 2008.

MAJEWSKA, A.C. et al. Equine *Cryptosporidium parvum* infections in Western Poland. **Parasitology Research**, v.93, p. 274-278, 2004.

MILLER, D.L. et al. Gastrointestinal cryptosporidiosis in a puppy. **Veterinary Parasitology**, v.115, n.3, p.199-204, 2003.

MORAIS, T.M., et al. Prevalência e fatores de risco relacionados à infecção por *Giardia duodenalis* e *Cryptosporidium* spp. em diferentes espécies de animais. **VIII Encontro Interno e XII Seminário de Iniciação Científica – Universidade Federal de Uberlândia**, 2008.

MORGAN, U.M. et al. *Cryptosporidium* spp. in domestic dogs: the “Dog” genotype. **Applied and Environmental Microbiology**, v.66, n.5, p.2220-2223, 2000.

O'DONOGHUE, P.J. *Cryptosporidium* infections in man, animals, bird and fish. **Australian Veterinary Journal**, v.62, p.253-258, 1985.

O'DONOGHUE, P. J. *Cryptosporidium* and cryptosporidiosis in man and animals. **International Journal of Parasitology**, v.25, n.2, p.139-195, 1995.

OLSON, B.E. et al. Effects of Giardiasis on production in a domestic ruminant (lamb) model. **American Journal Veterinary Research**, v.56, p.1470-1474, 1995.

OLSON, M. E. et al. *Giardia* and *Cryptosporidium* in Canadian farms animals. **Veterinary Parasitology**, v.68, p.375-381, 1997.

PONCE GORDO F., HERRERA S., CASTRO A.T. Parasites from ostriches (*Strutio camelus*) and rheas (*Rhea Americana*) in Europe. **Veterinary Parasitology**; v.60, p.107-137, 2002.

REINEMEYER, C.R., KLINE, R.C., SATUFFER, G. Absence of *Cryptosporidium* oocysts in faeces of neonatal foals. **Equine Veteteinary Journal** v.16, n.3, p. 217–218, 1984.

ROBERTSON, L.J. et al. Survival of *Cryptosporidium parvum* oocysts under various environmental pressures. **Applied and Environmental Microbiology**, v.58, p.494-497, 1992.

SISVAR, Dex/UFLA SISVAR Versão 5.3 build (75) Copyringt Daniel Furtado Ferreira 1999-2010.

SOUZA, P.N.B. et al. Natural infection by *Cryptosporidium* sp., *Giardia* sp. and *Eimeria leuckarti* in three groups of equines with different handlings in Rio de Janeiro, **Brazil Veterinary Parasitology** v.160, p.327–333, 2009.

TOSCAN, G. et al. Comparação da prevalência de *Cryptosporidium* spp. em equinos de tração e em atletas do Jockey Club de Santa Maria, RS, Brasil. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 11, n. 2, p. 436-440, 2010.

TRAUB, R.J. et al. Molecular characterization of potentially zoonotic isolates of *Giardia duodenalis* in horses. **Veterinary Parasitology**, v.130, p.317-321, 2005.

CAPÍTULO III

INFLUÊNCIA DOS PROCESSOS UTILIZADOS NO TRATAMENTO DE
RESÍDUOS DE COCHEIRA NA REDUÇÃO OU ELIMINAÇÃO DE OVOS E
LARVAS INFECTANTES DO GÊNERO *STRONGYLUS* spp.

INFLUÊNCIA DOS PROCESSOS UTILIZADOS NO TRATAMENTO DE
RESÍDUOS DE COCHEIRA NA REDUÇÃO OU ELIMINAÇÃO DE OVOS E
LARVAS INFECTANTES DO GÊNERO *STRONGYLUS* spp.

*(Influence of the processes used in the treatment of waste stable for reduction
or elimination of eggs and infective larvae of genus Strongylus spp.)*

RESUMO

Objetivou-se neste trabalho avaliar a influência dos processos utilizados no tratamento de resíduos de coqueira na redução ou eliminação de ovos e larvas infectantes de *Strongylus* sp. Os tratamentos utilizados foram compostagem aberta sem revolvimento em menor volume (CASRm) e em maior volume (CASRM), compostagem aberta com revolvimento em menor volume (CAm) e em maior volume (CAM) e compostagem anaeróbica em biodigestor (CF), em três repetições. Os parâmetros monitorados foram temperatura, umidade, presença de parasitos ao início e final do período experimental e, durante os revolvimentos das CAm e CAM. As temperaturas no centro das CASRM e CAM atingiram seu máximo no primeiro dia de avaliação, próximas a 60°C e permaneceram superiores a 50°C somente nos três primeiros dias e no restante do período experimental, se manteve próximo dos 30°C. Verificou-se elevada contaminação por larvas de *Strongylus* sp. (com 25,3 larvas por grama de resíduo) no resíduo analisado antes da aplicação dos tratamentos. No final do experimento a redução das larvas infectantes de terceiro estágio na parte central das compostagens foram de 97% (CAM), 87% (CAm), 90% (CASRM) e 100% (CF), e de apenas 26% para o tratamento CASRm. Na parte superficial não foram encontrados parasitas em nenhum dos tratamentos. A umidade superficial do composto no final do experimento foi, em média, aproximadamente 17-30% e a interna de 40-60%. Ovos de helmintos permaneceram viáveis mesmo após o processo de compostagem e o tratamento térmico. Os resultados indicam que a simples disposição dos resíduos de coqueira sem manejo adequado e em pequenos volumes, não há eliminação total de ovos e larvas de parasitas.

Palavras-chave: compostagem; *Strongylus* sp.; temperatura

ABSTRAT

The objective of this study was to evaluate the influence of the processes used in the treatment of stable waste in the reduction or elimination of eggs and infective larvae of *Strongylus* sp. The treatments were: opened composting without revolving in a smaller volume (CASRm) and in larger volume (CASRM), opened composting with revolving in a smaller volume (CAm) and in larger volume (CAM), and composting anaerobic in biodigester (CF), in three replicates. The parameters monitored were temperature, moisture and control parasites by stool coproculture, in the beginning and the end of the experimental period and during the revolving of CAm and CAM. Temperature at the center of CAM and CASRM reached a maximum on the first day, approximately 60 °C, remaining over 50 °C only in the first three days. In the others treatments the maximum temperature was between 30 °C. The results of stool coproculture showed high contamination by larvae of *Strongylus* sp. There was high contamination by larvae (with 25.3 larvae per gram). The reduction of the infective third stage larvae inside the compost at the end of the experiment was 97% (CAM), 87% (CAm), 90% (CASRM), 100% (CF), and 26% for CASRm treatment. On the outside was not detected the presence of the parasite. The humidity outside the compound at the end of the experiment was approximately 17-30% and 40-60% internal. Helminth eggs remained viable even after the composting process and heat treatment. The results indicate that the simple provision of waste without stable and proper handling small volumes, there is total elimination of eggs and larvae of parasites.

Key words: composting; *Strongylus* sp.; temperature

1. INTRODUÇÃO

A equinocultura é uma atividade que produz grandes quantidades de resíduos principalmente provenientes do manejo de cocheiras, como fezes, urina e cama (serragem, maravalha, palhas...). Locais como hípicas, hipódromos e regimentos de cavalaria, geralmente localizados em grandes centros urbanos, não apresentam recursos e nem locais físicos apropriados para o tratamento correto desses resíduos e, conseqüentemente, não há padronização de manejo. Quando dispostos inadequadamente no meio

ambiente traz conseqüências indesejáveis como problemas de controle de enfermidades parasitárias nos animais, riscos de contaminação ambiental e problemas de saúde pública.

Para STRAUCH (1987), praticamente todos os agentes causais transmissíveis podem ser encontrados em dejetos e seus subprodutos (chorume), ressaltando que a capacidade de sobrevivência dos agentes no ambiente é muito variada, especialmente nos dejetos e resíduos de animais, estando na dependência de vários fatores que os condicionam e predispõem. Este fato constitui um grave problema sanitário, pela possibilidade de contaminação do homem e dos animais, quando em contato direto com os resíduos ou por meio dos vetores biológicos, como moscas, mosquitos, água e alimentos contaminados (via indireta) (PEREIRA NETO et al., 2001).

Uma das principais formas para o tratamento adequado dos resíduos de origem animal antes de ser despejado no meio ambiente, de baixo custo, e o mais utilizado pelo homem é a compostagem. Este método constitui-se um dos mais antigos processos de reciclagem de resíduos orgânicos grosseiros como palha e estrume em materiais orgânicos utilizáveis na agricultura.

As formas de tratamentos de dejetos empregados na produção animal podem ser física, química e bioquímica. O tratamento físico consiste em separar as partículas contidas nos dejetos líquidos obtendo-se dois produtos: fração líquida e fração sólida através da decantação, peneiramento, centrifugação ou desidratação. As técnicas de tratamento químico ocorrem através da adição de produtos químicos e a ação desses produtos pode ser de três diferentes formas: bloqueio das fermentações indesejáveis, seleção bacteriana com orientação específica de fermentação e sobreposição de

odores. Os tratamentos bioquímicos podem ser a compostagem, onde corre a degradação da matéria orgânica pelo processo aeróbico, lagoas de estabilização (facultativas ou aeradas), diques de oxidação, que é um sistema com aeração artificial e câmaras de aeração em circuito fechado ou contínuo, lagoas anaeróbicas e digestores anaeróbicos (LOVATTO, OLIVEIRA e EBERT, 1997).

Porém os principais problemas relacionados à compostagem é a contaminação do ambiente pela presença de alguns elementos químicos como metais pesados e de microrganismos patogênicos que não são eliminados durante esse processo. As causas da ineficiência dos processos desse tipo de tratamento, no que diz respeito à eliminação de microrganismos patogênicos, podem estar relacionadas ao método utilizado, a eficácia das reações biofísicas e bioquímicas da degradação da matéria orgânica e as interpretações errôneas sobre o tempo e temperatura necessárias para a inativação desses agentes contaminantes (PEREIRA NETO et al., 2001)..

O presente trabalho objetivou-se avaliar a influência dos processos utilizados no tratamento de resíduos de cocheira, de dois centros de treinamento de equinos, na redução ou eliminação de ovos e larvas infectantes de *Strongylus* sp.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido no período do dia 09 de agosto a 20 de setembro de 2011 com resíduos de cocheiras (fezes, urina e serragem) de cavalos pertencentes ao Regimento da Polícia Montada Coronel Dulcídio

(RPMon), Curitiba/Pr. O material recém coletado no momento da limpeza e troca de camas de oito cocheiras foi transportado para um galpão fechado no Departamento de Zootecnia da Universidade Federal do Paraná (UFPR).

Os resíduos foram organizados em formas de compostagens (aberta - aeróbica e fechada - anaeróbica) e em diferentes volumes. Os tratamentos foram: compostagem aberta sem revolvimento em menor volume (CASRm), compostagem aberta sem revolvimento em maior volume (CASRM), compostagem aberta com revolvimento em menor volume (CAm), compostagem aberta com revolvimento em maior volume (CAM) e compostagem anaeróbica em biodigestor (CF).

Para cada tratamento foram utilizados três repetições contendo 9,5 kg de resíduos para os de menor volume e 152 kg para os de maior volume, depositados sobre bandejas de metal e isoladas do chão por isopor. A altura e a largura das compostagens foram aproximadamente de 1,37 X 0,52m e de 0,60 X 0,24m, para as de maior e de menor volume respectivamente.

Para a compostagem anaeróbica em biodigestor foi utilizado baldes de plástico com altura de 0,37m, diâmetro superior 0,30m e diâmetro inferior de 0,26m e capacidade de 20 litros, isolados internamente por uma manta térmica (Isomanta de polietileno 2mm). Nas tampas foram feitos dois orifícios, um central para passagem do fio do termômetro digital e o outro lateral para a passagem de uma mangueira de silicone para a liberação do gás produzido durante a fermentação, no qual a extremidade estava depositada dentro de um recipiente com água para evitar a entrada de ar. O conteúdo foi compactado e em seguida a tampa foi cuidadosamente vedada com silicone.

A aferição da temperatura interna e do ambiente foi por meio sensores térmicos de termômetros digitais (Termômetro Digital para Ambiente com Relógio Tr 34 Western), alocados no interior (altura média) de todas as repetições. As temperaturas eram anotadas diariamente às 8 horas da manhã e às 17 horas da tarde. O revolvimento manual dos processos aeróbicos (CAM e CAm) ocorriam no momento em que a temperatura interna estabilizava-se por três dias.

As amostras para análise parasitológica, umidade e pH do composto, foram coletadas no início do tratamento, imediatamente antes dos revolvimentos das CAM e CAm e, no final, quando a temperatura interna estabilizou-se. As amostras das análises parasitológicas foram identificadas e armazenadas em caixas de isopor isotérmicas em temperatura controlada contendo gelo reciclável e transportada até o Laboratório de Parasitologia Veterinária no Departamento de Patologia Básica da Universidade Federal do Paraná (UFPR). As amostras para se obter os valores de umidade e pH, foram devidamente lacradas, identificadas e em seguida enviadas para o Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia da UFPR.

A metodologia utilizada para a cultura das larvas foi a técnica de ROBERTS E O'SULLIVAN (1950) e para a identificação das larvas utilizou-se a chave descrita por HOFFMANN (1987) e MADEIRA DE CARVALHO (2001). Em relação à quantificação de larvas foi realizada conforme a pesagem de cada amostra de coprocultura, permitindo auferir, posteriormente, o número de larvas por grama de resíduos (LGR) existente em cada amostra.

O cálculo de LGR foi efetuado através da seguinte fórmula:

$$\text{LGR} = \frac{\text{N} \cdot 10 \cdot \text{V}}{\text{P}}$$

LGR – larvas por grama resíduo

N – Número de larvas em 100 µl

V – Volume de água colocada na placa de petri, após a coprocultura ser invertida

P – Peso da coprocultura

A estatística aplicada foi descritiva para as variáveis larvas por grama de fezes no início e final do experimento e temperatura (°C) máxima entre os tratamentos. Procedendo com à análise de variância (Anova) em blocos ao acaso com o pacote estatístico SAS (1996) e utilizando o mesmo pacote foi realizada a aplicação do teste de médias (Tukey).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A temperatura mínima, máxima e média do ambiente no período experimental foi de 12°C; 25°C e 18,5°C, sendo que a temperatura interna dos tratamentos teve uma média inicial de 23,5°C e no final estabilizaram em 17,6°C (CASRm); 23,4°C (CASRM); 18,3°C (CAm); 22,9°C (CAM) e 18,5°C (CF). O pico de elevação ocorreu no primeiro dia do período experimental, no qual as CASRM e CAM apresentaram temperatura de 60,7°C e 58,8°C e as CASRm, CAm e CF de 30,9°C; 30,4°C e 30,03°C e a mínima interna

identificada foi 13,5°C (CASRm); 20,3°C (CASRM); 15,8°C (CAm); 20,2°C (CAM) e 12,2°C (CF). Nas primeiras 24 horas ocorreu uma queda de aproximadamente 8°C nos tratamentos CASRM e CAM, mantendo-se superior a 50°C somente nos três primeiros dias, e uma diminuição de 3°C nos demais. Após 40 dias o ciclo de compostagem foi finalizado, como base do término foi considerada a estabilização de cinco dias das temperaturas dos tratamentos.

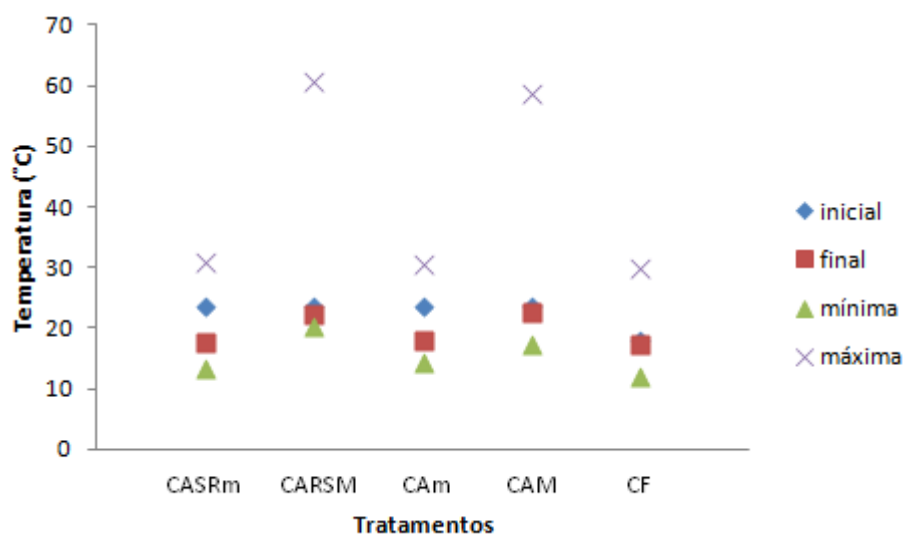


Figura 1 – Temperatura interna inicial, final, mínima e máxima dos diferentes tratamentos no período experimental.

De acordo com HERBERTS et al. (2005) a temperatura é considerada o fator determinante para o processo, pois diferentes temperaturas promovem o desenvolvimento de diferentes microrganismos. É o parâmetro mais utilizado para realizar o monitoramento e a evolução da compostagem, além de promover a eliminação total ou parcial de muitos microrganismos patogênicos. Este mesmo autor descreve que temperaturas entre 45°C e 70°C, fazem com que o processo de decomposição seja mais eficiente, considerando a temperatura ótima como sendo de 60°C para a eliminação da maioria dos patógenos.

VALENTE et al. (2008), que trabalharam com porcentagem de diferentes resíduos de abate de animais de produção, palha e serragem, mostraram que o tamanho das leiras, grande e pequenas, influenciam diretamente na temperatura, não atingindo temperaturas elevadas mesmo na fase inicial do processo. Entretanto, neste trabalho os tratamentos CASRM e CAM com altura e largura de aproximadamente de 1,37 X 0,52m, apresentaram temperaturas que chegaram aproximadamente a 60°C (Figura 1). Isso indica que mesmo em proporções diferentes do que é recomendado por KIEHL (2004) no qual altura e largura do material devem estar entre 1,5 X 1,8m os valores chegaram a ser considerados próximos de ótimos.

Em relação aos outros tratamentos CASRm e CAm, com altura e largura de 0,60 X 0,24m, as temperaturas máximas ficaram em 30,9°C e 30,4°C, isso se deve ao fato de que ocorreu uma maior troca térmica entre os montes e o ambiente, o que dificultou a elevação da temperatura. Além do tamanho, a época do ano em que os tratamentos foram realizados influenciou para que as temperaturas ficassem abaixo do ideal, no qual a média da temperatura ambiente não passou de 18 °C e a máxima e mínima foi de 25°C e 11°C. Com estes dados é possível afirmar que leira/montes de compostagem devem apresentar uma altura mínima para que alcance temperaturas acima de 45°C. VALENTE et al. (2009) afirma que de acordo com o material a ser compostado, a altura das leiras devem ser estabelecidas, apresentando uma altura mínima de 0,80m, abaixo disso não existem condições adequadas para a formação e manutenção da temperatura.

Porém, o controle de tamanho de leira/montes, temperatura, umidade não é vista como uma prática usual na maioria das propriedades. A existência

de manejo inadequado, como a disposição dos resíduos em locais inapropriados e a falta de interesse em controlar esses principais fatores, interferem diretamente no processo da compostagem. Presença de patógenos, que possam causar problemas tanto ao homem quanto aos animais, acabam sendo inevitáveis, uma vez que todo o processo acaba não sendo suficiente para eliminá-los.

De acordo com os resultados obtidos a presença de larvas infectantes de terceiro estágio (L3) de *Strongylus* sp. por grama de resíduo (LGR) na amostra inicial do resíduo foi de 25,3. Após a finalização do experimento a quantificação de L3 na parte interna de cada tratamento foi de 18,6 (CASRm), 2,3 (CASRM), 3,3 (CAm), 0,7 (CAM) e zero (CF). Já na parte superficial de todos os tratamentos não foi possível verificar a presença de larvas. Houve diferença estatística ($p < 0,05$) no número de larvas por grama de fezes entre o início e o final na parte central bem como na região superficial dos tratamentos conforme a tabela 1.

Tabela 1 - Larvas por grama de resíduo no início e final na parte central e superficial dos tratamentos.

Tratamentos	Início	LGR*	
		Centro	Superfície
CASRm	25,3 a	18,6 b	0 c
CASRM	25,3 a	2,3 b	0 c
CAm	25,3 a	3,3 b	0 c
CAM	25,3 a	0,7 b	0 c
CF	25,3 a	0 b	0 b

*LGR – larvas por grama de resíduo

Valores seguidos da mesma letra na mesma linha não diferem significamente para o teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

A presença de parasitos na parte central dos tratamentos, a eliminação de ovos viáveis de *Strongylus* sp. não ocorreu de forma efetiva nos três primeiros dias por mais que as temperaturas nas CASRM e CAM se apresentassem superiores a 50°C. Entretanto CARRINGTON (2001) sugere que sete minutos a 70°C, 30 minutos a 65°C, duas horas a 60°C, 15 horas a 55°C ou três dias a 50°C são suficientes para inativação de ovos de helmintos.

No caso da CAM houve uma diminuição de quase 57,7% das L3 na primeira semana de tratamento e no final a redução foi de 97%. Resultados semelhantes foram obtidos por SCHROTTLE (1955), em que relacionava a sobrevivência das larvas infectantes de *Strongylus* sp. a uma temperatura de 40°C em compostagem, e obteve resultados de eliminação das L3 somente após 35 dias de tratamentos. Este mesmo autor afirma que o aumento da temperatura para 50°C diminuiu o tempo de sobrevivência em um terço, o que difere da CAM, em que a eliminação foi maior do que 50%.

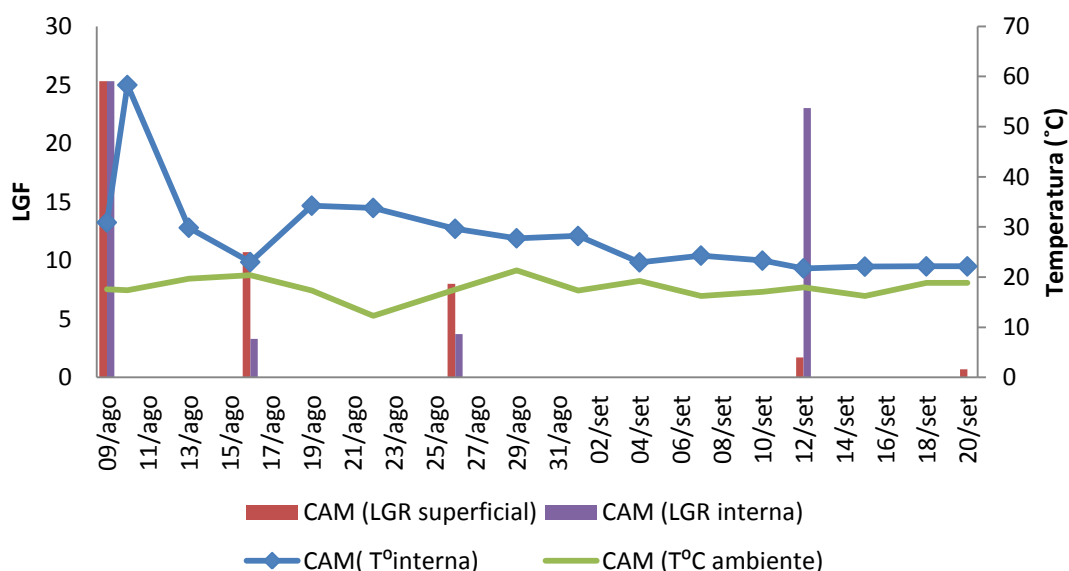


Figura 2 – Larvas por grama de resíduos (LGR) na parte interna e superficial, temperatura interna e ambiente da Compostagem aeróbica maior (CAM).

BRIGGS et al. (2004), afirmam que os ovos de helmintos não conseguem eclodir abaixo de 7°C ao passo que acima de 30°C ou 38°C (KUZMINA, KUZMIN e KHARCHENKO, 2006; COUTO, et al., 2008) as formas L1 morrem rapidamente, não suportando um calor tão acentuado. O que possivelmente possa ter ocorrido também na CASRM, que obteve uma redução de 90% no final de 40 dias de tratamento, mas que não se aplica ao tratamento CASRM que ainda apresentavam um elevado número de larvas na análise final. HAUG (1993) também menciona que os patógenos são destruídos ou controlados por outros fatores como relações ecológicas existentes na massa de compostagem como, por exemplo, a competição.

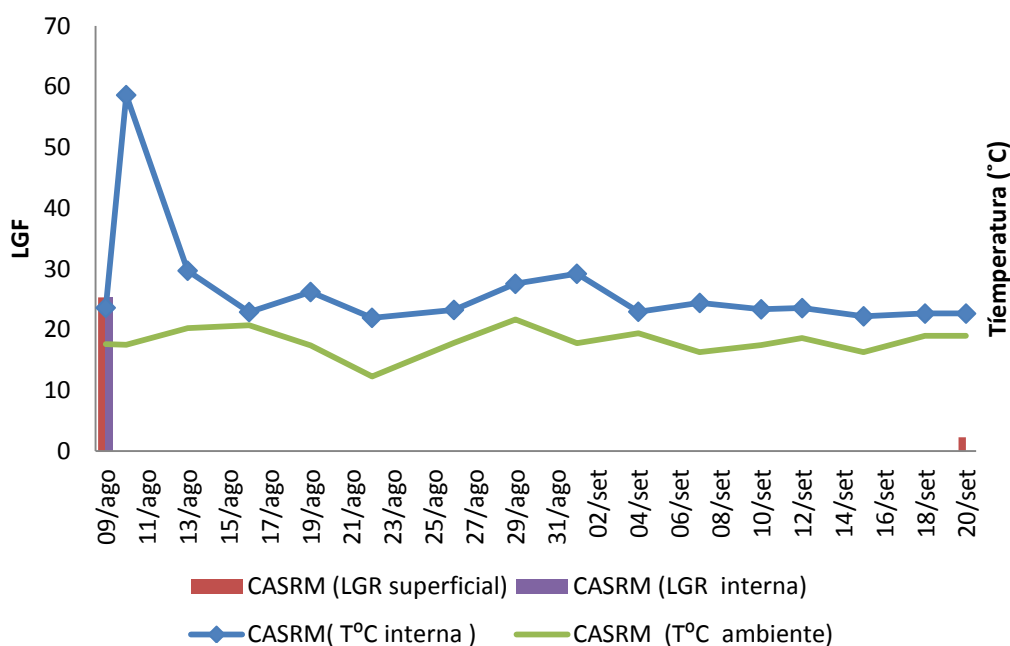


Figura 3 – Larvas por grama de resíduo (LGR) na parte interna e superficial, temperatura interna e ambiente da Compostagem aberta sem revolvimento maior (CASRM).

De acordo com MADEIRA DE CARVALHO et al. (2005), a atividade das L3 aumenta consideravelmente com o aumento da temperatura, esgotando rapidamente as suas reservas. Por este motivo, altas temperaturas promovem

uma mortalidade elevada num curto espaço de tempo, ao passo que baixas temperaturas permitem a sua sobrevivência durante meses.

Na primeira semana a CAM, apresentou um aumento de 18% de eclosão dos ovos de helmintos, isso se deve provavelmente a temperatura interna que se manteve entre 19 e 25°C, o que não foi o suficiente para sua eliminação mas sim para seu desenvolvimento. HUTCHINSON et al. (1989), considera como temperatura ótima para o desenvolvimento de ciatostomíneos a faixa de 10-33°C, o que não explicaria no final deste tratamento a eliminação de 87% dos helmintos, sendo que a temperatura máxima foi de 30,4°C. Importante perceber que as condições ideais para desenvolvimento das larvas não são as ideais para a sua sobrevivência (MADEIRA DE CARVALHO, 2001).

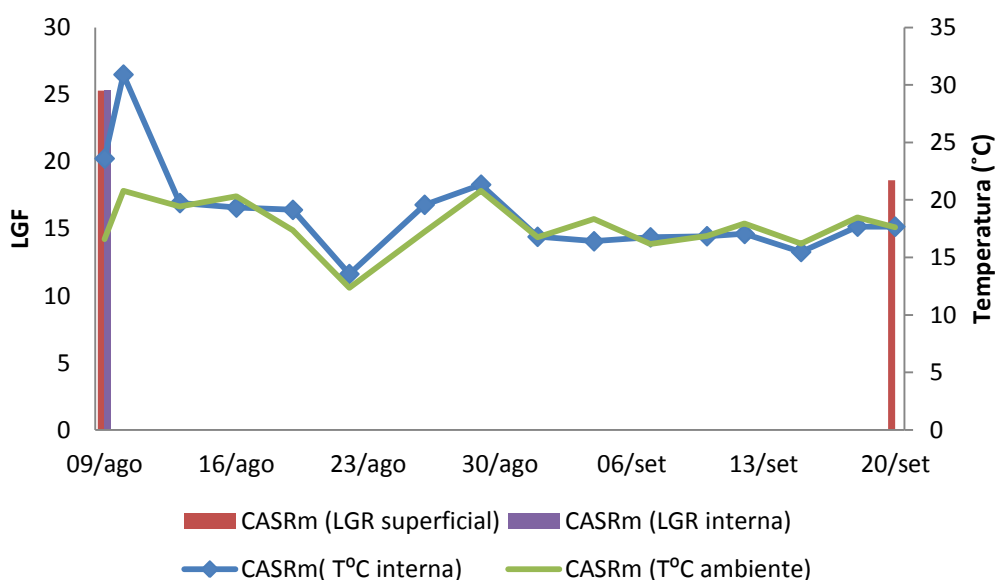


Figura 4 - Larvas por grama de resíduo (LGR) na parte interna e externa, temperatura interna e ambiente da Compostagem aeróbica menor (CAM).

Em relação ao tratamento CASRm a diminuição das larvas infectantes no final, na região interna do composto, foi entorno de 26%. Neste caso, a baixa eliminação, possa ter ocorrido devido às baixas temperaturas que apresentaram do início ao fim da compostagem, que além de influenciar na

sobrevivência e no desenvolvimento larvar, também influenciou no seu comportamento migratório da extremidade para o interior da compostagem. A umidade na parte superficial, que era de 17,55%, foi de grande importância para que ocorresse essa migração de larvas para o interior do composto, que apresentava umidade de 54,86%, indicando o grande número na amostra final. Alguns autores afirmam que em condições desfavoráveis as L3 migram a determinadas profundidades do solo, buscando um refúgio (LYAKU et al., 1988). Outra consideração em relação aos helmintos são suas adaptações morfofisiológicas que caracterizam uma alta resistência aos processos de sanitização (ANDREOLI et al., 2001).

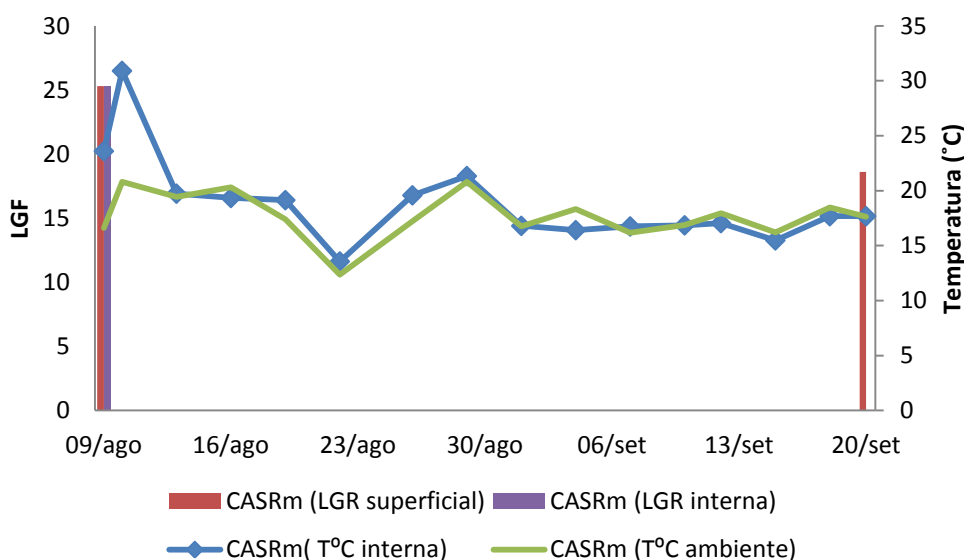


Figura 5 - Larvas por grama de resíduo (LGR) na parte interna e superficial, temperatura interna e ambiente da Compostagem aberta sem revolvimento menor (CASRm).

Neste trabalho o único tratamento que apresentou eliminação de 100% das L3 foi a compostagem anaeróbica. Resultados semelhantes a este trabalho foram observados por FURLONG e PADILHA (1996) com nematóides gastrointestinais de bovinos, no qual o efeito inativante da anaerobiose chegou

próximo a 100% num período de 56 dias. Porém, em outro trabalho realizado por AMARAL et al. (2004) em que avaliaram o processo de biodigestão anaeróbica para tratamento de dejetos de bovinos e obtiveram resultados positivos para larvas L3 de *Haemonchus* spp., *Oesophagostomum* spp. e *Cooperia* spp., mesmo após quarenta dias de tempo de retenção. Segundo OLSON e NANSEN (1987), a digestão anaeróbia mesofílica (35°C) e a termofílica (53°C) aceleraram o processo de inativação de nematóides em relação ao tempo de sobrevivência desses parasitos no armazenamento convencional. CHERNICHARO et al. (2003), afirmam que em digestores anaeróbios ovos de helmintos se apresentam como os mais resistentes, por isso, especificamente no que se refere a eficiência de sanitização, ovos de helmintos têm sido recorrentemente empregados como principais indicadores da eficiência de tal processo. Portanto a sanitização do tratamento CF foi eficiente, pois no composto não foram identificas ovos e L3 de helmintos.

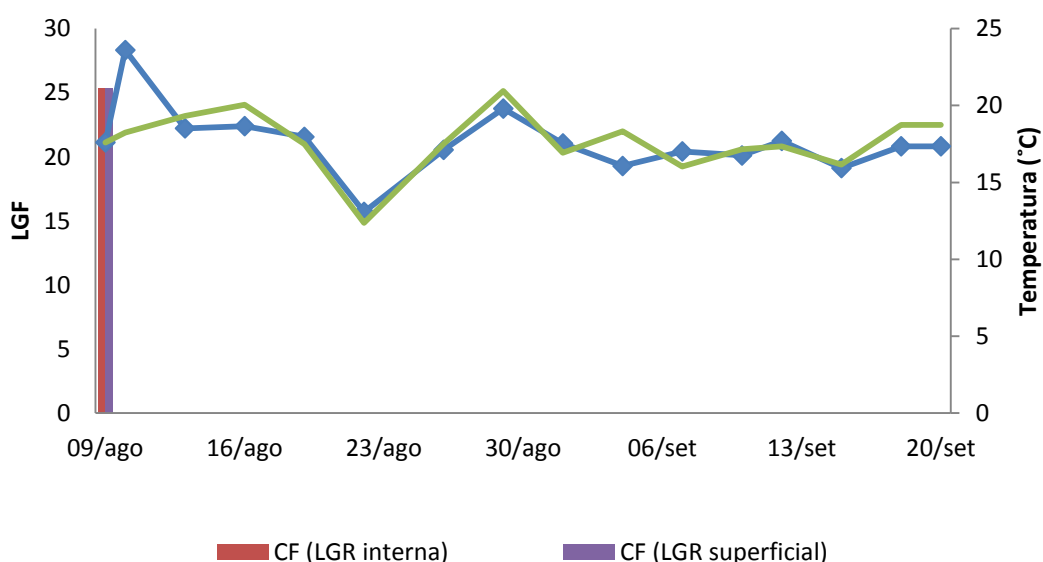


Figura 6 – Larvas por grama de resíduo (LGR) na parte interna e superficial, temperatura interna e ambiente do Biodigestor anaeróbico (CF).

Na parte superficial das compostagens, a amostra final em todos os tratamentos, os achados de L3 foram negativos. O principal fator que contribuiu para este resultado, além da temperatura ambiente que interferiu diretamente nesta região dos montes, foi à umidade. De acordo com COUTO et al. (2008), para o desenvolvimento larvar a umidade mínima deve ser de 30%. No caso dos tratamentos CASRm, CASRM e CAm, a umidade estava relativamente baixa, 17,55%; 20,27% e 29,41% o que contribuiu para que as larvas migrassem para o interior dos tratamentos, no qual apresentava uma umidade superior a 40% ou devido a sensibilidade de ovos e larvas de helmintos apresentam a dessecação, quando encontrados no meio (REY, 1991).

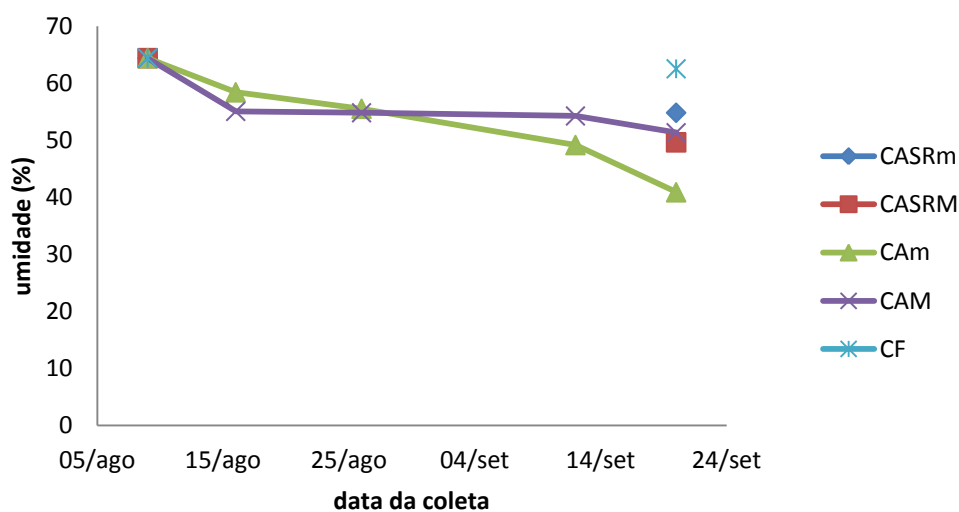


Figura 7 – Valores de umidade (%) da parte interna dos diferentes tratamentos.

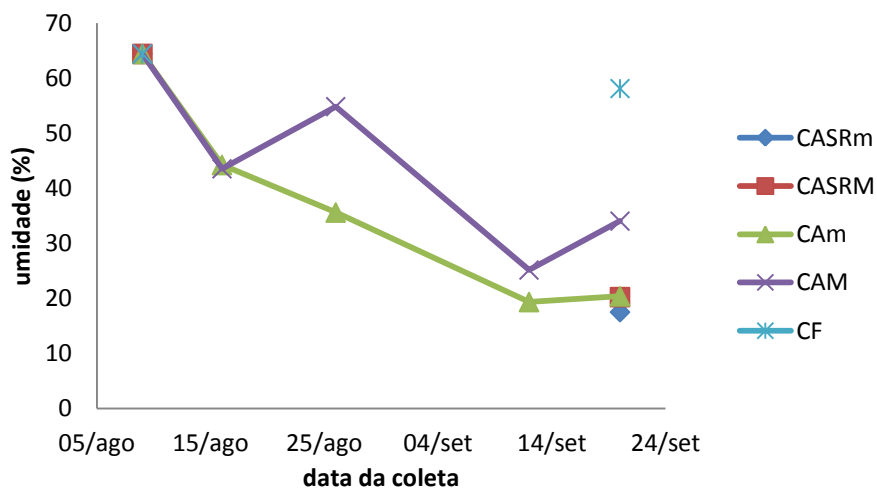


Figura 8 – Valores de umidade (%) da parte superficial dos diferentes tratamentos

Os valores de pH, neste trabalho não obteve valor significativo para a eliminação de ovos e larvas de *Strongylus* sp. Entretanto alguns autores (ILHENFELD et al., 1999) citam como eficiente ferramenta para destruição e/ou inativação e também como o principal responsável pela sanitização absoluta do composto, com relação aos ovos de helminto com valores de pH acima de 10 por um período de 60 dias.

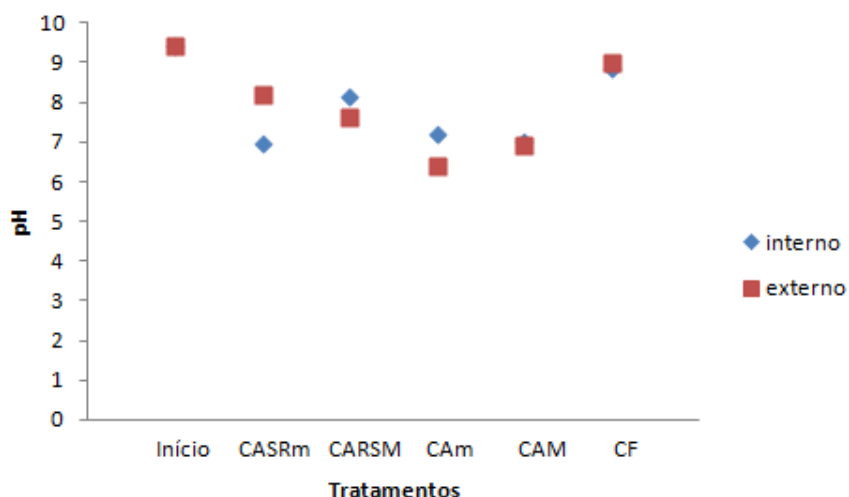


Figura 9 – pH inicial e final da parte interna e superficial dos diferentes tratamentos.

Para o eficaz controle ou eliminação de parasitos nestes tipos de processos, em que materiais com potencial de contaminação estão sendo submetidos, a presença de temperaturas elevadas é imprescindível, além do controle de umidade, tamanho dos montes e o próprio revolvimento. É necessária uma padronização de manejo de resíduos provenientes de centros de treinamento e maiores estudos a respeito das melhores formas de eliminação dos parasitas.

4. CONCLUSÃO

Os resultados indicam que a simples disposição dos resíduos de cocheira sem manejo adequado e em pequenos volumes, não há eliminação total de ovos e larvas infectantes *Strongylus* spp.

O processo de biodigestão anaeróbica em biodigestor mostrou-se de maior eficiência na eliminação dos ovos e larvas infectantes de *Strongylus* spp. comparado com processos de compostagem abertos com ou sem revolvimento.

REFERÊNCIAS

AMARAL, C.V. et al. Biodigestão anaeróbia de dejetos de bovinos leiteiros submetidos a diferentes tempos de retenção hidráulica. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.36, p.1897-1902, 2004.

ANDREOLI, C. V.; PINTO, M. A. T. **Resíduos sólidos do saneamento; processamento, reciclagem e disposição final**. Rio de Janeiro-RJ: RIMA/ABES (PROSAB), p. 282, 2001.

BRIGGS, K.; REINEMEYER, C.; FRENCH, D.; KAPLAN, R. Strongyles: the worst of the worms. **The Horse**, p.15-18, 2004.

CARRINGTON, E.G. Evaluation of sludge treatments for pathogen reduction. Final Report. **Luxembourg: European Communities**, p.44, 2001.

COUTO, M.; QUINELATO, S.; SANTOS, C.; SOUZA, L.; SAMPAIO, I. Environmental influence in cyathostominae ecology. **Veterinarni Medicina**, v.53, p. 243–249, 2008.

FURLONG, J.; PADILHA, T. Viabilidade de ovos de nematódeos gastrintestinais de bovinos após passagem em biodigestor anaeróbio. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.26, p.269-271, 1996.

HAUG, R. T. **The practical Handbook of Composting Engineering**. United States of America: Lewis Publishers, 1993.

HERBETS, R. A., COELHO, C. R. de A.; MILETTI, L. C.; MENDONÇA, M. M. Compostagem de resíduos sólidos orgânicos: aspectos biotecnológicos. **Health and Environment Journal**, v.6, n.1, p.41-50, 2005.

HOFFMANN, R.P. **Diagnóstico de Parasitismo Veterinário**. Editora Sulina. Porto Alegre-RS, p.25, 1987.

HUTCHINSON, G. W.; ABBA, S. A.; MFILODZE, M. W. Seasonal translation of equine strongyle infective larvae to herbage in tropical Australia. **Veterinary Parasitology**, v. 33, n. 3-4, p. 251-263, 1989.

ILHNFELD, R. G. K.; ANDREOLI, C. V.; LARA, A. I. Higienização do lodo de esgoto. In: Programa de Pesquisa em Saneamento Básico. Uso e Manejo do Lodo de Esgoto na Agricultura. - Rio de Janeiro; **PROSAB, Programa de Pesquisa em Saneamento Básico**, p.97, 1999.

KUZMINA, T. A.; KUZMIN, Y. I.; & KHARCHENKO, V. A. Field study on the survival, migration and overwintering of infective larvae of horse strongyles on pasture in central Ukraine. **Veterinary Parasitology**, v.141, p.264-272, 2006.

LYAKU, J. R. S.; MONRAD, J.; KASSUKU, A. A. Larval ecology of bovine strongilid worms in tropical soils. **Tropical Animal Health of Production**, v. 20, n. 1, p. 190-192, 1998

LOVATTO, P. A.; OLIVEIRA, V.; EBERT, A. R. **Suinocultura Geral**. (Desenvolvimento de material didático ou instrucional - Material Didático), 1997.

MADEIRA DE CARVALHO, L.M. **Epidemiologia e controlo da estrogilidose em diferentes sistemas de produção equina em Portugal**. 2001. Tese de Dissertação de Doutoramento, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Técnica de Lisboa. Edição do autor.

MADEIRA DE CARVALHO, L. M., FAZENDEIRO, I. M., & AFONSO-ROQUE, M. M. Estudo do padrão sazonal dos ovos e larvas de strongilídeos do cavalo numa exploração do Ribatejo, através da contaminação de parcelas experimentais em pastagens espontâneas de sequeiro. In A. P. Portuguesa (Ed.), IX Congresso Ibérico de Parasitologia. **Anais**. Faculdade de Farmácia, Universidade de Coimbra, v.12, p. 285, 2005.

OLSON, J.E.; NANSEN, P. Inactivation of some parasites by anaerobic digestion of cattle slurry. **Biological Wastes**, Fayetteville, v.22, p.107-114, 1987.

PEREIRA NETO, J. T.; LELIS, M. P. N. A contaminação biológica na compostagem. In 21º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental. **Anais**. João Pessoa-PB: ABES, 2001.

REY, L. **Parasitologia. Parasitos e doenças parasitárias do homem nas Américas e na África**. 2^a edição. Editora Guanabara Koogan S. A., Rio de Janeiro, p.731, 1991.

ROBERTS, F.H.S.; O'SULLIVAN, P. J. Methods for egg counts and larval cultures for strongylus infecting the gastro-intestinal tract of cattle. **Australian Journal of Agriculture Ressearch**, p. 99-102, 1950.

SCHROTTLE, H. **Ueber die Haltbarkeit von Wurmeier und Wurlarven im Dung**. Veterinary Medicine. Dissertation. University Munchen, 1955.

STRAUCH, D. Animal production and environmental health Science. (World Animal Science B6). Amsterdam: **Elsevier Science Publishers BV**, p.324, 1987.

VALENTE, B.S.; XAVIER, E.G.; MORSELLI, T.B.G.A.; JAHNKE, D.S.; BRUM JR, B.de.S.; CABRERA, B.R.; MORAES, P.O.; LOPES, D.C.N. Fatores que afetam o desenvolvimento da compostagem de resíduos orgânicos. **Archivos de Zootecnia**, v.58, p.59-85, 2009.

VALENTE, B.S. **Tratamento de carcaças avícolasatravés da compostagem**. Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel. Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, p.154, 2008.

CAPÍTULO IV

INFLUÊNCIA DOS METABOLISMOS FERMENTATIVOS E OXIDATIVOS NA
VARIAÇÃO DA POPULAÇÃO BACTERIANA PRESENTE NA
COMPOSTAGEM DE RESÍDUOS DE COCHEIRA

INFLUÊNCIA DO METABOLISMO FERMENTATIVO E OXIDATIVO NA VARIÇÃO DA POPULAÇÃO DE ENTEROBACTÉRIAS PRESENTE NA COMPOSTAGEM DE RESÍDUOS DE COCHEIRA

(Influence of fermentative metabolism and oxidative changes in enterobacter population in this composting waste stable)

RESUMO

Objetivou-se neste trabalho avaliar a influência do metabolismo fermentativo e oxidativo durante a compostagem de resíduos de coqueirana na redução ou eliminação das enterobactérias da Família *Enterobacteriaceae*. Os tratamentos foram compostagem aberta sem revolvimento em menor volume (CASRm) e em maior volume (CASRM), compostagem aberta com revolvimento em menor volume (CAm) e em maior volume (CAM), em três repetições. Os parâmetros monitorados foram temperatura, umidade e contagem em UFC de enterobactérias ao início e final do período experimental. As temperaturas no centro das CASRM e CAM atingiram seu máximo no primeiro dia de avaliação, próximas a 60°C e permaneceram superiores a 50°C somente nos três primeiros dias e no restante do período experimental, se manteve próximo dos 30°C. Nos demais tratamentos, a temperatura permaneceu entre os valores de 30 e 30,4°C, caíndo para temperaturas próximas ao ambiental. À análise microbiológica demonstrou que no início do experimento, a contagem bacteriana foi de 8,04 Log₁₀(UFCg⁻¹). No final do experimento, as partes internas e superficiais dos tratamentos CAM, CAm e CASRm tiveram uma diminuição de: 1,61Log₁₀(UFCg⁻¹) e 0,24Log₁₀(UFCg⁻¹); 1,55Log₁₀(UFCg⁻¹) e 1,9Log₁₀UFCg⁻¹; 2,9 Log₁₀(UFCg⁻¹) e 4,74Log₁₀(UFCg⁻¹), respectivamente. Entretanto, a CASRM apresentou um aumento de 0,86Log₁₀(UFCg⁻¹) na região superficial e uma diminuição de 0,36 Log₁₀(UFCg⁻¹) na parte interna. Os resultados indicam que a simples disposição dos resíduos de coqueira sem manejo adequado e em pequenos volumes, apresentou limitações na redução de UFCg⁻¹ entre os processos utilizados.

Palavras-chave: compostagem, enterobactérias, temperatura

ABSTRAT

The objective of this study was to evaluate the influence of fermentative and oxidative metabolism during composting of waste stable in the reduction or elimination of the Enterobacter the Family *Enterobacteriaceae*. The treatments were: opened composting without revolving in a smaller volume (CASRm) and in larger volume (CASRM), opened composting with revolving in a smaller volume (CAm) and in larger volume (CAM), in three replicates. The parameters monitored were temperature, humidity and Enterobacteri count at the beginning and end of the experiment. Temperature at the center of CAM and CASRM

reached a maximum on the first day, approximately 60 °C, remaining over 50 °C only in the first three days. In the others treatments the maximum temperature was between 30 °C. In other treatments, the temperature remained between the values of 30 and 30.4 °C, temperatures dropped to near the environmental. Microbiological analysis showed that at the beginning of the experiment, the bacterial count was 8.04 Log₁₀ (UFCg⁻¹). At the end of the experiment the internal parts and surface treatment of CAM, CAM and CASRm had a decrease of 1.61 Log₁₀ (UFCg⁻¹) and 0.24 Log₁₀ (UFCg⁻¹), 1.55 Log₁₀ (UFCg⁻¹) and 1.9 Log₁₀(UFCg⁻¹), 2.9 Log₁₀ (UFCg⁻¹) and 4.74 Log₁₀ (UFCg⁻¹), but the CASRM had increased to 0.86 Log₁₀ (UFCg⁻¹) in the surface region and a decrease of 0.36 Log₁₀ (UFCg⁻¹) on the inside. The results indicated that the simple disposal of stable waste without a proper management and in a small volume, was not effective in reducing UFCg⁻¹ between the procedures used.

Key words: composting, enterobacter, temperature

1. INTRODUÇÃO

A contaminação ambiental por dejetos de animais de sangue quente constitui um dos maiores problemas relacionados à poluição fecal de rios, lagos e mananciais, afetando igualmente tanto áreas rurais quanto urbanas. São inúmeros os estudos relacionados aos problemas causados por resíduos provenientes da produção animal, porém, são poucos os que abordam especificamente o impacto causado pela equideocultura.

Deve-se considerar como resíduos de origem animal as excretas (fezes e urina), substrato de apoio (cama), águas servidas, sangue, saliva, secreções nasais, vaginais, da glândula mamária, pele e placenta. Os microorganismos potencialmente presentes nestas secreções, muitos de natureza zoonótica, acumulam-se no piso dos celeiros, podendo infectar outros animais ou humanos. Aparentemente, animais sadios podem apresentar até 10⁷ unidades formadoras de colônia por grama (UFCg⁻¹) de fezes, sendo que, em média, o

esterco contém 10^{10} UFCg⁻¹, acima da dose infectante de vários patógenos (PELL, 1997).

A utilização desses resíduos como fertilizantes no solo sem tratamento prévio podem acarretam sérios riscos de contaminação e infecção para os animais que pastam e para o ser humano que entra em contato direto. Segundo CRANE (1980), esses dejetos podem ser levados às fontes de água superficiais e subterrâneas, principalmente através das chuvas, comprometendo a qualidade microbiológica de mananciais.

Uma das principais formas para o tratamento adequado dos resíduos de origem animal antes de ser despejado no meio ambiente, sendo o mais utilizado atualmente, é a compostagem. Este método constitui-se um dos mais antigos processos de reciclagem de resíduos orgânicos grosseiros, como palha e estrume, em materiais orgânicos utilizáveis na agricultura.

Durante esse processo, a liberação de calor é uma propriedade geral do crescimento de microrganismos independentemente da natureza da fonte de carbono ou se o processo é aeróbico ou anaeróbico. Os dados da literatura têm mostrado que a velocidade de produção de calor em fermentações pode ser útil de diversas maneiras, tanto na pesquisa acadêmica como em aplicações industriais. As correlações gerais entre produção de calor e vários outros parâmetros sugerem que a velocidade de produção de calor pode ser usada como uma medida para monitorar, em tempo real, fermentações, consumo de oxigênio ou a velocidade de produção de CO₂ (VOLPE, 1996).

Algumas das causas da ineficiência dos processos de compostagem, no que diz respeito à eliminação de microrganismos patogênicos, podem estar relacionadas ao método utilizado. Outros fatores como a eficácia dos

processos biofísicos e bioquímicos da degradação da matéria orgânica e as interpretações errôneas sobre o tempo e temperatura necessárias para a inativação desses agentes contaminantes devem ser levados em conta (PEREIRA NETO, 2001).

O presente trabalho objetivou-se avaliar a influência do metabolismo fermentativo e oxidativo durante a compostagem de resíduos de coqueirana na redução ou eliminação das enterobactérias da Família *Enterobacteriaceae* fermentadoras de glicose.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido no período de 09 de agosto a 20 de setembro de 2011 com resíduos de coqueiras (fezes, urina e serragem) de cavalos pertencentes ao Regimento da Polícia Montada Coronel Dulcídio (RPMon), Curitiba/Pr. O material recém coletado no momento da limpeza e troca de camas de oito coqueiras foi transportado para um galpão fechado no Departamento de Zootecnia da Universidade Federal do Paraná (UFPR).

Os resíduos foram organizados em formas de compostagens e em diferentes volumes. Os tratamentos foram: compostagem aberta sem revolvimento em menor volume (CASRm), e em maior volume (CASRM), compostagem aberta com revolvimento em menor volume (CAm) e em maior volume (CAM) .

Para cada tratamento foram utilizados três repetições contendo 9,5 kg de resíduos para os de menor volume e 152 kg para os de maior volume, depositados sobre bandejas de metal e isoladas do chão por isopor. A altura e

a largura das compostagens foram aproximadamente de 1,37 X 0,52m e de 0,60 X 0,24m, para as de maior e de menor volume respectivamente.

A aferição da temperatura interna e do ambiente foi por meio sensores térmicos de termômetros digitais (Termômetro Digital para Ambiente com Relógio Tr 34 Western), alocados no interior (altura média) de todas as repetições. As temperaturas eram anotadas diariamente às 8 horas da manhã e às 17 horas da tarde. O revolvimento manual dos processos (CAM e CAm) ocorriam no momento em que a temperatura interna estabilizava-se por três dias.

As amostras para análise microbiológica, umidade e pH do resíduo, foram coletadas no início do tratamento e, no final, quando a temperatura interna estabilizou-se. As amostras para as análises microbiológica foram identificadas e armazenadas em caixas de isopor isotérmicas em temperatura controlada contendo gelo reciclável e transportada até o Laboratório de Microbiologia e Ornitopatologia da Universidade Federal do Paraná (UFPR). As amostras para as análises de umidade e pH, foram devidamente lacradas, identificadas e em seguida enviadas para o Laboratório de Nutrição Animal da UFPR.

A metodologia utilizada para a contagem de enterobactérias (UFC/g) foi realizada através das recomendações dos métodos analíticos do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Normativa n. 62 de 2003). A diluição da amostra foi de 10^{-1} até 10^{-9} , sendo semeadas em triplicata pela técnica de semeadura em profundidade “pour plate” com a adição de uma segunda camada de meio “overlay”, utilizando para isso Ágar Cristal Violeta Vermelho Neutro Bile Glicose (VRGB). As placas foram incubadas a 35-37°C/24h e após

este período as colônias de coloração vermelhas foram contadas nas placas com diluição em que se apresentavam.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A temperatura mínima, máxima e média do ambiente no período experimental foi de 12°C; 25°C e 18,5°C, sendo que a temperatura interna dos tratamentos teve uma média inicial de 23,5°C e no final estabilizaram em 17,6°C (CASRm); 23,4°C (CASRM); 18,3°C (CAm) e 22,9°C (CAM). O pico de elevação ocorreu no primeiro dia do período experimental, no qual as CASRM e CAM apresentaram temperatura de 60,7°C e 58,8°C e as CASRm e CAm de 30,9°C e 30,4°C e a mínima interna identificada foi 13,5°C (CASRm); 20,3°C (CASRM); 15,8°C (CAm) e 20,2°C (CAM).

Nas primeiras 24 horas ocorreu uma queda de aproximadamente 8°C nos tratamentos CASRM e CAM, mantendo-se superior a 50°C somente nos três primeiros dias no qual se manteve entre 20 e 30°C até o final do experimento, e uma diminuição de 3°C nos demais, após permaneceram próxima a temperatura ambiente. Após 40 dias o ciclo de compostagem foi finalizado, como base do término foi considerada a estabilização de cinco dias das temperaturas dos tratamentos. Os resultados referentes à temperatura no interior dos tratamentos durante o período de compostagem estão representados na Figura 1.

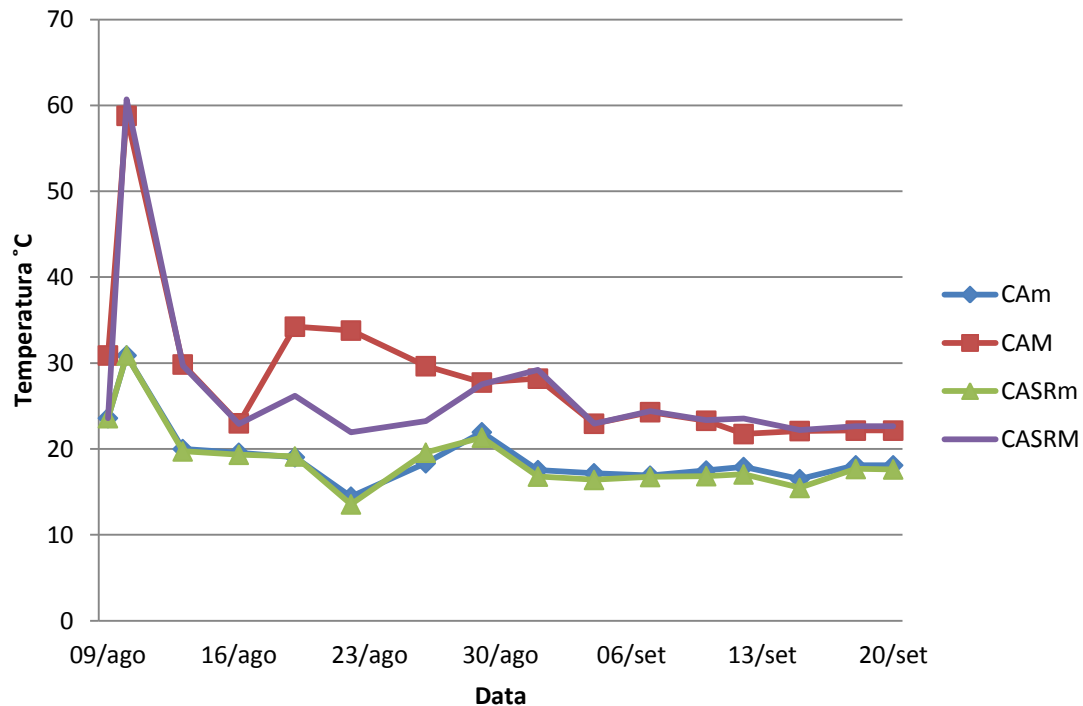


Figura 1 - Temperatura média da parte interna observada durante o processo de compostagem do material.

A análise microbiológica demonstrou que no início do experimento a contagem bacteriana foi de $8,04 \text{ Log}_{10} (\text{UFCg}^{-1})$ e os valores obtidos na parte central e superficial da amostra no final do experimento estão representados nas figuras 2 e 3.

De acordo com KIEHL (1998), temperaturas entre $55 \text{ }^{\circ}\text{C}$ e $60 \text{ }^{\circ}\text{C}$ por um ou dois dias são letais para todos os vírus patogênicos, bactérias, protozoários (inclusive cistos) e ovos de helmintos. No entanto os resultados encontrados nesse experimento mostram-se diferentes a afirmação desse autor, apesar das temperaturas das CAM e CASRM ficarem entre $50\text{-}60 \text{ }^{\circ}\text{C}$ durante três dias. Para ABOUELWABA et al. (2008), a compostagem pode ser efetivo na redução da concentração de patógenos, mas nem sempre consegue alcançar a sanitização do material.

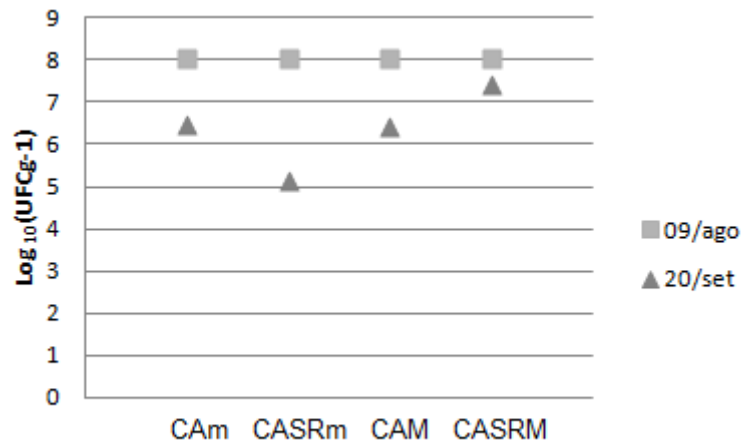


Figura 2 – Contagem de bactéria ($\text{Log}_{10} \text{UFCg}^{-1}$) obtidos da região interna dos tratamentos no início e final do experimento.

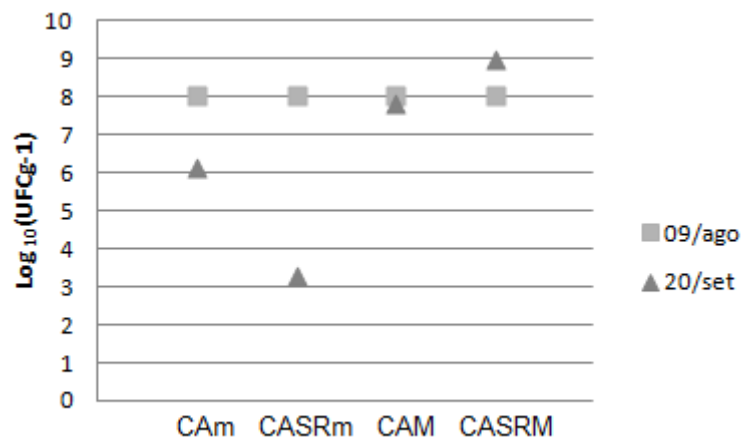


Figura 3 – Contagem de bactéria ($\text{Log}_{10} \text{UFCg}^{-1}$), da região superficial dos tratamentos no início e final do experimento.

A temperatura interna do CAM alcançou $58,8^{\circ} \text{C}$ enquanto que a do CAm $30,4^{\circ} \text{C}$. As diferenças entre os dois processos utilizados demonstraram que os volumes maiores de compostagem possibilitaram em sua parte mais interna a ativação do processo fermentativo anaeróbico responsável pela geração de calor e elevação da temperatura interna por mais tempo permanecendo a mesma elevada por 3 dias após o início do experimento. Este metabolismo fermentativo anaeróbico possivelmente teve efeito redutor da população

bacteriana inicial local simulando um processo “pasteurizante” de desinfecção, porém não esterilizante.

Ao verificarmos o mesmo processo fermentativo ocorrendo no CAM constata-se que as temperaturas internas não atingiram os mesmos níveis atingidos no CAM, provavelmente devido a perda rápida de calor para o meio exterior. Sem as temperaturas em níveis mais altos o efeito pasteurizante e desinfetante não ocorreu de maneira efetiva no CAM. A diminuição verificada em relação à amostra retirada antes do tratamento e após, na parte interna da CAM foi de $1,61 \text{Log}_{10} (\text{UFCg}^{-1})$ enquanto que a CAM foi de $1,55 \text{Log}_{10} (\text{UFCg}^{-1})$ (Figura 4 e 5). Obviamente o metabolismo bacteriano fermentativo mostrou-se mais efetivo internamente no CAM devido a espessura da camada de compostagem com o meio exterior, retendo as temperaturas por mais tempo ao serem geradas no processo metabólico fermentativo.

Fatores como o revolvimento da CAM, com a adição de oxigênio e um leve aumento de temperatura no interior, provavelmente levou a uma reativação e aceleração na multiplicação bacteriana (JIANG e CHAI, 1996), conseqüentemente a competição por nutrientes acabou sendo determinantes para a redução das mesmas (RECORBET et al, 1992;. SODA et al., 1998). Na fermentação anaeróbica ocorre uma diminuição populacional devido ao efeito pasteurizante da temperatura e um aumento populacional na superfície devido ao metabolismo aeróbico na superfície do empilhamento.

Após a cessação do processo fermentativo monitorado através da medição de temperaturas que se mantiveram estáticas por um período de três dias, tanto o CAM quanto o CAM sofreram revolvimento completo. O momento de decisão de executar o revolvimento obedeceu a constatação da

estabilização da temperatura interna. Após este manuseio, novamente na região interna dos dois empilhamentos (CAM e CAM) iniciou-se o metabolismo anaeróbico gerador de calor interno (Figura 1).

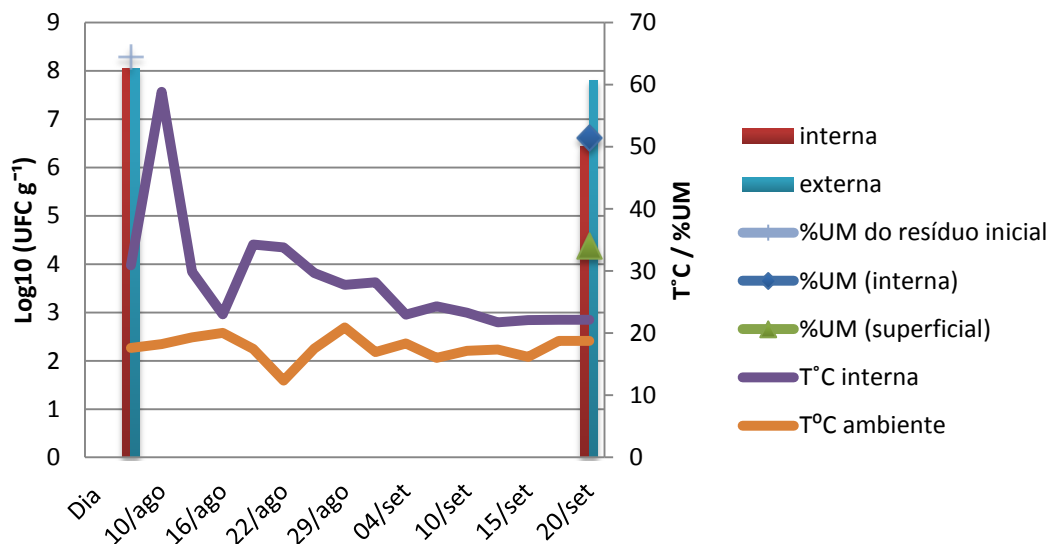


Figura 4 – Unidades formadoras de colônias (UFCg⁻¹), umidade e temperatura na região interna e superficial da compostagem aeróbica (CAM).

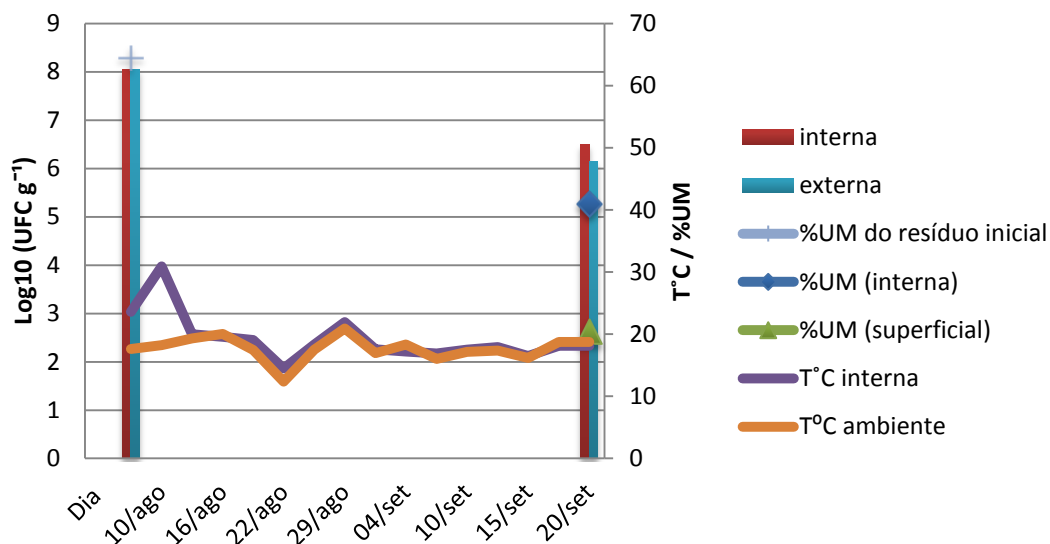


Figura 5 – Unidades formadoras de colônias (UFCg⁻¹), umidade e temperatura na região interna e superficial da compostagem aeróbica menor (CAm).

Foram assim, realizados três revolvimentos seguidos e no final realizaram-se as contagens bacterianas em UFC/g. As alternâncias de

metabolismo fermentativo internamente com metabolismo aeróbico na superfície do monte provocaram diminuição populacional de uma forma geral. Enquanto que na região superficial dos tratamentos, expostos ao oxigênio atmosférico, houve o estímulo ao crescimento bacteriano e maior consumo de nutrientes (RECORBET et al, 1992;. SODA et al., 1998). o que foi verificado com a contagem bacteriana. DENG e CLIVER (1992) afirmam que a aeração são essenciais para diminuir os níveis de bactérias na compostagem de dejetos de animais.

Na região superficial dos dois processos, observou-se uma população bacteriana maior na CAM ($7,8 \text{ Log}_{10}\text{UFCg}^{-1}$) com diminuição de $0,24 \text{ Log}_{10}(\text{UFCg}^{-1})$ quando comparada a CAm ($6,14\text{Log}_{10}\text{UFCg}^{-1}$) com diminuição $1,9\text{Log}_{10}(\text{UFCg}^{-1})$. Já na CAM, devido às dimensões do empilhamento, conservação da umidade interna bem como das alternâncias metabólicas de baixo crescimento populacional no interior anaeróbico alternado de alto crescimento bacteriano superficial (devido aos revolvimentos), houve uma maior conservação das reservas de nutrientes disponíveis e conseqüentemente uma maior reserva para sustentar o crescimento bacteriano superficial (JIANG e CHAI, 1996). O calor gerado no interior deste empilhamento provocou o fenômeno de estufa com o conseqüente aumento populacional. Esta diferença observada provavelmente se deu ao fator pasteurizante das temperaturas mais altas observadas na CAM, enquanto que na CAm isto não foi observado.

A manutenção da umidade interna final foi maior no CAM do que no CAm devido as dimensões do empilhamento. Este resultado já era de se esperar, atingindo 51,36% no CAM enquanto que no CAm foi de 40,92%.

Provavelmente as temperaturas mais elevadas no CAM possibilitam uma maior perda de água tendo ocorrido a desidratação do substrato.

Segundo NICHOLSON, WEBB e MOORE (2005), a redução dos agentes patogénicos é significativamente melhorada por meio de aquecimento que ocorre durante a compostagem ou de arejamento, pH alto ou baixo e umidade. Portanto, para maximizar a redução de patógeno nos resíduos orgânicos deve-se permitir que a compostagem atinja uma temperatura elevada, se possível por um mínimo de 4 semanas de tratamento para assegurar a redução significativa de bactérias e evitar a adição contínua de esterco fresco/excreta, pois aumenta a disponibilidade de nutrientes no composto.

Outros fatores importantes na maior eficiência do processo de eliminação bacteriana de substratos a serem metabolizados seria realizá-lo quando as temperaturas ambientais atingissem uma média de 20°C possibilitando um crescimento bacteriano maior tanto na superfície exposta do “empilhamento” ajustando a umidade do substrato através de irrigações ou hidratações frequentes. Assim, o efeito da geração de calor se manteria por mais tempo e o efeito “pasteurizante” seria maior.

Na parte interna da CASRM a temperatura interna atingiu inicialmente 60,7°C mantendo-se acima de 50°C durante os três primeiros dias verificando-se a seguir uma diminuição desta temperatura para 25-30°C durante os 40 dias (Figura 6), apresentando dimensões de 1,37m de largura por 0,52m de altura. No entanto a CASRM apresentou temperatura interna inicial de 30,4°C nos três primeiros dias e após começaram a se igualar a temperatura ambiente até o final do experimento (Figura 6), este tratamento apresentava dimensões de

0,50m de largura por 0,24m de altura, portanto bem menor que as dimensões do anterior.

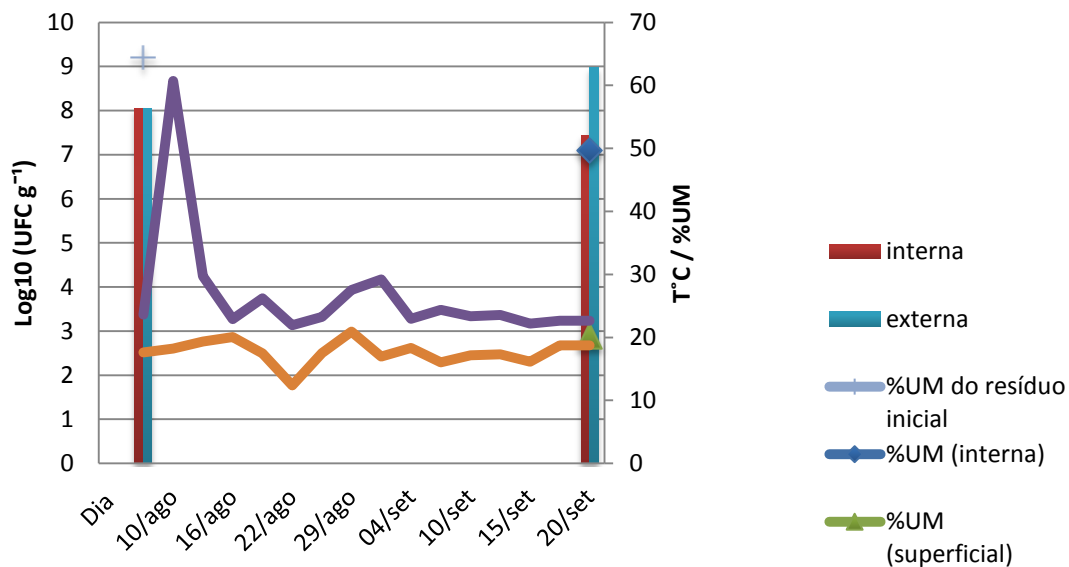


Figura 6 – Unidades formadoras de colônias (UFCg⁻¹), umidade e temperatura na região interna e superficial da compostagem aberta sem revolvimento maior (CASRM)

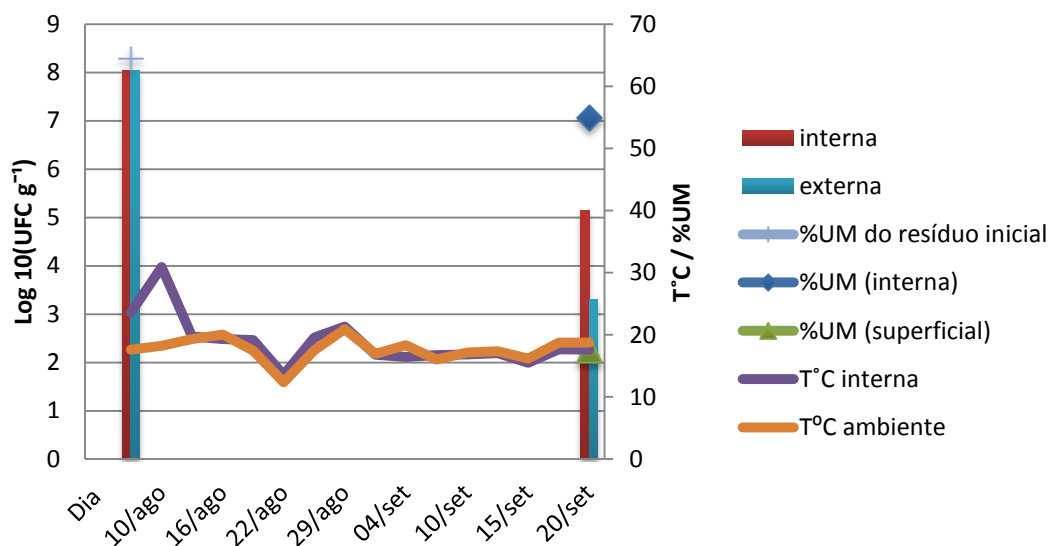


Figura 7 – Unidades formadoras de colônias (UFCg⁻¹), umidade e temperatura na região interna e superficial da compostagem aberta sem revolvimento menor (CASRM).

O monitoramento das temperaturas internas destas duas compostagem deram importantes informações a respeito do metabolismo bacteriano ali ocorrido, tendo em vista as dimensões dos dois tratamentos. No CASRM a produção de calor gerado pelo metabolismo anaeróbico conservou-se por 3 dias consecutivos tendo diminuído após o terceiro dia por possível exaustão local de nutrientes ou mesmo por diminuição deste metabolismo devido a algum produto orgânico localmente formado inviabilizando o crescimento bacteriano a semelhança do que normalmente ocorre durante a fermentação ácido-mista verificada entre os coliformes.

Pode-se inferir que as dimensões nos dois tratamentos influenciaram muito na manutenção e na geração de calor interno provocado pelo metabolismo fermentativo. Verificou-se isto no presente experimento, ou seja, “maiores dimensões retêm por mais tempo o calor gerado” (Figura 1).

Por outro lado, dimensões menores de empilhamento igualmente possibilitaram o metabolismo gerador de calor, porém, este se perde rapidamente para o meio exterior devido a pequena espessura do centro ao meio exterior ambiental (VOLPE, 1996). Em outras palavras, o calor gerado é rapidamente perdido ao meio exterior não dando tempo de retenção e medição confiável. O calor gerado é rapidamente formado e rapidamente perdido. Igualmente ficam prejudicadas as tomadas de temperaturas internas quando as temperaturas do meio exterior forem muito baixas.

Quanto ao monitoramento bacteriano populacional na região interna, as contagens bacterianas em UFC/g na CASRM foram mais baixas que as obtidas no experimento CASRM, ocorrendo uma diminuição de $2,9 \text{ Log}_{10}\text{UFCg}^{-1}$ (CASRM) e $0,6 \text{ Log}_{10}\text{UFCg}^{-1}$ (CASRM). Sabendo-se que no metabolismo

aeróbio ocorre a predominância de crescimento celular com conseqüente exaustão de nutrientes e declínio populacional por “inanição nutricional”, pode-se interpretar os resultados obtidos de contagens bacterianas menores justamente porque houve o predomínio do metabólico oxidativo (respiratório) sobrepujando o metabolismo fermentativo. As pequenas dimensões deste tratamento possibilitaram a penetração do oxigênio atmosférico o que levou ao crescimento bacteriano de forma interrupta e a exaustão dos nutrientes como conseqüência final. O metabolismo fermentativo interno mesmo ocorrendo de forma menos eficiente pôde gerar calor provocando temperaturas em torno de 30°C, possibilitando assim o crescimento bacteriano aeróbico superficial ao assumir o papel de “estufa” geradora de calor.

O parâmetro da baixa umidade também poderia ter influenciado no crescimento populacional de forma a assumir um papel deletério no crescimento populacional no final do experimento. Já no experimento CASRM as contagens foram maiores devido provavelmente ao predomínio do metabolismo fermentativo sobre o metabolismo aeróbio que não exauriu os nutrientes com maior eficiência. Houve, portanto um início com boa geração de calor atingindo 60,7 °C, provocando o efeito pasteurizante. Porém após o terceiro dia, houve diminuição desta temperatura interna. O abafamento deste tratamento e a diminuição da temperatura que ficou entre 25-30 °C e umidade próxima a 50 % mantiveram a população bacteriana viável até o fim do experimento. O efeito “pasteurizante”, mas não esterilizante ocorrido no interior deste empilhamento não exerceu um papel suficientemente bactericida, mantendo a população bacteriana “protegida” no seu interior. Evidentemente houve a produção de calor que possibilitou o crescimento bacteriano superficial

com exaustão de nutrientes na periferia deste empilhamento, mas esta exaustão não possibilitou a diminuição da população bacteriana inicial.

Já nas regiões externas dos dois processos, observou-se uma população bacteriana maior na CASRM (8,98 Log₁₀UFC/g) quando comparada a CASRm (3,30Log₁₀UFC/g). Provavelmente na CASRm o crescimento bacteriano populacional sofreu constante influência do oxigênio atmosférico tendo em vista as dimensões menores do “monte”o que possibilitou um maior crescimento e um esgotamento maior dos nutrientes bem como uma maior desidratação. Já no CASRM, devido às dimensões do empilhamento, conservação da umidade interna bem como das alternâncias metabólicas de baixo crescimento populacional no interior anaeróbico alternado de alto crescimento bacteriano superficial (devido aos revolvimentos), houve uma maior conservação das reservas de nutrientes disponíveis e conseqüentemente um maior reserva para sustentar o crescimento bacteriano superficial. O calor gerado no interior deste empilhamento provocou o fenômeno de estufa com o conseqüente aumento populacional na região superficial do empilhamento.

De acordo com SUTTON (1983), existem gradientes de temperaturas dentro dos montes de tratamentos, sendo aeróbica na região periférica e anaeróbica quando direcionado ao centro da pilha. Este mesmo autor afirma que microrganismos apresentam diferentes taxas de sobrevivência nessas zonas, quanto mais perto da periferia maiores são as chances de sobrevivência dos microrganismos. O que poderia explicar o aumento de na região superficial no final do tratamento da CASRM e a baixa diminuição da CAM.

Autores como CHMIELEWSKY e FRANK (1995) e BOGOSIAN et al. (1996), afirmam que o estresse induzido pela baixa disponibilidade de

nutrientes, baixas temperaturas e as baixas umidades podem reduzir o metabolismo microbiano. No entanto, mesmo que mudanças parciais no ambiente, tais como aumento temperatura, pode levar a reativação e aceleração da multiplicação de células (JIANG e CHAI, 1996).

Em um trabalho realizado por MASON et al. (2004), a respeito do tratamento de esterco bovino através da compostagem aerada durante dois meses, detectaram a presença de 10^6 a 10^5 coliformes/g, resultados semelhantes foram obtidos na parte interna dos tratamentos CAM e CASRM, com $2,7 \times 10^6$ e $2,8 \times 10^7$ UFCg⁻¹. Estes mesmos autores afirmam que mesmo chegando a temperaturas elevadas não houve destruição efetiva dos agentes patogênicos de origem entérica.

Embora a eliminação dos patógenos pelo sistema de compostagem seja bem documentada as condições de tempo e temperatura, necessárias para conseguir a eliminação ou redução do número de células de *E. coli*, varia extensamente (GONÇALVES, 2007). RÜPRICH (1994), também afirma que a taxa de sobrevivência das bactérias presentes no composto, quando adicionadas no solo, vai depender da origem do resíduo orgânico, espécies microbianas e do método utilizado para o tratamento do resíduo orgânico de origem animal.

Pesquisas recentes mostram que *E. coli* e *Enterococcus* spp. a partir de dejetos de suínos quando não destruídos totalmente durante o tratamento podem sobreviver no solo por períodos de até 40-68 dias após a aplicação (SHRESHTA et al, 1997; COOLS, 2001). ESTRADA et al. (2004), encontraram que a maioria das populações de *E. coli*, coliformes e enterobactérias foram detectadas em solo adubado com lodo de esgoto tratado após 80 dias. Estes

resultados mostraram que, quando não são destruídas durante o tratamento dos resíduos, a sobrevivência das bactérias após a adição do composto nos solos depende mais da disponibilidade de nutrientes do que das condições climáticas.

A redução dos números de patógenos no produto final, que será retornado ao solo, é um fator importante, pois a ocorrência de altos níveis de bactérias do grupo coliformes presentes na água de consumo pode sujeitar as propriedades a maiores taxas de incidência de doenças nos animais, com conseqüente aumento da mortalidade e diminuição da produtividade (GONÇALVES e MARIN, 2007).

4. CONCLUSÃO

Os resultados indicam que a simples disposição dos resíduos de cocheira sem manejo adequado e em pequenos volumes não apresentou eficiência na redução na formação de colônias de enterobactérias entre os processos utilizados.

Fatores como revolvimento, temperatura elevada por até três dias, dimensões dos montes não se mostrou eficiente na eliminação total das enterobactérias.

REFERÊNCIAS

ABOUELWafa, R., G.A, BADDI, S. SOUABID, P. WINTERTON, J. CEGARRA AND M. HAFIDI. Aerobic biodegradation of sludge from the effluent of a vegetable oil processing plant mixed with household waste: physical-chemical, microbiological and spectroscopic analysis. **Bioresource Technology**, 99: 8571-8577, 2008.

BOGOSIAN, G., SAMMONS, L.E., MORRIS, P.J.L., O'NEILL, J.P., HEITKAMPF, M.A., WEBER, D.B. Death of *Escherichia coli* K12 strain W3110 in soil and water. **Applied. Environmental Microbiology**, v.62, p.4114–4120, 1996.

CARROL, E.J.; JASPER, D.E. Distribution of Enterobacteriaceae in recycled manure bedding on California dairies. **Journal of Dairy Science**, v.61, p.1498-1508, 1978.

CHMIELEWSKY, R.A.N., FRANK, J.F. Formation of viable but nonculturable *Salmonella* during starvation in chemically defined solutions. *Lett. Appl. Microbiol.*, v. 20, p.380–384, 1995.

COOLS, D.. **Manure-derived antibiotic resistant bacteria: survival in soil and contamination of crop roots**. Ph.D. Thesis, Katholieke Universiteit Leuven, Belgium, 2001.

CRANE SR, WESTERMANN PW, OVERCASH MR. Die-off of fecal indicator organisms following land application of poultry manure. **Journal of Environmental Quality**, p. 531-537, 1980.

DENG, M. Y.; CLIVER, D. O. Persistence of inoculated hepatitis A virus in mixed human and animal wastes. **Applied Environmental Microbiology**, v. 61, n. 1, p. 87-91, 1995.

ESTRADA, I., ALLER, A., ALLER, F., GO'MEZ, X., MORAN, A. The survival of *Escherichia coli*, faecal coliforms and enterobacteriaceae in general in soil treated with sludge from wastewater treatment plants. **Bioresource Technology**. v.93, p.191–198, 2004.

GONÇALVES, V. P.; Marin, J.M. . Fate fo non O157 Shiga toxigenic *Escherichia coli* in composted cattle manure. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 59, p. 825-831, 2007.

HASSEN, A.; BELGUITH, K.; JEDIDI, N.; CHERIF, A. Microbial characterization during composting of municipal solid waste. **Bioresource Technology**, Barking, v.80, p.217-25, 2001.

JIANG, X., CHAI, T-J. Survival of *Vibrio parahaemolyticus* at low temperatures under starvation conditions and subsequent resuscitation of viable, non-culturable cells. **Applied Environmental Microbiology**, v.62, p.1300–1305, 1996

KIEHL, E. J. *Manual de Compostagem*. Piracicaba: Editora Ceres, 1998.

KUDVA, I.T.; BLANCH, K.; HOVDE, C.J. Analysis of *Escherichia coli* O157:H7 survival in ovine or bovine manure and manure slurry. **Applied and Environmental Microbiology**, v.64, p.3166-3174, 1998.

MASON I.G., MOLLAH M.S., ZHONG M.F., MANDERSON G.J. (2004): Composting high moisture content bovine manure using passive aeration. **Compost Science Utilization**, v.12, p. 249–267.

NICHOLSON F.A., GROVES S.J., CHAMBERS B.J.: Pathogen survival during livestock manure storage and following land application. **Bioresource Technology**, v.96, p.135–143, 2005.

PELL, N. A. Manure and microbes: public and animal health problem?. **Journal of Dairy Science**, Ithaca, v. 80, n. 10, p. 2673-2681, 1997.

PEREIRA NETO, J. T.; LELIS, M. P. N. A Contaminação Biológica na Compostagem. In: 21º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, 2001, João Pessoa-PB. Anais do 21º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, 2001

RECORBET, G., STEINBERG, C., FAURIE, G. Survival in soil of genetically engineered *Escherichia coli* as related to inoculum density, predation and competition. **FEMS Microbiology Letters**, v.101, p.251–260, 1992.

RÜPRICH, A. **Felduntersuchungen zum Infiltrationsvermögen und zur Lebensfähigkeit von Fäkalkeimen in Boden nach Gülledüngung**. Ph.D. Thesis. University of Hohenheim, Germany, 1994.

SHRESHTA, S., KANWAR, R.S., CAMBARDELLA, C., MOORMAN, T.B., LOYNACHAN, T.E.,. Effect of swine manure application on nitrogen and bacterial leaching through repacked soil columns. In: Proceedings of the 1997 ASAE **Annual International Meeting**, St. Joseph, MI, 1997.

SODA, S., WATATANI, H., IKE, M., FUJITA, M. Factors affecting the survival of exogenous bacteria in microbial ecosystems: existence of indigenous bacteria with antagonistic activity **Biocontrol Science**. V.3, p.63–72, 1998.

SUTTON, M.D. Phytopathogens and weed seeds in manure. In: Nation Research Council of Canada Associate Committee on Scientific Criteria for Environmental Quality, Farm Animal Manures in the Canadian Environment. Ottawa, Ont., p. 109–114, 1983.

TURNER, C. The thermal inactivation of *Escherichia coli* in straw and pig manure. **Bioresource of Technology**, v.84, p.57-61, 2002.

VOLPE, P.L.O. Estudo da fermentação alcoólica de soluções diluídas de diferentes açúcares utilizados microcaloricamente de fluxo. **Química Nova**, v.20, p. 528-534, 1996.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O *Cryptosporidium* sp. foi responsável pelo maior surto de doença de veiculação hídrica já documentada. Animais de companhia e produção podem ser portadores assintomáticos desse protozoário, conseqüentemente podem causar a transmissão tanto para os humanos quanto para os animais de forma direta ou indireta.

Este protozoário ainda é pouco conhecido pelos clínicos de grandes animais e este trabalho poderá permitir alertar os profissionais dessa área sobre a importância de exames rotineiros para que comecem a incluir a criptosporidose na sua lista de diagnóstico diferencial ao atender animais com problemas gastrintestinais.

Pesquisas são necessárias para elucidar a epidemiologia do *Cryptosporidium* sp no ambiente, prosseguindo o monitoramento no Brasil, da presença dos protozoários nos diversos meios, visando identificar fatores que conduzam à sua ocorrência e também sobre a remoção deste protozoário nos diversos processos de tratamento de águas de abastecimento além do adequado tratamento de dejetos de animais e esgotos sanitários.

A compostagem pode ser considerada um processo satisfatório do ponto de vista tecnológico para tratamento dos resíduos de origem animal. No entanto, é necessário observar as técnicas de tratamentos recomendadas, e adotar práticas de manejo que visem minimizar a possibilidade de transferência de contaminantes no meio ambiente, os quais possam interferir tanto na produtividade animal quanto na saúde pública.

Temperatura, umidade, tamanho dos montes, pH, são fatores importantes durante a compostagem dos resíduos de origem animal para se ter um produto final livre da maioria dos microrganismos patogênicos.

É necessário um tratamento prévio desses resíduos antes de serem despejados em plantações no qual o produto é destinado aos consumidores e uma orientação, principalmente nos centros de treinamentos localizados nas áreas urbanas, sobre a importância do manejo dos resíduos de origem animal, ressaltando os principais pontos dos problemas de se despejar esse conteúdo sem prévio tratamento no ambiente e também as principais vantagens de se obter um produto livre de contaminantes.