

**II-099 – SOBREVIVÊNCIA DE SALMONELLA EM SISTEMA ANAERÓBIO
PARA O TRATAMENTO DE DEJETOS SUÍNOS****Raquel Michaelsen**

Graduanda em Medicina Veterinária pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Bolsista de Iniciação Científica, Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq).

Viviane Trevisan

Engenheira Química pela Universidade de Caxias do Sul. Mestre em Biotecnologia pela Universidade de Caxias do Sul. Doutora em Recursos Hídricos e Saneamento Ambiental pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Verônica Schmidt

Médica Veterinária pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul, mestre em doenças parasitárias pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul e doutora em Ciências Veterinárias pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Professor Associado da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Endereço⁽¹⁾: Av. Bento Gonçalves, 9090 - Agronomia – Porto Alegre - RS - CEP: 91.130-210 - Brasil - Tel: (51) 3308-8030 - e-mail: veronica.schmidt@ufrgs.br

RESUMO

A utilização de biodigestores no meio rural tem aumentado em função de sua capacidade de tratar os dejetos de origem animal, associada à geração de energia. Entretanto, uma vez que a destinação dos efluentes destes sistemas é o uso como fertilizantes do solo, faz-se necessária a investigação da capacidade de sobrevivência de agentes potencialmente patogênicos aos animais e ao homem nestes sistemas. Considerando que os suínos são portadores assintomáticos de salmonelas e que este microrganismo tem capacidade de sobreviver no solo, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a sobrevivência de bactérias do gênero *Salmonella* em sistema anaeróbio para o tratamento de dejetos suínos. Em um sistema constituído por um reator anaeróbio acidogênico com capacidade para 20 L seguido por um reator anaeróbio metanogênico com capacidade para 40 L, ambos em acrílico, carregado com dejetos proveniente de uma granja negativa para salmonelas, inocularam-se 10^6 ufc de *Salmonella* Typhimurium por mL de dejetos. Em amostras do dejetos antes deste ser transferido ao sistema anaeróbio de tratamento e no efluente do sistema, depois de decorridos sete dias de tratamento, determinou-se o Número Mais Provável (NMP) de salmonelas. Verificou-se redução no número médio de salmonelas após o tratamento, verificando-se NMP médio de $4,14 \text{Log}_{10}$ no material de carga do sistema e $2,73 \text{Log}_{10}$ NMP no efluente. O uso de reatores anaeróbicos deve ser entendido como parte de um sistema integrado para o tratamento de resíduos orgânicos de origem animal, possibilitando segurança na destinação dos efluentes ao ambiente.

PALAVRAS-CHAVE: biodigestor, dejetos suínos, *Salmonella*.

INTRODUÇÃO

A utilização dos biodigestores no meio rural tem merecido destaque devido aos aspectos de saneamento e energia, além de estimularem a reciclagem orgânica e de nutrientes. Este sistema de tratamento de resíduos proporciona diminuição de moscas e odores, permitindo também a redução das demandas química e bioquímica de oxigênio e de sólidos, tornando mais disponíveis os nutrientes para as plantas (biofertilizante). O biogás produzido pode ter o seu conteúdo energético aproveitado na própria atividade, em aquecimento, refrigeração, iluminação, incubadores, misturadores de ração, geradores de energia elétrica, etc. (Lucas Jr. & Santos, 2000; Angonese et al., 2007).

O tratamento de resíduos orgânicos da produção animal constitui-se em uma medida preventiva importante para se preservar a qualidade do solo e dos mananciais de água, quando da sua aplicação como biofertilizante (Amaral et al., 2000). Entretanto, a operação e manutenção podem interferir na sobrevivência dos microrganismos presentes no sistema, inclusive dos patógenos. Embora a eficiência do processo de digestão anaeróbia na redução de microrganismos indicadores de contaminação fecal tenha sido amplamente estudada e demonstrada (Cruz et al., 2004; Amaral et al., 2006; Côté et al., 2006; Massé et al., 2011) Baumgartner et al. (2007), estudando a utilização de efluentes de lagoas de estabilização e de biodigestores para o tratamento de

dejetos suínos na irrigação de alface, observaram elevada contaminação por coliformes termotolerantes nas águas (5×10^4 NMP/100mL) e nas alfaces ($2,4 \times 10^3$ NMP.g⁻¹).

Além dos coliformes, outros indicadores têm sido propostos para o monitoramento de sistemas de tratamento de dejetos. *Salmonella* tem sido um dos microrganismos indicados, uma vez que os suínos são portadores assintomáticos deste microrganismo em seu trato digestório. No Brasil, estudos apontam prevalência 16,6% de suínos portadores ao abate no Mato Grosso (Silva et al., 2009) e 55 a 85% no Rio Grande do Sul (Bessa et al., 2004; Scharwz et al., 2009), sendo que este microrganismo foi observado nas fezes de leitões na terminação (Silva et al., 2006).

A eficiência na redução da população de *Salmonella* em sistemas de tratamento de dejetos suínos como lagoas interligadas (Schmidt & Cardoso, 2003) e biodigestor seguido por lagoas em série (Vivan et al., 2009) já foi demonstrado. Entretanto, considerando que a destinação do produto resultante do tratamento de dejetos suínos em sistemas anaeróbios será a aplicação sobre o solo e que *Salmonella* pode sobreviver de 5 dias, em solo argiloso (Boes et al., 2005) até quatro semanas nas fezes (Jones, 1980), o objetivo do presente trabalho foi avaliar a sobrevivência de bactérias do gênero *Salmonella* em sistema anaeróbio para o tratamento de dejetos suínos.

MATERIAIS E MÉTODOS

O sistema testado foi constituído por um reator anaeróbio acidogênico com capacidade para 20 L seguido por um reator anaeróbio metanogênico com capacidade para 40 L, ambos em acrílico e mantido a 35°C (Trevisan & Monteggia, 2009).

O efluente utilizado, proveniente de uma granja de suínos, foi previamente avaliado como negativos à presença de salmonelas. O material foi contaminado artificialmente com uma amostra de *Salmonella* Typhimurium, isolada de dejetos suínos, utilizando-se 200 µL da suspensão bacteriana em caldo BHI em 200 mL da amostra do efluente, resultando em 10^5 a 10^6 ufc de salmonela inoculada por mililitro de efluente (Cavada et al., 2010).

Amostrou-se o dejetos suíno, antes deste ser transferido ao sistema anaeróbio de tratamento e no efluente do sistema, depois de decorridos sete dias de tratamento, em três repetições. Para determinação do NMP foram realizadas 5 diluições em triplicata, sendo que para a primeira diluição, 10mL do efluente já inoculados com salmonela foram adicionados à 90 mL de Água Peptonada 0,1%, obtendo-se a diluição 10^{-1} ; a partir desta, as diluições seguintes foram preparadas retirando-se 10 mL da amostra já diluída e acrescentando à 90 mL de Água Peptonada 0,1%, até a diluição 10^{-5} , as quais foram incubadas a 37°C/24h; de cada diluição 0,1mL foi semeado em tubo contendo 9,9 mL de caldo Rapaport Vassiliadis (RV- Merck®), os quais foram incubados a $42 \pm 0,2^\circ\text{C}/18\text{h}$; de cada tubo, com auxílio de uma alça de platina, foi semeada uma alíquota em uma placa contendo Ágar Xilose-Lisina-Desoxicilato (XLD- Merck®), a qual foi incubada à 37°C/24 horas. De cada placa, pelo menos uma colônia com características morfológicas de salmonela foi repicada em TSI, LIA e Ágar Uréia (Laborclin®) para confirmação de gênero (Cavada et al., 2010).

Para interpretação dos resultados, as placas de XLD com confirmação de crescimento de salmonela foram relacionadas às respectivas diluições em água peptonada e organizadas segundo o número de tubos positivos em cada diluição, para determinação do NMP correspondente.

Para fins de análise estatística, o NMP foi transformado em Logaritmo de base 10 e a comparação entre o número de salmonelas antes (carga do sistema) e após o tratamento (efluente do sistema) foi realizado pelo teste *t*, utilizando o programa GraphPad 6.0.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Determinou-se que a contagem de salmonelas variou de 800 a 50.000 NMP no material inoculado e de 400 a 700 NMP, no efluente. Verificou-se redução no número médio de salmonelas após o tratamento em reator anaeróbio, verificando-se NMP médio de $4,14 \text{Log}_{10}$ no material de carga do sistema e $2,73 \text{Log}_{10}$ NMP no efluente (Figura 1).

Ainda que a redução de 70% no número de salmonelas não tenha sido significativo ($P=0,1831$), também Pereira-Ramirez et al. (2004) determinaram redução de 50 a 70% no número de salmonelas em reator UASB, seguido de filtro anaeróbico, para tratamento de dejetos suíno. Outros estudos relatam redução de 90 a 100% no número de salmonelas em sistemas anaeróbios para o tratamento de dejetos de origem animal (Kearney et al., 1993; Oliva et al., 2004; Côté et al., 2006; Massé et al., 2011). Entretanto, o tempo de retenção estudado por estes autores foi superior ao presente estudo (14 a 20 dias) e a temperatura inferior (média de 20°C). *Salmonella* é um microrganismo mau competidor, ou seja, sobrevive melhor na ausência ou baixa contagem de outros microrganismos (Sidhu et al., 2001), as temperaturas de operação dos sistemas, os tempos de retenção e a composição dos efluentes utilizados são fatores que podem ter contribuído para maior sobrevivência destes microrganismos no sistema estudado.

Por outro lado, Lucas Jr. & Santos (2000) discutem que estudos têm relatado que a redução de microrganismos patogênicos em digestores anaeróbios ocorre como efeito da seqüência bioquímica do processo anaeróbio e de variações nos fatores que interferem neste processo e que a digestão anaeróbia com aquecimento tem sido citada como um método de redução de patógenos, inclusive salmonelas.

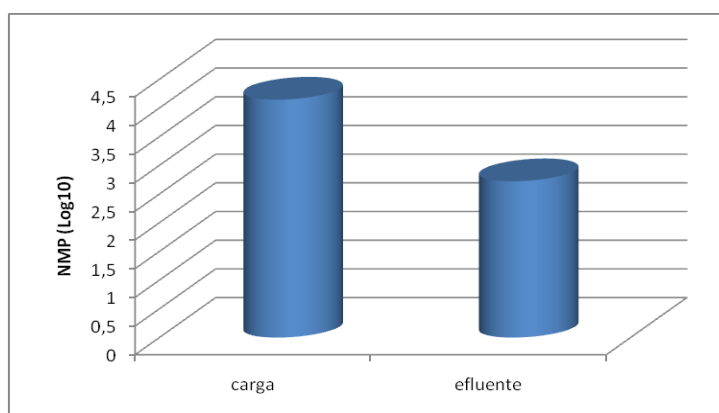


Figura 1: Número Mais Provável (NMP Log₁₀) de salmonelas em dejetos suínos artificialmente contaminados antes (carga) e após (efluente) o tratamento em sistema de digestão anaeróbio.

Neste sentido, entende-se que o uso de reatores anaeróbicos deva ser entendido como parte de um sistema integrado para o tratamento de resíduos orgânicos de origem animal, possibilitando segurança na destinação dos efluentes ao ambiente.

A determinação da sobrevivência de salmonelas em reator anaeróbio deverá ser novamente realizada, observando-se maior número de repetições e avaliando, ainda, parâmetros físico-químicos e outros indicadores microbiológicos.

CONCLUSÕES

Com base no trabalho realizado, concluiu-se que:

Ocorre diminuição na contagem de *Salmonella* (NMP) em dejetos suíno tratado em sistema anaeróbio.

Biodigestor é uma opção ao tratamento dejetos procedente da suinocultura.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AMARAL, L. A.; SCHOKEN, D. B. L.; LUCAS Jr., J. Redução de Bactérias Indicadoras de Poluição Fecal em Estrume de Aves de Postura Tratados por Biodigestão Anaeróbia. Rev. Bras. Cienc. Avic., v.2, n.1, p.19-25, 2000.
2. ANGONESE, A. R.; CAMPOS, A. T.; WELTER, R. A. Potencial de redução de emissão de equivalente de carbono de uma unidade suinícola com biodigestor. Eng. Agríc., v.27, n.3, p.648-657, 2007.
3. ANGONESE, A. R.; CAMPOS, A. T.; ZACARKIM, C. E.; MATSUO, M. S.; CUNHA, F. Eficiência energética de sistema de produção de suínos com tratamento dos resíduos em biodigestor. Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental. v.10, n.3, p.745-750, 2006.

4. BAUMGARTNER, D.; SAMPAIO, S. C.; SILVA, T. R.; TEO, C. R. P. A.; VILAS BOAS, M. A. Reúso de águas residuárias da piscicultura e da suinocultura na irrigação da cultura da alface. Eng. Agríc., v.27, n.1, p.152-163, 2007.
5. BESSA, M.C.; COSTA, M.; CARDOSO, M. Prevalência de *Salmonella* sp em suínos abatidos em frigoríficos do Rio Grande do Sul. Pesq. Vet. Bras., v.24, n.2, p.80-84, 2004.
6. BOES, J.; ALBAN, L.; BAGGER, J.; MOGELMOSE, V.; BAGGESEN, D. L.; OLSEN, J. E. Survival of *Escherichia coli* and *Salmonella Typhimurium* in slurry applied to clay soil in Danish swine farm. Preventive Veterinary Medicine, v.69, p.213-228, 2005.
7. CAVADA, C.; CARDOSO, F. M.; SCHMIDT, V. Comparação de três metodologias para quantificação de *Salmonella* sp. em efluentes de sistemas de tratamento de dejetos. Acta Scientiae Veterinariae, v.38, n.1, p.17-23, 2010.
8. CERVI, R. G.; ESPERANCINI, M. S. T.; BUENO, O. C. Viabilidade econômica da utilização do biogás produzido em granja suínica para geração de energia elétrica. Eng. Agríc., v.30, n.5, p.831-844, 2010.
9. CÔTÉ, C.; MASSÉ, D. I.; QUESSY, S. Reduction of indicator and pathogenic microorganisms by psychrophilic anaerobic digestion in swine slurries. Bioresource Technology, n. 97, p.686-691, 2006.
10. CRUZ, E.; MARTÍNEZ, V.; NARANJO, R.; SOSA, R. Evaluación microbiológica del efluente anaerobio de um biodigestor de cúpula fija. Revista Computadorizada de Producción Porcina, v.11, n.2, p. 90-96, 2004.
11. JONES, P. N. Health hazards associated with the handling of animal wastes. The Veterinary Records, v.5, p.4 -7, 1980.
12. KEARNEY, T.E.; LARKIN, M.J.; FROST, J.P.; LEVETT, P. N. Survival of pathogenic bacteria during mesophilic anaerobic digestion of animal waste. Journal of Applied Bacteriology, v.75, n.3, p.215-219, 1993.
13. LUCAS Jr., J.; SANTOS, T. M. B. Aproveitamento de resíduos da indústria avícola para produção de biogás. SIMPÓSIO SOBRE RESÍDUOS DA PRODUÇÃO AVÍCOLA. Concórdia, 2000. Disponível em: <http://homologa.ambiente.sp.gov.br/biogas/docs/artigos_dissertacoes/lucas_junior_santos.pdf> Acesso em: out. 2010.
14. MASSÉ, D.; GILBERT, Y.; TOPP, E. Pathogen removal in farm-scale psychrophilic anaerobic digesters processing swine manure. Bioresource Technology, v.102, p.641-646, 2011.
15. OLIVA, M. A.; VELASCO, D.; VENTURA, L. M. C.; BALLINAS, E. J.; SALVADOR, M. L. ; DENDOOVEN, L.; GUTIÉRREZ, F. A. Estudios de eliminacion de microorganismos patógenos de residuales porcinos en un biorreactor con tiempo de retención corto. Revista Computadorizada de Producción Porcina, v.11, n.1, p.115-123, 2004.
16. PEREIRA-RAMIREZ, O.; ANTUNES, R. M.; QUADRO, M. S.; KOETZ, P. R. Filtro anaeróbico utilizado como pós-tratamento de um reator anaeróbico de fluxo ascendente (UASB) para dejetos de suinocultura. Revista Brasileira de Agrociência, v.10, n.3, p. 339-346, 2004.
17. SCHWARZ, P.; CALVEIRA, J.; SELLA, A.; BESSA, M.; BARCELLOS, D. E. S. N.; CARDOSO, M. *Salmonella* enterica: isolamento e soroprevalência em suínos abatidos no Rio Grande do Sul. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., v.61, n.5, p.1028-1034, 2009.
18. SCHMIDT, V.; CARDOSO, M. R. I. Sobrevivência e perfil de resistência a antimicrobianos de *Salmonella* sp. isoladas em um sistema de tratamento de dejetos de suínos. Ciência Rural, v. 33, n. 5, 2003.
19. SIDHU, J.; GIBBS, R. A.; HO, G. E.; UNKOVICH, I. The role of indigenous microorganisms in suppression of salmonella regrowth in composted biosolids. Wat. Res., v.35, n.4, p.913-920, 2001.
20. SILVA, L. E.; GOTARDI, C. P.; VIZZOTTO, R.; KICH, J. D.; CARDOSO, M. R. I. Infecção por *Salmonella* enterica em suínos criados em um sistema integrado de produção do sul do Brasil. arq. Bras. Med. Vet. Zootec., v.58, n.4, p.455-461, 2006.
21. SILVA, M. C.; FARIA, G. S.; PAULA, D. A. J.; MARTINS, R. .P.; CARAMORI JUNIOR, J. G.; KICH, J. D.; COLODEL, E. M.; NAKAZATO, L.; DUTRA, V. Prevalência de *Salmonella* sp. em suínos abatidos no Estado de Mato Grosso. Ciência Rural, v.39, n.1, p.266-268, 2009.
22. TREVISAN, V.; MONTEGGIA, L. O. Produção de biogás a partir de efluente da suinocultura utilizando digestão anaeróbica em dois estágios. I SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE GERENCIAMENTO DE RESÍDUOS DE ANIMAIS. Anais. Florianópolis, 2009. p. 264-268.
23. VIVAN, M.; KUNZ, A.; STOLBERG, J.; PERDOMO, C.; TECHIO, V. H. Eficiência da interação biodigestor e lagoas de estabilização na remoção de poluentes em dejetos de suínos. Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental, v.14, n.3, p.320-325, 2010.