

Relatório de Projetos Concluídos 2010



*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Suínos e Aves
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

Documentos 144

Relatório de Projetos Concluídos 2010

*Arlei Coldebella
Gerson Neudi Scheuermann*
Editores

Embrapa Suínos e Aves
Concórdia, SC
2011

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Suínos e Aves

Rodovia BR 153 - KM 110
89.700-000, Concórdia-SC
Caixa Postal 21
Fone: (49) 3441 0400
Fax: (49) 3441 0497
<http://www.cnpsa.embrapa.br>
sac@cnpsa.embrapa.br

Comitê de Publicações da Embrapa Suínos e Aves

Presidente: Gilberto S. Schmidt
Secretária: Tânia M.B. Celant
Membros: Gerson N. Scheuermann
Jean C.P.V.B. Souza
Helenice Mazzuco
Nelson Morés
Rejane Schaefer
Suplentes: Mônica C. Ledur

Coordenação editorial: Tânia M.B. Celant

Revisão técnica: Airtton Kunz, Cátia S. Klein, Dirceu J.D. Talamini, Elsie A.P. de Figueiredo, Janice R.C. Zanella, Juliano C. Côrrea, Martha M. Higarashi, Márcio B. da Silva, Nelson Morés, Paulo G. de Abreu, Ricardo L.R. Steinmetz

Revisão gramatical: Lucas S. Cardoso

Normalização bibliográfica: Claudia A. Arrieche

Editoração eletrônica: Vivian Fracasso

Foto da capa: Lucas S. Cardoso

1ª edição

Versão eletrônica (2011)

Todos os direitos reservados.

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Embrapa Suínos e Aves

Relatório dos projetos concluídos em 2010 / editado por Arlei Coldebella e Gerson Neudi Scheuermann. – Concórdia: Embrapa Suínos e Aves, 2011.

99p.; 21cm. (Documentos/Embrapa Suínos e Aves, ISSN 01016245; 144).

1. Instituição de pesquisa (Embrapa Suínos e Aves), - Relatório. I. Scheuermann, Gerson Neudi. II. Coldebella, Arlei. III. Série.

CDD 630.72

© Embrapa 2011

Autores

Airton Kunz

Químico Industrial, D. Sc. em Química, pesquisador da Embrapa Suínos e Aves, Concórdia, SC, airton@cnpsa.embrapa.br.

Alessandra D'Avila da Silva

Médica Veterinária, D. Sc. em Ciências Veterinárias, bolsista de Desenvolvimento Tecnológico Industrial do CNPq, Concórdia, SC.

André de Oliveira Mendonça

Médico Veterinário, M. Sc. em Medicina Veterinária, fiscal federal agropecuário e coordenador do Lanagro/SP, Campinas, SP.

Anildo Cunha Júnior

Químico, M. Sc. em Química, analista da Embrapa Suínos e Aves, Concórdia, SC, acj@cnpsa.embrapa.br.

Arlei Coldebella

Médico Veterinário, D. Sc. em Ciência Animal e Pastagens, pesquisador da Embrapa Suínos e Aves, Concórdia, SC, arlei@cnpsa.embrapa.br.

Armando Lopes do Amaral

Biólogo, M. Sc. em Ciências Veterinárias, analista da Embrapa Suínos e Aves, Concórdia, SC, amaral@cnpsa.embrapa.br.

Beatris Kramer

Bióloga, analista da Embrapa Suínos e Aves, Concórdia, SC, kramer@cnpsa.embrapa.br.

Cláudio Rocha de Miranda

Engenheiro Agrônomo, D. Sc. em Engenharia Ambiental, pesquisador da Embrapa Suínos e Aves, Concórdia, SC, miranda@cnpsa.embrapa.br.

Dilmara Reischak

Médica Veterinária, M. Sc. em Ciências Veterinárias, fiscal federal agropecuário, responsável pela Unidade de Sanidade Aviária Lanagro/SP, Campinas, SP.

Dirceu Luis Zanotto

Biólogo, M. Sc. em Zootecnia, pesquisador da Embrapa Suínos e Aves, Concórdia, SC, zanotto@cnpsa.embrapa.br.

Doralice Pedroso de Paiva

Médica Veterinária, D. Sc. em Ciências Veterinárias, pesquisadora aposentada da Embrapa Suínos e Aves, Concórdia, SC, dppaiva@concordia.psi.br.

Fluvia DiPilo

Bióloga, M. Sc. em Microbiologia Agropecuária, bolsista do CNPq, Concórdia, SC.

Iara Maria Trevisol

Médica Veterinária, M. Sc. em Medicina Veterinária, pesquisadora da Embrapa Suínos e Aves, Concórdia, SC, iara@cnpsa.embrapa.br.

Jonas Irineu dos Santos Filho

Engenheiro Agrônomo, D. Sc. em Ciências (Economia Aplicada), pesquisador da Embrapa Suínos e Aves, Concórdia, SC, jonas@cnpsa.embrapa.br.

Julio Cesar Pascale Palhares

Zootecnista, D. Sc. em Ciências da Engenharia Ambiental, pesquisador da Embrapa Suínos e Aves, Concórdia, SC, palhares@cnpse.embrapa.br.

Liana Brentano

Médica Veterinária, D. Sc. em Medicina Veterinária, pesquisadora da Embrapa Suínos e Aves, Concórdia, SC, brentano@cnpsa.embrapa.br.

Luana Goulart Sardá

Engenheira Agrônoma, M. Sc. em Agroecossistemas, acadêmica da UFSC, Florianópolis, SC, luanasarda@yahoo.com.br.

Marcelo Minoso

Biólogo, bolsista PIBIC e acadêmico da UnC, Concórdia, SC.

Marcus Vinicius Gouvêa

Médico Veterinário, D. Sc. em Epidemiologia, fiscal federal agropecuário, pesquisador do Lanagro/SP, Campinas, SP.

Marina Celant de Prá

Acadêmica de Engenharia Ambiental da UnC, bolsista de iniciação científica do CNPq, Concórdia, SC.

Martha Mayumi Higarashi

Química, D. Sc. em Química, pesquisadora da Embrapa Suínos e Aves, Concórdia, SC, martha@cnpa.embrapa.br.

Paulo Armando Victoria de Oliveira

Engenheiro Agrícola, Ph. D. em Ciências Ambientais, pesquisador da Embrapa Suínos e Aves, Concórdia, SC, paolive@cnpa.embrapa.br.

Paulo Augusto Esteves

Biólogo, D. Sc. em Ciências Veterinárias, pesquisador da Embrapa Suínos e Aves, Concórdia, SC, pesteves@cnpa.embrapa.br.

Paulo Giovanni de Abreu

Engenheiro Agrícola, D. Sc. em Zootecnia, pesquisador da Embrapa Suínos e Aves, Concórdia, SC, pabreu@cnpa.embrapa.br.

Rejane Schaefer

Médica Veterinária, D. Sc. em Ciências Veterinárias, pesquisadora da Embrapa Suínos e Aves, Concórdia, SC, rejane@cnpa.embrapa.br.

Rosemari Martini Mattei

Bióloga, especialização em Biologia, analista da Embrapa Suínos e Aves, Concórdia, SC, martini@cnpa.embrapa.br.

Soraya Cecília Albieri Camillo

Farmacêutica, especialização em Biotecnologia, supervisora da área de virologia do Setor de Sanidade Aviária do Lanagro/SP, Campina, SP.

Susana Muller

Engenheira Ambiental, Universidade do Contestado, Concórdia, SC, susamuller@hotmail.com.

Valéria Maria Nascimento Abreu

Zootecnista, D. Sc. em Genética e Melhoramento, pesquisadora da Embrapa Suínos e Aves, Concórdia, SC, valeria@cnpa.embrapa.br.

Virgínia Santiago Silva

Médica Veterinária, D. Sc. em Epidemiologia Experimental Aplicada às Zoonoses, pesquisadora da Embrapa Suínos e Aves, Concórdia, SC, vica@cnpa.embrapa.br.

Apresentação

A presente publicação visa relatar os principais resultados de projetos de pesquisa da Embrapa Suínos e Aves, finalizados no ano de 2009. O objetivo desta publicação é prestar contas das nossas ações de pesquisa e de construir uma memória técnica desta Unidade.

No caso específico desta publicação, são apresentados resultados de cinco projetos, os quais atendem demandas do setor produtivo em diversas áreas:

- Sanidade avícola, com resultados relacionados ao vírus da Influenza Aviária.
- Sanidade suinícola, com resultados relacionados ao controle da linfadenite granulomatosa em suínos criados no sistema de cama sobreposta.
- Meio ambiente, com resultados relacionados à:
 - Avaliação do Termo de Ajustamento de Conduta da Suinocultura da região da AMAUC/SC.
 - Produção de biodiesel a partir de gordura residual de suínos e aves.
- Redução da emissão de metano e gás sulfídrico por meio do tratamento de dejetos suínos via compostagem.

Os relatórios dos projetos são sintéticos e estão subdivididos em introdução, objetivos, resultados e discussão, tecnologias geradas e considerações finais, a fim de facilitar a compreensão e o entendimento dos resultados dos projetos executados pela Embrapa Suínos e Aves.

Arlei Coldebella

Editor Técnico

Sumário

Apresentação.....	9
--------------------------	----------

Capítulo 1

Avaliação do Termo de Ajustamento de Conduta da Suinocultura AMAUC/Consórcio Lambari através de indicadores sociais, econômicos e ambientais.....	13
---	----

Capítulo 2

Viabilidade técnica–econômica de tecnologias convencionais de produção de biodiesel a partir de matrizes lipídicas residuais de origem animal e sua utilização em sistemas de aquecimento para aves e suínos...	27
---	----

Capítulo 3

Redução de emissão de metano e gás sulfídrico por meio do tratamento de dejetos suínos via compostagem.....	47
---	----

Capítulo 4

Agilização do método de diagnóstico e tipagem do vírus da influenza aviária e análises de simulação de risco de introdução de influenza na avicultura industrial do Brasil.....	65
---	----

Capítulo 5

Epidemiologia e controle da linfadenite granulomatosa em suínos criados no sistema de cama sobreposta.....77

Capítulo 5.1

Otimização de técnica de descontaminação seletiva para isolamento de micobactérias a partir de amostras de cama de suínos.....81

Capítulo 5.2

Estudo da sobrevivência de MAC em camas de maravalha e casca de arroz experimentalmente contaminadas, ao longo da passagem de quatro lotes consecutivos de suínos.....91

CAPÍTULO 1

Avaliação do Termo de Ajustamento de Conduta da Suinocultura AMAUC/Consórcio Lambari através de indicadores sociais, econômicos e ambientais

Cláudio Rocha de Miranda
Julio César Pascale Palhares

Introdução

O Estado de Santa Catarina é o principal produtor de suínos do país, respondendo por 20% da produção nacional, concentrando-se a produção na região do Oeste Catarinense. Em decorrência da elevada concentração espacial da atividade, os recursos naturais estão sendo severamente comprometidos. Entre as medidas previstas para o controle da poluição decorrentes da produção de suínos encontra-se o licenciamento ambiental, haja vista que a atividade é considerada como de alto potencial de poluição. Em que pese essa exigência, no ano de 2003, aproximadamente 80% dos empreendimentos suinícolas não possuíam licença ambiental (DIAGNÓSTICO..., 2003). Nesse contexto, a Promotoria Pública do Estado de Santa Catarina, juntamente com o Consórcio Lambari e a Embrapa Suínos e Aves, preocupados com a sustentabilidade da atividade suinícola, articularam a elaboração de um Termo de Ajustamento de Conduta (TAC) para os suinocultores da região do Alto Uruguai Catarinense. Esse TAC, pioneiro em Santa Catarina, apresenta algumas características especiais tais como: envolvimento de 3.500 produtores, predominantemente, de base familiar; estabelecimento de responsabilidades para os suinocultores, agroindústrias integradoras e órgãos públicos de diferentes níveis; definição de uma instância organizativa específica (Comitê Regional do TAC da Suinocultura) para que os diferentes atores negociem os melhores rumos para o desenvolvimento da suinocultura e enfatiza a importância da autogestão do processo. Além disso, caso o TAC da Região da AMAUC/Consórcio Lambari obtivesse os resultados esperados seria replicado em outras regiões do Estado.

Todavia, uma dúvida que permanecia entre os suinocultores, técnicos e lideranças regionais dizia respeito ao que iria acontecer após esse prazo, caso não fosse possível atender a totalidade dos aspectos previstos no TAC. A resposta apresentada pelo Ministério Público Estadual foi a de que o TAC poderia ser prorrogado, se fosse atestado o esforço de todos os signatários para cumprimento do estabelecido e que, comprovadamente, houvesse melhoria na qualidade ambiental da região.

Apesar de uma das atribuições do Comitê Regional do TAC da Suinocultura, composto pelos representantes dos diversos signatários, fosse a de monitorar a implantação das diversas ações e programas definidos no TAC, não ficou estabelecido nenhum instrumento formal para que tal processo acontecesse. Diante dessa lacuna foi proposto, no âmbito do Macroprograma 3 da Embrapa, a realização de um projeto de pesquisa intitulado Avaliação do Termo de Ajustamento de Conduta da Suinocultura AMAUC/Consórcio Lambari através de indicadores sociais, econômicos e ambientais.

Objetivos

O objetivo geral do projeto era o de Monitorar e avaliar o Termo de Ajustamento de Conduta AMAUC/Consórcio Lambari com base nas questões motivadoras de sua implementação. E os objetivos específicos eram os seguintes:

- Conhecer a percepção dos atores sobre os principais impactos provocados pelo TAC.
- Monitorar os impactos do TAC em termos de melhoria da qualidade da água superficial.
- Desenvolver uma metodologia de monitoramento e avaliação (reflexão e aprendizado) adequada às características do TAC.
- Avaliar os principais impactos sociais e econômicos proporcionados pela implantação do TAC.

Resultados e discussão

O projeto adotou como roteiro metodológico básico o modelo Pressão-Estado-Resposta-PER (OECD¹, 1996). O modelo PER trata de uma representação da ligação entre a pressão exercida nos recursos naturais pelas atividades humanas, da mudança na qualidade dos recursos e das respostas a estas mudanças dada pela sociedade, na tentativa de se livrar da pressão ou de reabilitar os recursos que foram degradados. As trocas entre essas condições formam um mecanismo contínuo de retroalimentação (*feedback*), que pode ser monitorado e usado para avaliar a qualidade dos recursos naturais.

Na pesquisa realizada para se avaliar os resultados do TAC adotou-se como indicadores de pressão: a relação entre número de suínos e área da lavoura de milho; estado: a percepção da qualidade da água manifestada pelos entrevistados; resposta: número de propriedades licenciadas e a percepção dos atores envolvidos no Comitê Regional da Suinocultura quanto à importância do TAC na melhoria da qualidade ambiental da atividade suinícola.

Assim, na realização da avaliação do TAC utilizou-se dos denominados métodos mistos de pesquisa, ou seja, informações qualitativas e/ou quantitativas de acordo com as diferentes facetas do fenômeno a ser estudado. Dessa forma, para a caracterização da pressão e da qualidade ambiental da atividade, utilizaram-se basicamente os dados quantitativos provenientes dos censos agropecuários do IBGE; por sua vez para a avaliação do TAC, enquanto resposta específica para o problema ambiental da suinocultura, aplicou-se o questionário para 122 suinocultores, realizou-se entrevistas com os principais atores envolvidos no TAC e acompanhou-se dezenas de reuniões e audiências públicas que tratavam da questão ambiental da suinocultura. Portanto, priorizou-se os aspectos argumentativos dos atores envolvidos com o TAC.

1 A Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico é uma organização intergovernamental que reúne 32 países desenvolvidos, e de economia de livre mercado e regimes democráticos.

A pressão ambiental

A avaliação desse indicador se revelou tarefa difícil, uma vez que não existiam dados atualizados disponíveis para um acompanhamento mais preciso. O órgão ambiental do estado de Santa Catarina (FATMA) não mantém cadastro informatizado e atualizado da evolução do plantel e as empresas integradoras não disponibilizam essa informação. Assim, só é possível se ter idéia da evolução pressão sobre os recursos naturais através das estatísticas do censo agropecuário e da pesquisa pecuária municipal disponibilizadas pelo IBGE.

Para se avaliar os indicadores de pressão ambiental da região se considerou, basicamente, a densidade de animais por área de lavoura de milho, que é a principal cultura em condições de realizar a reciclagem dos dejetos suínos. Através desse indicador, se constatou-se que o plantel de suínos na microrregião de Concórdia, no ano de 2004 (ano de assinatura do TAC), era de 1.459.906 cabeças e a área de lavoura de milho igual a 72.263 hectares, ou seja, 20,2 suínos por hectare de lavoura de milho. Por sua vez, no ano de 2008 o número de cabeças de suínos era de 2.174.366 e a área de lavoura de milho igual a 53.320 hectares, ou seja, 40,7 suínos por hectare de lavoura de milho. Em outros termos, o rebanho suinícola cresceu 39% e a área plantada com a cultura do milho decresceu 26,2%.

Portanto, no que diz respeito à pressão sobre os recursos naturais, especialmente, em termos da relação da densidade de animais por unidade de área, o TAC não apresentou, segundo os indicadores utilizados, resultado positivo.

A qualidade do ambiente (estado)

O aumento da concentração na produção de animais em sistemas confinados tem gerado sérios problemas ambientais e provocado acalorados debates, principalmente quanto à maneira mais adequada de realizar a disposição da enorme quantidade de dejetos que são produzidos. As preocupações ambientais podem ser divididas em três grandes categorias:

- problemas relacionados com o acúmulo de nutrientes no solo;
- eutrofização das águas superficiais e subterrâneas;
- poluição do ar causada pelo odor, particulados e pela emissão de amônia e do gás metano, o que contribui para a mudança climática global (JACKSON, 1998).

Para que se possa avaliar a evolução do estado do ambiente é importante que, além da caracterização das pressões (carga poluente, consumo de recursos) e do seu impacto sobre a qualidade do meio ambiente, possuam-se informações confiáveis e precisas sobre a qualidade dos recursos (ar, água e solo). Nesse sentido o projeto procurou coletar e organizar as informações que permitissem melhor avaliar os reflexos que a pressão ambiental provocada pela produção animal ocasiona na alteração da qualidade do meio físico na região do Alto Uruguai Catariense.

No caso da região em estudo, no entanto, os monitoramentos disponíveis são raros e, quando existentes, não apresentam uniformidade nos parâmetros e/ou na metodologia de análise ou periodicidade de acompanhamento, dificultando, assim, uma análise da evolução da qualidade dos recursos.

A qualidade do meio ambiente, todavia, não pode ser entendida apenas através de dados objetivos, uma vez que a percepção das pessoas sobre o meio onde vivem constitui-se num elemento tão fundamental quanto os dados. Ou seja, os problemas ambientais não são algo puramente técnico e científico, pelo contrário, são também determinados por processos sociais (PRETTY, 1995).

A importância de conhecer esse aspecto deve-se ao fato de que o modo de percepção da realidade e de organização dos fatos a ela pertinente têm implicações, embora nem sempre visíveis, nas questões de políticas públicas e de justiça social. Nesse sentido, as ciências sociais têm demonstrado que as questões ambientais não podem ficar restritas somente aos processos físicos, químicos e biológicos, já que o mundo em que se situam, o mundo do seres humanos e de suas relações

sociais, é constituído por outros aspectos, tais como estilo de vida, relações interpessoais, interações simbólicas e questões de poder, distribuição de riscos e controle social.

Dessa forma, desenvolveu-se no âmbito do Projeto o monitoramento da qualidade da água de um rio localizado em uma bacia hidrográfica representativa da situação, ou seja, uma bacia com grande concentração de suínos e um número expressivo de produtores aderentes ao TAC. Foi selecionada a bacia do rio Pinhal, localizada no município de Concórdia. Além disso, foi formalizada uma rede de monitoramento abrangendo diversos municípios da região, a qual monitorava a qualidade da água através de métodos mais expeditos. Todavia a inexistência de um marco zero no monitoramento, anterior à implementação do TAC, impossibilita uma comparação temporal dos resultados.

Para superar essa lacuna foram realizadas entrevistas com o objetivo de avaliar a percepção dos principais atores quanto à qualidade do ambiente na microrregião. Para tanto, foram entrevistados pesquisadores, dirigentes municipais, agricultores (suinocultores ou não), técnicos das agroindústrias e da extensão rural pública, bem como representantes de organizações não governamentais relacionadas ao problema, visando conhecer a percepção que esses diferentes atores possuíam em relação aos impactos ambientais provocados pela suinocultura na qualidade dos recursos naturais da região, bem como das medidas adotadas pelo TAC.

A primeira impressão que se tem em relação à percepção da população da região sobre os riscos ambientais, decorrentes da poluição provocada pelos dejetos suinícolas, é de que esse problema diz respeito exclusivamente a quem vive no meio rural, só perturbando os moradores das áreas urbanas eventualmente. Por exemplo, quando os caminhões transportando suínos cruzam as ruas da cidade, ou então, nos períodos mais quentes, quando o odor de alguma granja mais próxima dos aglomerados urbanos atinge a população local.

No entanto, os demais problemas que a poluição proveniente dos dejetos pode estar provocando em termos de saúde da população, de redução da qualidade de vida e comprometimento dos ecossistemas regionais, não costumam ser apontados pelos entrevistados como significativos. Essas questões são entendidas como uma fatalidade que deve ser suportada com resignação por quem mora na região, pois é o preço do desenvolvimento econômico regional.

Em relação aos problemas ambientais provocados pelo manejo inadequado dos dejetos suínos, constata-se que a grande maioria dos entrevistados acredita que já foram muito mais graves e que atualmente a situação está mais controlada.

As justificativas apresentadas para tal afirmação embasam-se no grande número de estruturas de armazenamento construídas pelos suinocultores nos últimos anos, bem como nas inúmeras reuniões e programas que já foram e estão sendo realizados em torno dessa questão. No entanto, para muitos, o fator mais decisivo para essa melhoria são as ações que foram desenvolvidas através do TAC.

Especificamente no que diz respeito à pesquisa que foi feita junto aos suinocultores, através da aplicação de 122 questionários, constata-se que para 80% dos entrevistados a qualidade da água está melhor, para 10% está igual e para os outros 10% está pior após a implementação do TAC.

Em resumo, os entrevistados reconhecem uma importante contribuição do TAC na melhoria da qualidade ambiental da região, especialmente na qualidade da água.

A avaliação das respostas proporcionadas pelo TAC

A estratégia de controle da poluição da suinocultura acontece basicamente por intermédio da obtenção do licenciamento ambiental da atividade. Coerente com essa visão, o TAC preocupou-se em assegurar que a despeito dos suinocultores não terem condições de atender integralmente as normas exigidas para a obtenção da licença ambiental, poderiam continuar produzindo, desde que não representassem riscos evidentes à saúde e ao meio ambiente e que, em contrapartida, assumissem uma série de obrigações relacionadas à recomposição da mata ciliar, adequação das estruturas de armazenamento dos dejetos, melhoria na forma de distribuição e aproveitamento dos dejetos suínos. Além disso, as empresas integradoras deveriam fornecer a assistência técnica e viabilizar os recursos financeiros necessários para que os suinocultores pudessem cumprir tais obrigações. Por sua vez, as prefeituras municipais deveriam continuar prestando serviços de apoio aos suinocultores, como é caso dos programas de distribuição dos dejetos que contam com significativos subsídios públicos. Para completar, deveria ser formalizado o Comitê Regional da Suinocultura que entre outras tarefas se encarregaria de colaborar na efetiva implementação das diferentes cláusulas do TAC e na permanente avaliação de seus resultados.

Passados mais de cinco anos da assinatura do Termo de Ajustamento de Condutas da Suinocultura da Região da AMAUC, pode-se constatar que aconteceram inúmeras e importantes melhorias na qualidade ambiental da região. O relatório apresentado pelo Comitê Regional da Suinocultura na denominada primeira fase do TAC que vigorou no período de junho de 2004 até o final do ano de 2007, apresenta os seguintes números e resultados:

- Licenciamento ambiental de aproximadamente 1.300 propriedades através do TAC e de igual número através de licenças normais.
- Adequação dos sistemas de armazenagem de dejetos em 100% das propriedades licenciadas.
- Recomposição de 200 hectares de matas ciliares.
- Totalidade das propriedades licenciadas com sistema de compostagem para animais mortos construídas de forma adequadamente.

- Redução de cerca de 10% do desperdício da água nas propriedades, graças à troca de bebedouros, redução de vazamentos, cobertura de calhas etc.

Além das conquistas a acima mencionadas o referido relatório aponta que a atuação do Comitê Regional da Suinocultura assegurou ganhos importantes na dimensão social e educativa, entre as quais se pode citar:

- A concentração de esforços na busca de soluções comuns, co-responsabilizando produtores, agroindústrias, governo estadual, administrações municipais, entidades civis, enfim, todos os principais envolvidos com a questão ambiental da suinocultura.
- A realização de reuniões abrangendo todos os municípios signatários e mais de dois mil suinocultores.
- A produção de uma cartilha educativa, elaborada a partir de questionamentos levantados pelos próprios suinocultores.
- O estabelecimento de redes de monitoramento e avaliação socioambientais, que além da mobilização local, têm gerado informações importantes para avaliação do TAC.
- A criação de uma rede de comunicação sobre suinocultura e o meio ambiente que tem sua base nas ações do Comitê Regional da Suinocultura.
- A internalização do assunto suinocultura e meio ambiente em diversos segmentos da sociedade regional.
- Formação de 35 gestores ambientais com a missão de apoiar as ações do Comitê relacionadas à melhoria ambiental da atividade suinícola.
- Realização no ano de 2009 de dois dias de campo que somados reuniram mais de 900 suinocultores.
- Reestruturação de um programa de gestão ambiental da atividade para o período 2009-2011, que além de assegurar as conquistas já obtidas pelo Comitê Regional da Suinocultura irá avançar em aspectos ainda deficitários, como é o caso da melhoria dos critérios técnicos para aplicação dos dejetos como fertilizante (COMITÊ REGIONAL DA SUINOCULTURA, 2009).

Além disso, cabe destacar que o referido Comitê recebeu o troféu Onda Verde do 17º Prêmio Expressão de Ecologia (2009), na categoria Agropecuária – Setor Público, com o trabalho de “Adequação Ambiental da Suinocultura da Região da AMAUC”.

Ao julgar-se pela intensa atuação do Comitê Regional da Suinocultura e pelos resultados concretos que aconteceram em termos de melhoria das instalações e no manejo dos dejetos suínos, pode-se dizer que, apesar da persistência de alguns problemas mais estruturais, o TAC da região da AMAUC obteve resultados positivos.

Considerações finais

Apesar dos ganhos que a celebração do Termo de Ajustamento de Condutas assegurou, constata-se que, para que ocorra de fato um avanço nas discussões ambientais da região, algumas questões fundamentais precisam ser superadas. Por exemplo, é fundamental que se realize uma avaliação mais ampla dos custos ambientais gerados pela atividade e que, a partir disso, se inicie um processo amplo de discussão sobre sua partilha entre os diferentes atores regionais.

Além disso, continua persistindo um outro aspecto que, do ponto de vista ambiental, parece mais problemático – diz respeito à concentração espacial da atividade existente em algumas bacias hidrográficas da região. Mesmo a partir de uma análise rápida, constata-se que a capacidade suporte já está completamente esgotada, o que requer medidas de reconversão de suinocultores para outras atividades para que a pressão sobre os recursos naturais seja revertida.

Nesse sentido, julga-se que o TAC, através do papel a ser desempenhado pelo Comitê de Desenvolvimento Regional Suinocultura, poderá ser decisivo para viabilizar medidas que articulem o controle ambiental às políticas de apoio à agricultura familiar e às estratégias de desenvolvimento regional. Também terá a possibilidade de promover relações

de confiança e cooperação entre os principais atores que compõem a cadeia suinícola, condições essas que são fundamentais para a construção de um novo modelo de produção de suínos, pelo qual a suinocultura de base familiar, que ainda é majoritariamente praticada na região, possa continuar persistindo de forma sustentável e as questões relativas ao impacto ambiental negativo da atividade sobre o meio ambiente possam ser superadas.

Nesse contexto, pode-se destacar que a grande contribuição que o projeto “Avaliação do Termo de Ajustamento de Conduta da Suinocultura AMAUC/Consórcio Lambari através de indicadores sociais, econômicos e ambientais” proporcionou foi o de ter assegurado as bases conceituais e técnicas para que a avaliação do TAC acontecesse de forma participativa, com o envolvimento dos principais atores regionais e a tempo de permitir que os resultados e conclusões obtidos no seu desenvolvimento pudessem ser incorporados na correção dos rumos. O resultado mais visível do Projeto, todavia, deve-se ao uso das informações geradas em seu âmbito para assegurarem a possibilidade de prorrogação do TAC da AMAUC por mais quatro anos. Boa parte das informações geradas foram incorporadas na nova redação do TAC, que está vigorando no período 2008-2011

Referências

COMITÊ REGIONAL DA SUINOCULTURA. **Relatório de atividades do Comitê Regional da Suinocultura da Região da AMAUC**. Concórdia: AMAUC, 2009. 10 p.

DIAGNÓSTICO das propriedades suinícolas da área de abrangência do Consórcio Lambari, SC: relatório preliminar. Concórdia: Embrapa Suínos e Aves, 2003. 32 p. (Embrapa Suínos e Aves. Documentos, 84).

JACKSON, L. L. Large-scale swine production and water quality. In. THU, M. K; DURRENBERGHER, E. P. **Pigs, profits, and rural communities**. New York: State University of New York, 1998. p.103-122.

ORGANIZATION FOR ECONOMIC COOPERATION AND DEVELOPMENT. **Developing OECD Agri-Environmental Indicators**. Paris: OECD, 1996.

PRETTY, J. **Regenerating agriculture: policies and practice for sustainability and self-reliance**. Londres: Earthscan Nacional, 1995.

CAPÍTULO 2

Viabilidade técnica-econômica de tecnologias convencionais de produção de biodiesel a partir de matrizes lipídicas residuais de origem animal e sua utilização em sistemas de aquecimento para aves e suínos

Paulo Giovanni de Abreu
Anildo Cunha Júnior
Marina Celant De Prá
Martha Mayumi Higarashi
Arlei Coldebella
Valéria Maria Nascimento Abreu
Jonas Irineu dos Santos Filho
Dirceu Zanotto
Airton Kunz

Introdução

No século XX, o mundo modificou, radicalmente, a sua matriz energética, passando a depender de combustíveis fósseis que representam 80% da oferta de energia (BALANÇO, 2004). O Brasil consome 35 milhões de t/ano de diesel (BALANÇO, 2004). A queima destes combustíveis desequilibra a composição de gases da atmosfera, fazendo com que seja intensificado o efeito estufa, aumentando a temperatura da Terra. Lideranças mundiais, tanto políticas como científicas, buscam fórmulas para desfazer as previsões elaboradas a partir da continuidade do consumo de combustíveis fósseis. Devido à possibilidade de esgotamento dessas reservas energéticas, ao aumento na demanda por energia e aos crescentes problemas ambientais relacionados ao uso contínuo de combustíveis fósseis, observa-se nas últimas décadas uma forte tendência pela busca de fontes alternativas renováveis e com menores impactos ao meio ambiente. Neste contexto, os biocombustíveis despontam como uma alternativa promissora, pois podem ser tecnicamente viáveis, economicamente competitivos, aceitáveis do ponto de vista ambiental e produzidos a partir da biomassa e de resíduos agropecuários e agroindustriais. No entanto, devem ter disponibilidade de insumos e capacidade de processamento para atender a obrigatoriedade de consumo e a existência de condições para que a demanda suplante as metas estabelecidas pela Lei nº 11.097/2005. Dessa forma, a Política Nacional de Biocombustível objetiva garantir o suprimento interno de biocombustível tendo um modelo tributário específico para estimular o seu uso de forma a expandir a produção para atender o crescimento da demanda interna e externa de etanol e biodiesel.

O modelo de produção do biodiesel está essencialmente fundamentado na utilização dos óleos vegetais refinados como materiais de partida (SCHUCHARDT et al., 1998; MEHER et al., 2006; SHARMA et al., 2008). O óleo de soja é atualmente a principal fonte de lipídios utilizados pela indústria de biodiesel no Brasil, representando cerca de 80% do volume global de matérias-primas (SWISHER, 2009). No entanto, existe uma controvérsia sobre o uso de óleos vegetais comestíveis

para fins não alimentares, considerando a sua atual relação de preços elevados e a eficiência energética na produção de grão. Além disso, o aumento da demanda de biodiesel prevista para as próximas décadas pode levar à escassez de alimentos (GÜRÜ, 2010). A fim de superar barreiras econômicas e o desafio energético, bem como minimizar a competição entre os segmentos de alimentos e combustíveis pela mesma matéria-prima, os resíduos de gordura animal surgem com um enorme potencial como material de partida para obtenção do referido combustível.

O Brasil é o segundo maior produtor mundial de bovinos, o terceiro maior produtor de frangos e o quarto maior produtor de suínos (FAO, 2010). O abate e processamento destes animais dentro dos abatedouros e frigoríficos é uma interessante fonte de insumo para o biodiesel principalmente pela produção de um grande volume de gorduras que, por problemas de processamento e conservação, apresenta pouco ou nenhum valor comercial (VIANA et al, 2008). No caso da avicultura e suinocultura o grande destaque é a produção de gorduras ácidas originada dos efluentes dos flotados.

Os resíduos de abatedouros têm sido utilizados para a produção de ingredientes para rações de animais. Porém, com o surgimento de enfermidades como a *Encefalopatia Espongiforme*, ou “vaca louca”, tem determinado restrições à utilização desses subprodutos na alimentação animal. Deve-se ressaltar que o problema não está relacionado com a utilização e sim com a qualidade do produto. Esta situação representa para a indústria uma questão a ser estudada: como reciclar e aproveitar os subprodutos de maneira segura e economicamente rentável.

Os procedimentos do abate animal e industrialização da carne gera um grande volume de efluentes. O efluente é constituído por água de processamento que carrega sangue e aparas de gorduras, carnes, ossos e vísceras. Previamente ao lançamento no meio ambiente, preconiza-se que os efluentes sejam tratados para reduzir a sua carga poluente até níveis aceitáveis pela legislação ambiental vigente. Com o processo de

tratamento aeróbico em tanques, e subsequente tratamento com agentes coagulantes, é possível a separação da fração orgânica do efluente na forma flotada (lodo). Sendo constituído principalmente por proteínas e lipídios, o lodo é convencionalmente destinado ao descarte ou a aterros sanitários. Alternativamente, através de tratamento térmico complementar, com extração parcial da água e da gordura, o lodo pode ser transformado em um composto orgânico (Flotado Industrial (FI)), contendo 35% de matéria seca e valor nutricional considerável (SANTOS FILHO et al., 2010). A gordura ácida e as gorduras provenientes de flotados apresentam baixo ou nenhum valor comercial e portanto não agregam valor à cadeia. Segundo Santos Filho et al. (2010), existe um grande potencial para uso destas gorduras na fabricação de biodiesel, entretanto, torna-se necessário conhecer a real capacidade de oferta deste insumo visando inseri-lo nas estratégias governamentais e empresariais para a produção de biodiesel.

Em 2009, no Brasil, foram abatidos com alguma forma de inspeção 4.773.641.106 de cabeças de frangos e 30.932.830 de cabeças de suínos. Com base nesses dados, o potencial de produção total de gordura ácida e gordura ácida do flotado é de 34.101.453,14 e 68.891.824,52 litros, respectivamente. Para o Estado de Santa Catarina, o potencial de produção de gordura dos flotados, gordura ácida e gordura total dos efluentes no ano de 2009 corresponde a 6.723, 13.583 e 20.306 mil litros, respectivamente (SANTOS FILHO et al., 2010).

Sabe-se que a viabilidade econômica do biodiesel depende da disponibilidade de matérias-primas de baixo custo (HUANG; CHANG, 2010). Atualmente, a reciclagem de resíduos agroindustriais vem ganhando espaço cada vez maior, não apenas porque os resíduos representam matérias-primas de baixo custo, mas, principalmente, porque os efeitos da degradação ambiental decorrente de atividades industriais estão atingindo níveis cada vez mais alarmantes. Embora grande parte destas matérias-primas seja destinada ao setor farmacêutico de cosméticos e à fabricação de rações, futuramente, face à necessidade crescente por

energia, o uso para obtenção de biocombustíveis poderá ser priorizado. Isto leva a crer que para tornar o biodiesel de gorduras animais uma realidade tecnológica competitiva, pesquisas de caráter adaptativo ainda são necessárias.

Objetivos

Utilizar resíduos de gorduras animais de abatedouros para produção de biodiesel, convertendo um resíduo poluente em um produto de valor comercial que poderá ser utilizado no aquecimento de aves e suínos, contribuindo para a sustentabilidade da respectiva cadeia produtiva.

Objetivos específicos

- Determinar as propriedades e composição dos resíduos de gorduras animais (gordura mista de aves e suínos e gordura ácida flotada).
- Otimizar as condições da reação de transesterificação alcalina de resíduos de gorduras animais (tempo reacional, temperatura, agitação, razão molar, quantidade de catalizador) para cada material de partida.
- Acompanhar o curso da reação de transesterificação dos resíduos gordurosos através de métodos cromatográficos de análise (CCD e CG-FID), visando a obtenção da mistura ideal de ésteres etílicos de ácidos graxos para aplicação como biocombustível.
- Aplicar as melhores condições reacionais em um reator em escala piloto para produção de biodiesel a partir das amostras de gordura mista de aves e suínos e gordura ácida flotada.
- Caracterizar as amostras de biodiesel etílico produzidas quanto a parâmetros físico-químicos exigidos pela Agência Nacional do Petróleo (ANP).

Resultados e discussão

As gorduras animais selecionadas apresentaram valores de índice de acidez (IA) superiores a 2%, fator que influencia negativamente o processamento da transesterificação por consumir o catalisador alcalino e

levar à formação de sabões durante o processo convencional com bases. Para contornar essa condição desfavorável, as amostras foram previamente tratadas com solução diluída de Na_2CO_3 1 mol/L para remoção dos ácidos graxos livres (AGL) presentes. Após a lavagem (considerado um procedimento relativamente simples), satisfatoriamente os materiais de partida apresentaram IA inferior a 0,1%. A ausência de AGLs pode ser confirmada pela análise por CCD, conforme ilustra a Figura 1.

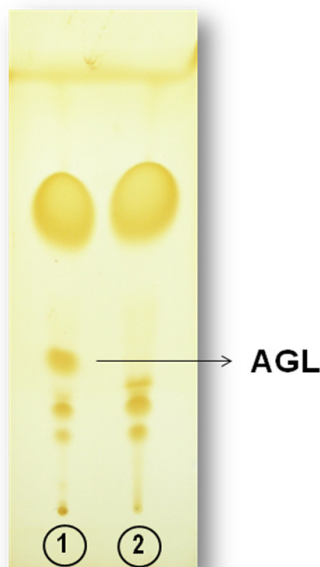


Figura 1. Cromatoplaça da Gordura Animal (1) pré-tratamento (2) pós-tratamento

As amostras dos resíduos de gordura animal foram analisadas por Cromatografia em Fase Gasosa (CG/DIC). Devido à natureza dos materiais de partida, as amostras apresentaram composições semelhantes, tendo como constituintes majoritários os ácidos graxos descritos na Tabela 1.

Tabela 1. Composição em ácidos graxos dos resíduos de gordura animal

Ácidos graxos (Identificados)	Resultado (%)	
	GMAS*	RGAF**
Merístico (C14:0)	0,98	1,03
Palmítico (C16:0)	20,19	20,19
Plamitoleico (C16:1)	2,82	2,64
Esteárico (C18:0)	7,52	7,16
Oleico (C18:1)	39,42	38,51
Linoleico (C18:2)	21,08	21,60
Linoleico (C18:3)	2,03	2,02

* Gordura mista de aves e suínos.

** Resíduo de gordura ácida flotada.

De forma conhecida, a reação de transesterificação (RT) de óleos e gorduras pode ser afetada por diferentes fatores, tais como razão molar álcool/gordura, tipo de catalisador, impurezas nos materiais de partida (ácidos graxos livres e umidade), pureza dos reagentes, temperatura e agitação (SCHUCHARDT et al., 1998; MEHER et al., 2006; SHARMA et al., 2008). Partindo dessas informações, a transferência de massa, cinética e equilíbrio químico desses parâmetros são fatores que, quando controlados, podem levar a máxima conversão dos resíduos gordurosos em biodiesel. Surpreendentemente, com base nos experimentos por CCD, para os dois tipos de gordura animal (IA < 0,1% em ácido oléico), a reação de transesterificação com etanol ocorreu quantitativamente em 30 minutos, a 30°C, com razão molar álcool/gordura em 7:1 e utilizando 1% (m/m) de hidróxido de potássio (KOH) como catalisador (Figura 2).

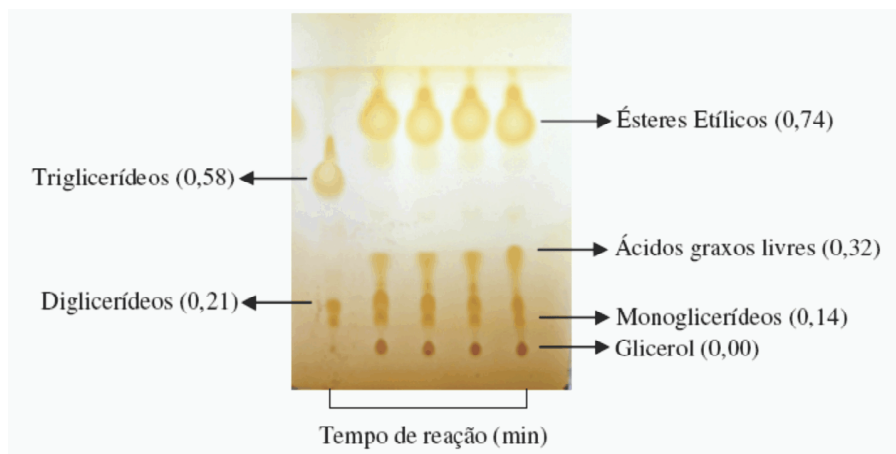


Figura 2. Acompanhamento da reação de transesterificação por CCD e seus respectivos valores do índice de retenção (Rf) para cada componente da mistura reacional

Como observado na Tabela 2, os índices de retenção (Rfs) dos componentes presentes são bastante próximos, independente do tipo de gordura animal utilizada. Os valores para os diversos compostos estão dentro da mesma faixa, muito semelhantes aos obtidos por outros autores quando usaram óleos vegetais (FERRARI, et al., 2005; FROEHNER, et al., 2007), confirmando assim, a conversão dos ácidos graxos em ésteres etílicos de ácidos graxos (EEAG).

Tabela 2. Valores de Rfs das amostras de biodiesel obtido a partir de gorduras animais

Compostos	Rfs			
	Graxa Mista	Graxa Flotado	Óleo usado ¹	Óleo usado ²
Triglicerídeos	0,58	0,58	0,53	0,54
Ácidos Graxos	0,32	0,31	0,40	0,44
Ésteres de Ácidos Graxos	0,73	0,75	0,82	0,71

¹Froehner et al. (2007).

²Ferrari et al. (2005).

Com relação à temperatura, geralmente, essas reações com óleos e gorduras são realizadas à temperatura próxima ao ponto de ebulição do álcool empregado para acelerar o processo. Contudo, durante a catálise básica, é possível que temperaturas superiores a 60°C tendam a induzir a saponificação dos glicerídeos e, conseqüentemente, evitem a completa alcoólise. Na prática, este fato se confirmou, observando-se que o aumento da temperatura favoreceu a formação de AGLs (Figura 3), levando a conversões menos eficientes. Mesmo a 30°C, temperatura usada como referência, após o consumo total da gordura, a ocorrência de AGL é evidente.

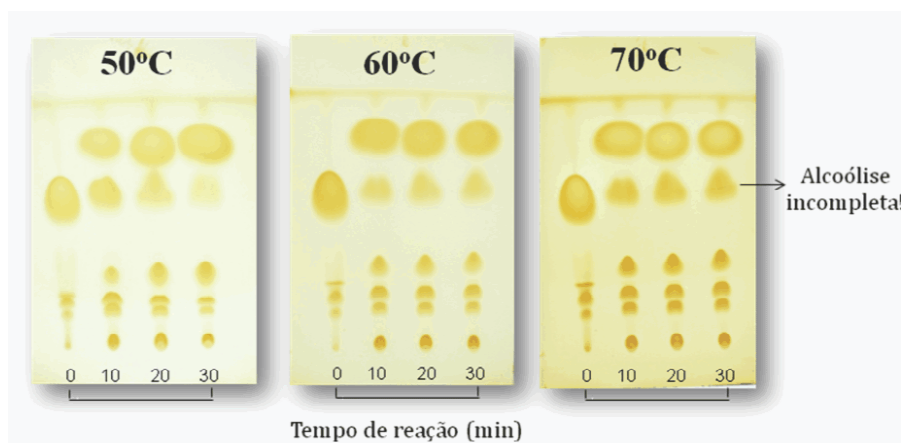
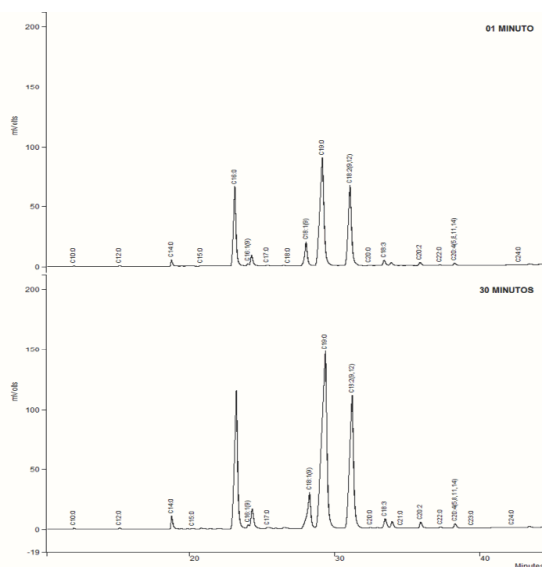


Figura 3. Influência da temperatura na conversão dos resíduos gordurosos

O mesmo efeito negativo foi observado quando o nível do catalisador foi aumentado. Assim sendo, as condições mais brandas são indicadas para aplicação na produção do biocombustível por favorecerem o curso da reação de transesterificação quando comparadas as demais. Mais do que encontrar as condições para o processo da reação, é importante considerar o isolamento do biodiesel, que tem como etapa principal a formação espontânea de fases (glicerol e ésteres) ao final do processo. Sabe-se que a separação do glicerol é dificultada pelo uso do álcool etílico e pelas concentrações de AGL e álcool na mistura final. Em conjunto, experimentalmente, esses fatores podem levar à formação

de uma emulsão estável de difícil separação. De maneira positiva, nas condições preferidas para transesterificação das gorduras em estudo (KOH 1% (m/m), 30°C, razão molar etanol/gordura 7:1, 30 minutos), as quais tendem a desfavorecer a saponificação como reação paralela, a separação do glicerol e dos ésteres etílicos na mistura reacional foi nítida após repouso de aproximadamente 30 minutos. Desta forma, o biodiesel pôde ser prontamente obtido para purificação posterior, sem ser submetido a processos de evaporação para remoção do excesso de álcool, os quais são acompanhados por aquecimento.

Experimentalmente, os estudos cinéticos de reações químicas envolvem a determinação das concentrações dos reagentes ou dos produtos ao longo do tempo. No caso da transesterificação de óleos e gorduras, geralmente monitora-se a formação dos respectivos ésteres produzidos. Neste estudo, o desenvolvimento das reações realizadas foi satisfatoriamente acompanhada por CG/DIC, observando-se o aumento da área total dos picos relacionados aos ésteres etílicos majoritários (Figura 4).



Similar aos resultados obtidos no estudo por CCD, o melhor desempenho reacional quantitativo ocorreu a 30°C, em 30 minutos, com razão molar álcool/gordura em 7:1 (m/m) sob ação catalítica de KOH a 1% (m/m). Observou-se também que a produção de biodiesel etílico a partir da transesterificação das gorduras animais, conforme ilustra a Figura 5, é fortemente influenciada pela quantidade do catalisador. A presença de KOH a 1% (m/m), como já citado, apresentou o melhor desempenho a 30°C, chegando a cerca de 80% de conversão após 30 minutos de reação. O mesmo recurso foi utilizado para visualizar o melhor comportamento reacional durante o processo de transesterificação das gorduras animais.

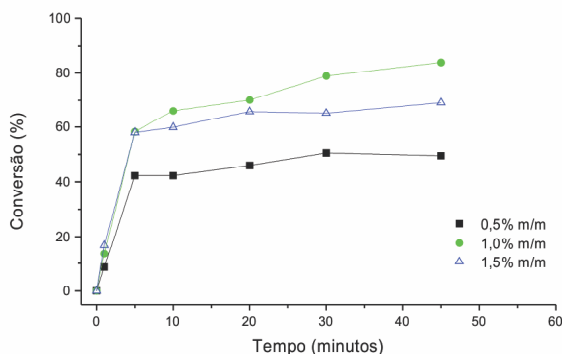


Figura 5. Efeito do nível de KOH na formação de EEAGs durante a transesterificação de gorduras animais

Com relação à conversão de gordura em biodiesel, inicialmente foram estimadas a conversão máxima (A) e a constante da velocidade da reação (K), para cada unidade experimental, utilizando a equação (1): $E(y) = A(1 - e^{-Kt})$ (1) sendo:

$E(y)$: valor esperado da conversão de gordura em biodiesel;

A : conversão máxima;

e : número natural;

K : constante da velocidade da reação.

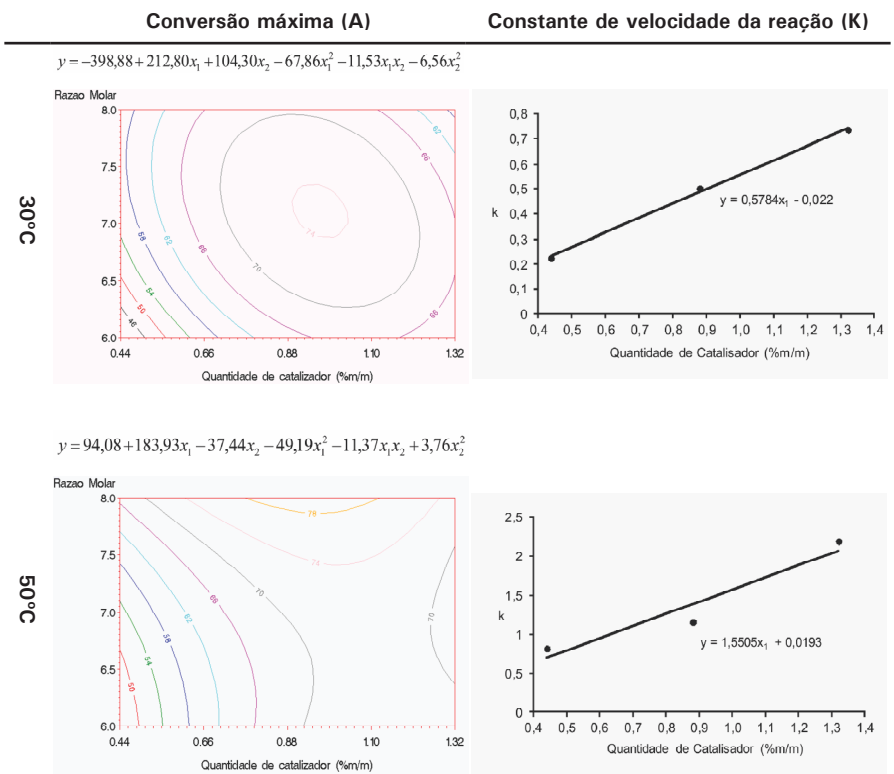
Na Tabela 3 são apresentados os níveis descritivos de probabilidade do teste F da análise de superfície de resposta para a conversão máxima (A) e para a constante de velocidade da reação (K), em cada temperatura de reação. Verifica-se que para a conversão máxima (A) todos os efeitos foram significativos, exceto para 70°C, onde o produto cruzado não foi significativo ($p > 0,05$). Para a constante de velocidade da reação (K), apenas os efeitos lineares foram significativos, afora os termos quadráticos na análise da temperatura a 70°C.

Tabela 3. Níveis descritivos de probabilidade do teste F da análise de superfície de resposta para cada temperatura

Causas de Variação	GL	30°C		50°C		70°C	
		A	K	A	K	A	K
Linear	2	0,0018	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,0293
Quadrático	2	<0,0001	0,8534	<0,0001	0,1969	0,0008	0,1223
Produto Cruzado	1	0,0096	0,3208	0,0002	0,8582	0,7636	0,0030
Modelo Total	5	<0,0001	0,0006	<0,0001	0,0002	<0,0001	0,0049
Desvio de Regressão	3	0,2290	0,1386	0,2507	0,6170	0,0016	0,1816
R2		0,9314	0,8635	0,9760	0,9540	0,9270	0,8398

Investigando melhor os casos em que não houve efeito significativo de todos os termos, observou-se que houve efeito significativo ($p < 0,05$) apenas para K utilizando o termo linear relacionado à quantidade de catalisador nas temperaturas de 30°C e 50°C. Na temperatura de 70°C os termos lineares relacionados à quantidade de catalisador e à razão molar foram significativos ($p < 0,05$), bem como o produto cruzado entre esses dois fatores. No caso da conversão máxima (A) na temperatura de 70°C, além da não significância ($p > 0,05$) do produto cruzado, também o termo quadrático relacionado à razão molar não foi significativo. Posteriormente foi realizada uma análise de superfície de resposta, considerando os fatores razão molar e quantidade de catalisador. A Figura 6 mostra o comportamento da conversão máxima e da constante de velocidade da reação em função dos modelos finais ajustados. Com

a reação ocorrendo aos 30°C, a conversão máxima de gordura em bio-diesel (74,36%) ocorre com o uso de 0,964% de catalisador e 7,107:1 de razão molar. Além disso, com a utilização de 0,964% de catalisador, espera-se que a constante de velocidade da reação seja igual a 0,5356, o que implica que em dez minutos já ocorra 99,53% da transesterificação. Finalmente, a utilização 50°C de temperatura, combinada com 0,88% de catalisador e 7:1 de razão molar (combinação que permitiu a separação espontânea nessa temperatura) leva a conversão máxima média de 72,69% com constante de velocidade da reação igual a 1,3982. Com temperaturas de 50°C e 70°C, a direção do ponto ótimo da conversão máxima (A) ocorre ao redor de 1,1% (m/m) de catalisador e 8:1 de razão molar álcool gordura, o que implica em um maior gasto de reagentes e solução.



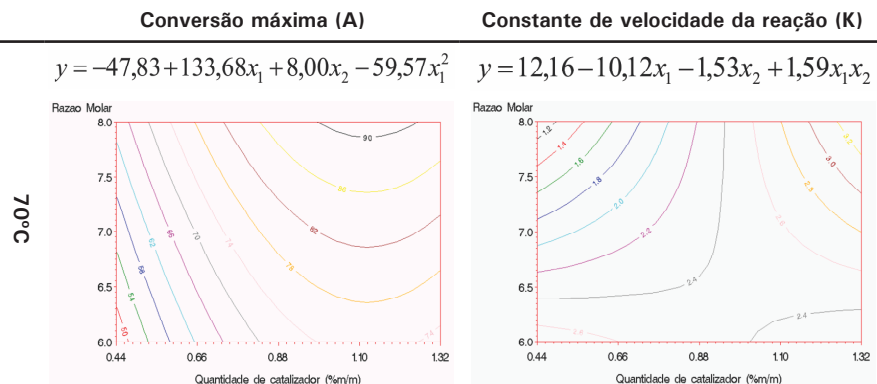


Figura 6. Gráfico de contornos e retas ajustadas da conversão máxima e da constante de velocidade da reação em função da quantidade de catalisador e da razão molar, para cada temperatura de reação (x_1 = quantidade de catalisador e x_2 = razão molar)

De acordo com os estudos preliminares utilizando técnicas cromatográficas de análise, apresentou-se a condição reacional mais favorável para obtenção de biodiesel etílico a partir de resíduos de gorduras animais com catálise homogênea. Neste contexto, tais condições (razão molar EtOH:gordura \approx 7:1; KOH a 1 % (m/m) em relação à gordura; $T = 30^\circ\text{C}$) foram aplicadas para produção do biocombustível em escala piloto. O balanço de massa do processo é apresentando na Tabela 4, onde estão resumidos os resultados do processamento de 25 Kg de cada tipo de gordura, em bateladas de 5 Kg. Com base nos valores de rendimentos, é possível estimar que, em média, aproximadamente 100 litros de biodiesel podem ser obtidos a partir do processamento de 100 Kg das matérias-primas sob investigação.

Tabela 4. Balanço de massa para o processo de transesterificação

Graxa mista de suínos e aves		
Massa de reagentes e produtos (g)	Gordura (840 g/mol)	5.000
	Etanol (46 g/mol)	1.950
	Biodiesel obtido (293 g/mol)a	4.400
	Biodiesel esperado	5.274
N.º de mol de reagentes e produtos (mol)	Gordura	6
	Etanol	42,9
	Biodiesel obtido*	15
	Biodiesel esperado em g	18
Rendimento (%)	Rendimento em massa (%)	83
	Rendimento molar (%)	83
Graxa ácida do flotado		
Massa de reagentes e produtos (g)	Gordura (837 g/mol)	5.000
	Etanol (46 g/mol)	1.950
	Biodiesel obtido (293 g/mol)a	4.300
	Biodiesel esperado	5.250
N.º de mol de Reagentes e Produtos (mol)	Gordura	6
	Etanol	42,9
	Biodiesel obtidoa	14,7
	Biodiesel esperado em g	18
Rendimento (%)	Rendimento em massa (%)	82
	Rendimento molar (%)	82

*Produto purificado.

Devido à natureza dos materiais de partida, as amostras de biodiesel apresentaram composições semelhantes, tendo como constituintes majoritários os seguintes ésteres etílicos de ácidos graxos: C14:0 (1,0%), C16:0 (18,5%), C16:1 (2,5%), C18:0 (6,0%), C18:1 (40 %), C18:2 (26%), C18:3 (1,5%), C20:2 (0,7%) e C20:4 (0,5%). Na Tabela 5 são apresentadas as principais propriedades das amostras de biocombustível produzidas. Em termos gerais, frente à concordância das características observadas com os parâmetros regulamentados pela AGÊNCIA

NACIONAL DO PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS (2008), o biodiesel apresentou qualidade satisfatória para uso como aditivo ou combustível em motores de combustão – ciclo diesel.

Tabela 5. Propriedades do biodiesel produzido a partir de resíduos de gorduras animais

Ensaio	Un.	Esp ^a	BD-1 ^b	BD-2 ^c
Aspecto	-	LII ^d	LII a 19,5°C	LII a 20,0°C
Massa específica a 20°C	Kg/m ³	850-890	870	870
Viscosidade cinemática a 40°C	mm ² /s	3,0-6,0	4,822	4,613
Na + K	mg/kg	5 máx	0,67	0,3
Ca + Mg	mg/kg	5 máx	0,7	0,8
Ponto de entupimento de filtro a frio	°C	19 máx	-2	-2
Índice de acidez	mgKOH/g	0,50 máx	0,07	0,06
Etanol	% massa	0,20 máx	0,06	0,00
Ponto de fulgor	°C	100,0 mín	149,5	181,0
Resíduo de carbono	% massa	0,050 máx	0,005	0,007
Índice de iodo	g/100g	Anotar	77,690	80,697
Estabilidade à oxidação	h	6 mín	2,6	1,7
Glicerol livre	% massa	0,02 máx	0,00	0,00
Glicerol total	% massa	0,25	0,24	0,33
Monoglicerol	% massa	Anotar	0,23	0,23
Diglicerol	% massa	Anotar	1,04	1,63
Triglicerol	% massa	Anotar	0,26	0,35

^aEspecificações da Resolução ANP N° 7, DE 19.03.2008 – DOU 20.03.2008 (AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS, 2008).

^bBiodiesel de graxa mista de suínos e aves;

^cBiodiesel de graxa ácida do flotado;

^dLímpido e isento de impurezas.

Tecnologias geradas

Processo de produção de biodiesel a partir de gorduras provenientes de abatedouros de aves e suínos por meio do método de transesterificação.

Considerações finais

Os resíduos de gorduras animais (mista de aves e suínos e flotada ácida) com $IA < 0,1\%$ são fontes renováveis de biomassa para obtenção de biodiesel etílico com qualidade satisfatória para uso comercial. Dessa forma, a preparação do biocombustível pode ser realizada em condições brandas (30°C), usando-se a razão molar etanol/gordura de 7:1 e KOH como catalisador a 1% (m/m) alcançando-se uma conversão de aproximadamente 75%. Além disso, a produção de biodiesel pode ser realizada pela transesterificação de misturas de gorduras animais, já que o comportamento da reação é similar para os diferentes materiais de partida.

Referências

AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS (Brasil). Resolução nº 7 de 19 mar. 2008. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, n. 55, 20 mar. 2008. Seção 1, p. 37-39.

BALANÇO energético nacional de 2003. Brasília, DF: Ministério de Minas e Energia, 2004. 168 p.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Disponível em: <www.fao.org>. Acesso em: 2 set. 2010.

FERRARI, R. A.; OLIVEIRA, V. da S.; SCABIO, A. Biodiesel de soja: taxa de conversão em ésteres etílicos, caracterização físico-química e consumo em gerador de energia. **Química Nova**, São Paulo, v. 28, n. 1, jan./fev, 2005.

FROEHNER, S.; LEITHOLD, J.; LIMA JÚNIOR, L. F. Transesterificação de óleos vegetais: caracterização por cromatografia em camada delgada e densidade. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 8, p. 2016-2019, 2007.

GÜRÜ, M.; KOCA, A.; CAN, Ö.; ÇINAR, C.; SAHIN, F. Biodiesel production from waste chicken fat based sources and evaluation with Mg based additive in a diesel engine. **Renewable Energy**, v. 35, n. 1, p. 637-643, jan. 2010.

HUANG, Y. P.; CHANG, J. I. Biodiesel production from residual oils recovered from spent bleaching earth. **Renewable Energy**, v. 35, n. 1, p. 269-274, jan. 2010.

MEHER, L. C.; SAGAR, D. V.; NAIK, S. N. Technical aspects of biodiesel production by transesterification – a review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 10, n. 3, p. 248-268, jun. 2006.

SAS Institute Inc. **System for Microsoft Windows**: release 9.1. Cary, N.C., 2003. 1 CD-Rom.

SANTOS FILHO, J. I. dos; HIGARASHI, M. M.; ABREU, P. G. de; ZANOTTO, D. L. Potencial de produção de gordura do efluente dos flotados oriundos do abate de suínos e frangos. In: CONGRESSO DA REDE BRASILEIRA DE TECNOLOGIA DE BIODIESEL, 4.; CONGRESSO BRASILEIRO DE PLANTAS OLEAGINOSAS, ÓLEOS, GORDURAS E BIODIESEL, 7., 2010, Belo Horizonte. **Biodiesel**: inovação tecnológica e qualidade: anais: trabalhos científicos. Lavras: UFLA, 2010. p. 661-662. v. 2.

SCHUCHARDT, U.; SERCHELI, R.; VARGAS, R. M. Transesterification of vegetable oils: a review. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, São Paulo, v. 9, n. 3, p. 199-210, may/jun. 1998.

SHARMA, Y. C.; SINGH, B.; UPADHYAY, S. N. Advancements in development and characterization of biodiesel: a review. **Fuel**, v. 87, n. 12, p. 2355-2373, 2008.

SWISHER, K. The emerging South American biodiesel industry. **Render Magazine**, p. 26-27, feb. 2009.

VIANA, D. S.; RABELO, J. M. de O.; ROSSI, L. F. dos S. Viabilidade técnica e econômica do uso de biodiesel de gordura animal na frota de transporte da região metropolitana de Curitiba. In: CONGRESSO NACIONAL DE ENGENHARIA MECÂNICA, 5., 2008, Salvador. **[Anais...]** Salvador: ABCM, 2008.

CAPÍTULO 3

Redução de emissão de metano e gás sulfídrico por meio do tratamento de dejetos suínos via compostagem

Martha Mayumi Higarashi

Luana Goulart Sardá

Susana Muller

Paulo Armando Victoria de Oliveira

Introdução

A suinocultura brasileira, historicamente, se constitui em um setor de grande importância para as pequenas propriedades rurais, sendo que aproximadamente 82% dos animais são criados em unidades de até 100 ha. A atividade estava presente em 46,5% das 5,8 milhões de propriedades do país onde empregava-se mão-de-obra familiar, gerando renda e estabilidade social (IBGE, 1991). No entanto, após quase três décadas, a cadeia produtiva se tornou cada vez mais especializada, diminuindo o número de produtores e aumentando a produção de maneira considerável.

No estado de Santa Catarina, onde se concentra a maior produção suinícola do país, representando cerca de 12% do rebanho nacional, a análise censitária de 1985 a 1996 apontou alterações significativas na estrutura produtiva e no perfil tecnológico da suinocultura estadual. Neste período ocorreu uma diminuição do número de propriedades com suínos e na quantidade de produtores que detêm na suinocultura sua principal atividade, indicando uma forte concentração da produção e aumento da produtividade do rebanho industrial, representando uma elevação de 86% na participação deste segmento (GUIVANT; MIRANDA, 1999).

Com a crescente adoção deste sistema de produção intensivo em função do desenvolvimento acelerado da suinocultura, paralelamente ocorreu a falta de adequação dos sistemas de manejo e armazenamento, e a atividade se transformou num fator de desequilíbrio ambiental, destacando-se a contaminação do solo e dos recursos hídricos por nitrogênio, fosfato e organismos de risco sanitário e por consequência, a morte de peixes, proliferação de borrachudos e moscas (GUIVANT; MIRANDA, 1999; MIRANDA, 2007; SEGANFREDO, 2007). Além disso, ressalta-se a emissão de gases, tanto aqueles que contribuem para o efeito estufa, tais como metano (CH_4), dióxido de carbono (CO_2) e óxido nitroso (N_2O), como gases poluentes como gás sulfídrico (H_2S), que participa na formação das chuvas ácidas, e a amônia (NH_3) que pode

causar a eutrofização de corpos d'água. Estes gases também geram maus odores e podem afetar a saúde humana e o ambiente, provocando desconforto para a população ao redor das zonas de produção e alterando os ecossistemas naturais (HOBSON et al, 2005; BLUNDEN et al, 2008).

Considerando que os dejetos de suínos são utilizados para adubação das lavouras, aumentando a sobrecarga destes resíduos por unidade de área nas propriedades, já que na sua maioria a estrutura fundiária e a proporção de terras aptas para agricultura permaneceu a mesma. A alternativa adotada pelos produtores foi, e ainda é, a transferência do excedente para propriedades vizinhas, isso se mostra cada vez menos oportuno, pois além dos custos de transporte, existe o potencial poluidor da suinocultura já citado acima.

Uma forma de reduzir o impacto ambiental e os níveis de emissões desses gases da atividade suinícola é a utilização da compostagem dos dejetos suínos, manejando os resíduos na forma sólida. Como o processo de compostagem é aeróbio, as emissões de gases são reduzidas, além de que a aplicação do composto orgânico no solo poderá contribuir para aspectos químicos, físicos e biológicos, melhorando sua capacidade de armazenamento de água, porosidade e estabilidade de agregados do solo e possibilitando a disponibilidade de nutrientes para as plantas (RCHIGL, 1995). A tecnologia também propicia o uso do adubo orgânico em propriedades mais distantes do que normalmente acontece com os dejetos líquidos, pois o produto final possuirá menor volume e será sólido, além de facilitar o armazenamento do mesmo.

Nesse sentido, o presente trabalho teve o objetivo de estudar o efeito da conversão do manejo dos dejetos de suínos da forma líquida para sólida (por meio da compostagem), sobre as taxas de emissões de gases de efeito estufa e gases poluentes, com a perspectiva de desenvolver estratégias de mitigação dos impactos atmosféricos da atividade.

Material e métodos

Comparou-se a emissão de gases (CH_4 e H_2S) entre o manejo dos dejetos suínos na forma sólida (compostagem) e líquida (esterqueira). Os estudos de caso foram conduzidos em uma plataforma de compostagem piloto, localizada no campo experimental da Embrapa Suínos e Aves, na cidade de Concórdia, SC.

Os dois sistemas avaliados consistiram de compostagem e esterqueira, cada um com duas repetições, realizadas em quatro caixas de madeira de $0,84 \text{ m}^3$ de volume, com as seguintes dimensões internas: $0,545 \text{ m}$ de largura, $1,98 \text{ m}$ de comprimento e $0,78 \text{ m}$ de altura (Figura 1).



Figura 1. Representação esquemática e construção das instalações onde foi conduzido o experimento

Utilizou-se um volume de 735 L de dejetos de suíno para cada repetição, tanto para a compostagem como para a esterqueira. Para o tratamento de compostagem usou-se 122,5 kg de substrato (maravalha de pinus) e os dejetos utilizados foram coletados na granja de suínos da unidade demonstrativa da Embrapa Suínos e Aves, onde encontravam-se alojados 48 suínos em terminação, com produção diária de $0,336 \text{ m}^3$ de dejetos líquidos. Os dejetos empregados foram amostrados a cada aplicação e analisados no laboratório de análises físico-químicas da Embrapa Suínos e Aves, utilizando metodologias padronizadas (APHA/

AWWA/WEF, 1994).

As características físico-químicas dos dejetos são apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1. Características físico-químicas dos dejetos utilizados

Datas de coleta	Carbono Orgânico (%)	Nitrogênio (%)	Sólidos Totais (%)	Sólidos Voláteis (%)	Sólidos Fixos (%)
14/07/08	1,5	0,260	2,24	1,63	0,661
21/07/08	0,99	0,223	2,19	0,566	0,621
28/07/08	1,5	0,329	2,23	1,49	0,733
04/07/08	1,3	0,282	2,30	1,67	0,633

A aplicação do dejetos à maravalha foi feita de acordo com metodologia descrita por Nunes (2003), com o parcelamento das aplicações, intercaladas em uma semana até se atingir a proporção de seis litros de dejetos para cada um quilo de maravalha. Na primeira aplicação foi adicionado o equivalente a 40% do total a ser impregnado, na segunda 30%, na terceira 20% e na última 10%.

As etapas e as proporções de dejetos aplicado estão descritas na Tabela 2.

Tabela 2. Etapas de aplicação do dejetos líquido de suínos

Datas da aplicação	Porcentagem de aplicação (%)	Quantidade de dejetos líquido suíno (L)
14/07/08	40	294
21/07/08	30	220,5
28/07/08	20	147
04/07/08	10	73,5

O monitoramento da emissão dos gases se deu durante 60 dias e as coletas ocorreram diariamente durante o primeiro mês e duas vezes por semana durante o segundo mês, tanto nas leiras de compostagem como nas esterqueiras. O equipamento utilizado para o monitoramento da emissão de gases foi o modelo X-AM 7000 da Dräger, equipado

com sensores infravermelhos para a medição dos gases metano (CH_4) e dióxido de carbono (CO_2), e um sensor eletroquímico para medição de gás sulfídrico (H_2S).

A mensuração dos gases foi feita utilizando a metodologia de câmara estática conforme a Figura 2, na qual os gases emitidos pela superfície da compostagem de dejetos de suíno são concentrados em uma câmara de polietileno disposta sobre a superfície da leira de compostagem e aspirado numa vazão de 0,5 L/min pelo medidor de gases. Em cada leito de compostagem efetuou-se a leitura de emissão de gases em três pontos de coletas, sendo que em cada ponto as leituras foram feitas por três minutos. Nas esterqueiras as leituras ocorreram em dois pontos de coleta em cada repetição, e em cada ponto as leituras foram feitas por dois minutos. Os tempos e pontos de amostragem foram definidos por meio de diversos experimentos específicos para a otimização da metodologia analítica. Os dados gerados foram transformados conforme Sommer e Møller (2000).

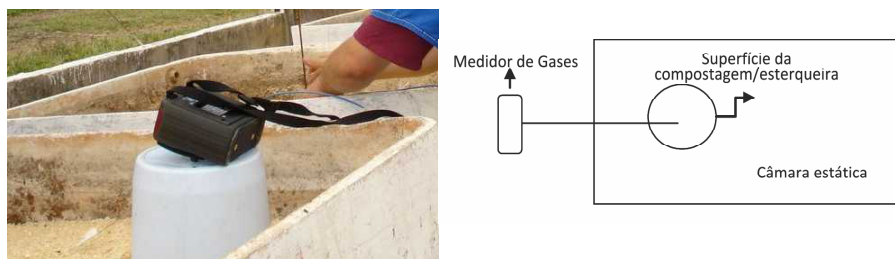


Figura 2. Metodologia da câmara estática empregada para medição da emissão de gases

Para avaliar o desenvolvimento da compostagem, foi realizado o monitoramento da temperatura da biomassa pela introdução de termopares (fios de liga de Cobre Constantan) no interior de cada uma das leiras a uma profundidade de 30 cm. As leituras foram realizadas diariamente no mesmo horário (10h).

As amostras da massa em compostagem foram coletadas semanalmente para o acompanhamento da evolução físico-química do processo. Coletaram-se cinco subamostras nas profundidades de 0,40 e 0,20 m de altura para formar uma amostra composta que foi encaminhada para o laboratório de análises físico-químicas da Embrapa Suínos e Aves para serem processadas e analisadas de acordo com as metodologias oficiais (TEDESCO et al, 1995; CUNNIFF, 1995). Os parâmetros analisados foram Matéria Seca (MS), Carbono Orgânico (CO) e Nitrogênio Total Kjeldahl (NTK).

Resultados e discussões

Emissão de gases no manejo sólido e líquido dos dejetos suínos

Os resultados obtidos para as medidas da emissão de CH_4 nas duas esterqueiras e nas duas leiras de compostagem são mostrados na Figura 3. Os dados demonstram que na compostagem a emissão desse gás é expressivamente menor que no armazenamento líquido, o que já era esperado, uma vez que nas esterqueiras predominam os processos anaeróbios, enquanto que na compostagem predominam os processos aeróbios. Ainda na Figura 3 é possível observar que a emissão de CH_4 na compostagem ocorre somente nos períodos de incorporação do dejetos ao substrato. A emissão das esterqueiras também foi maior durante esse mesmo período inicial porque, a cada incorporação de dejetos ao substrato, também era adicionado às esterqueiras igual volume do mesmo dejetos. Assim, nessa etapa, as esterqueiras foram abastecidas semanalmente com dejetos frescos que, além disso, geravam turbulências na massa líquida, fazendo com que a emissão de CH_4 se intensificasse. Passada a fase de incorporação (21º dia), as esterqueiras passaram a apresentar uma emissão relativamente estável de CH_4 , mas significativa, enquanto que na compostagem a emissão observada esteve abaixo do limite de detecção do equipamento empregado, o que evidencia que a fonte de matéria orgânica mineralizada pelos microrganismos, no período avaliado, era oriunda do dejetos (mais biodegradável).

Considerando-se o valor médio das duas repetições de cada tratamento, verificou-se que a quantidade acumulada de $C-CH_4$ emitida em cerca de 60 dias pelas esterqueiras foi aproximadamente sete vezes maior que pela compostagem.

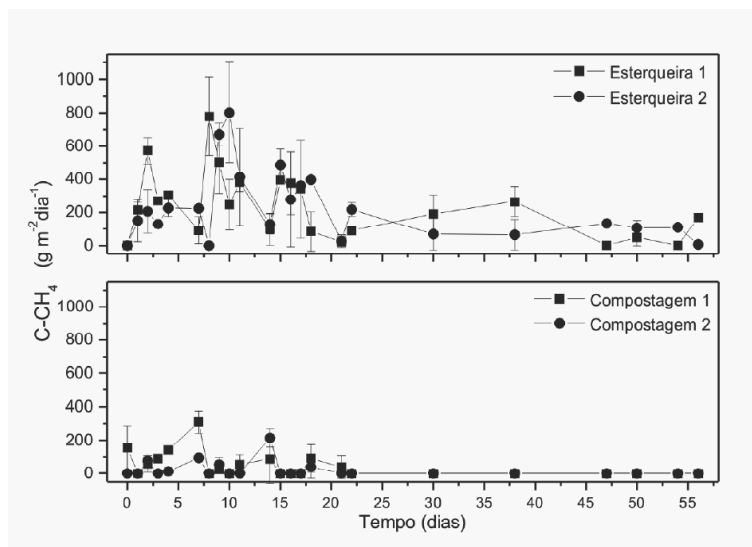


Figura 3. Valores observados de metano dos depósitos líquidos (esterqueiras) e compostagem

Os resultados da emissão de H_2S no depósito líquido e na compostagem (Figura 4) demonstra que a emissão desse gás foi drasticamente reduzida ao se modificar o manejo para a forma sólida. De forma geral, a emissão ficou abaixo do limite de detecção do equipamento empregado (0,01 ppm), fato já esperado e amplamente observado de forma empírica.

Essa perceptível redução do odor característico do H_2S é recorrentemente relatada como uma das maiores vantagens percebidas por produtores e moradores de áreas próximas de granjas que adotaram o manejo dos dejetos na forma sólida (compostagem ou criação em cama sobreposta). Levando-se em consideração a alta sensibilidade do olfato

humano ao H_2S – 0,0005 a 0,2 ppm (DRAFT..., 2004), tais relatos devem ser levados em consideração.

Novamente, nota-se uma maior emissão de gás sulfídrico no período inicial (durante impregnação) pelas mesmas razões descritas para o metano (Figura 4). Alia-se a isso o fato que, na ausência das turbulências causadas pela adição de novos dejetos às esterqueiras, formam-se crostas sob a superfície líquida, decorrente da alta concentração de sólidos do dejetos. Essas barreiras físicas reduzem significativamente a emissão de gases odorosos das esterqueiras (HÖRNIG et al., 1999; GUARINO et al., 2006).

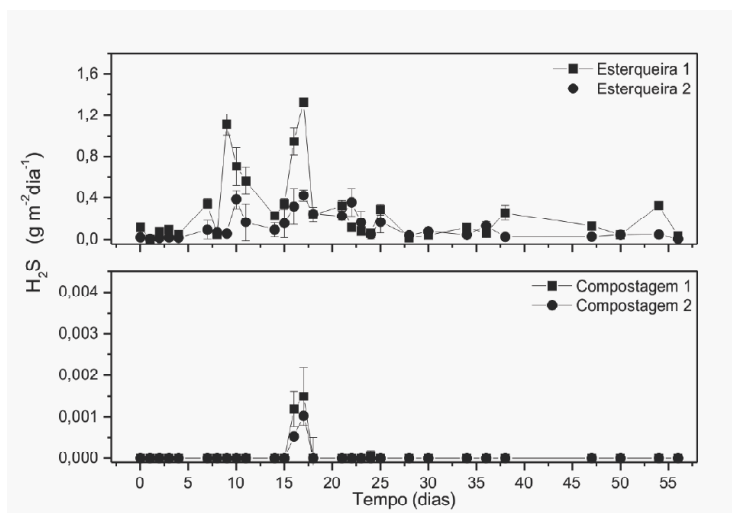


Figura 4. Valores observados de emissão de gás sulfídrico (H_2S) de depósitos líquidos (esterqueiras) e compostagem

Eficiência do processo de compostagem

Neste trabalho, utilizaram-se dejetos com teor médio de sólidos totais de 2,24% (Tabela 2), fator que afetou a eficiência do processo de compostagem, pois as temperaturas não ultrapassaram 52°C (Figura 5) e a relação C/N final permaneceu em 39,53, considerando que a inicial foi de 106,07 (Tabela 3). Uma compostagem aeróbia é um processo onde os microrganismos transformam naturalmente o material biodegradável num produto humificado, destruindo os microrganismos patogênicos, convertendo o nitrogênio que está instável em formas orgânicas estáveis, reduzindo o volume dos resíduos e utilizando-se como adubo para produção de alimentos. Destaca-se a importância da utilização de dejetos com teor de sólidos acima de 3%, pois com isso aumenta-se o teor de carbono orgânico.

Tabela 3. Evolução da matéria seca e da relação carbono/nitrogênio (C/N) do composto orgânico

Dias	Matéria Seca	Relação C/N
0	34,14	106,07
7	31,52	46,08
14	31,55	44,40
21	25,30	39,24
28	28,9	45,20
42	31,50	44,08
56	32,00	39,53

Para que o processo de compostagem seja realizado com sucesso, deve-se ter cuidado com alguns fatores como: temperatura, aeração, umidade e controle apropriado da concentração de nutrientes. A relação C/N é o fator mais importante para a eficiência do processo de compostagem e para a qualidade do composto, para posterior utilização como adubo (ZHU, 2007).

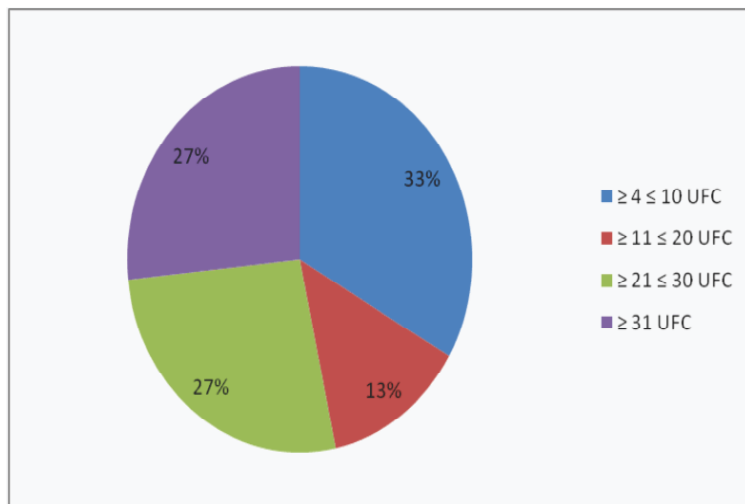


Figura 5. Média das temperaturas internas das leiras de compostagem

Para que se atinja uma relação C/N final ideal (≤ 20) deve-se aumentar o teor de carbono orgânico para facilitar o desenvolvimento dos microrganismos termofílicos, que são responsáveis pela elevação das temperaturas, e a aceleração do processo de degradação dos resíduos orgânicos. Com a queda da temperatura, a atividade dos microrganismos termofílicos diminui e ocorre a perda de calor e a evaporação de água (PAILLAT et al, 2005; ZHU, 2007). Huang et al. (2006) avaliaram alguns parâmetros físico-químicos na compostagem de dejetos suínos e observaram decréscimo gradual do teor de carbono orgânico e aumento das temperaturas ao longo de 21 dias. Em seguida, as temperaturas começaram a declinar e a relação C/N também diminuiu consideravelmente no final do processo de compostagem, período compreendido até os 63 dias, demonstrando que o composto atingiu a maturação e poderia ser utilizado como adubo orgânico.

Assim, é importante lembrar que o manejo dos dejetos na forma sólida será mais eficiente conforme se aumenta o teor de sólidos nos dejetos suínos pela elevação do teor de carbono orgânico e a diminuição da relação carbono/nitrogênio, proporcionando um composto orgânico com

maior concentração de nutrientes e valor econômico.

Conclusões

Nas condições em que o trabalho foi executado, conclui-se que a compostagem reduz a emissão de CH_4 e H_2S comparado à esterqueira. O baixo teor de sólidos presentes em dejetos muito diluídos prejudica a eficiência da compostagem.

Agradecimentos

À FAPESC pelo suporte financeiro, ao CCA/UFSC e à Embrapa Suínos e Aves pelo apoio e suporte técnico para a execução do presente trabalho.

Produção técnico-científica do projeto

Orientações de graduação e pós-graduação

Dissertação de Mestrado pela Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Engenharia Agrícola, Mestrado em Agroecossistemas: "Compostagem como alternativa de tratamento dos dejetos suínos e a redução da emissão de gases poluentes" - Luana Goulart Sardá, defendida em 29/05/2009.

Monografia de final de graduação pela Universidade do Contestado, Curso de Engenharia Ambiental: "Compostagem de dejetos de suínos" - Susana Muller, concluída no segundo semestre de 2008.

Publicações

SARDÁ, L. G.; MULLER, S.; HIGARASHI, M. M.; OLIVEIRA, P. A. V. de; FRANCISCON, L. Emissão de metano e dióxido de carbono durante compostagem de dejetos de suínos: fase de incorporação. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE GERENCIAMENTO DE RESÍDUOS DE ANIMAIS, 1., 2009, Florianópolis. **Anais [das] palestras**. Concórdia: Embrapa Suínos e Aves, 2009. v. 2 p. 191-195.

SARDÁ, L. G.; HIGARASHI, M. M.; MULLER, S.; OLIVEIRA, P. A. V. de; COMIN, J. J. Redução da emissão de CO_2 , CH_4 e H_2S através da compostagem de dejetos suínos. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 14, n. 9, p. 1008-1013, 2010.

HIGARASHI, M. M.; SARDÁ, L. G.; OLIVEIRA, P. A. V. de.; COMIN, J. J.; CURIOLLETTI, F.; BRINGHENTI, M.; MATTEI, R. M. Influência da diluição no desenvolvimento da compostagem de dejetos de suínos com maravalha In: CONGRESO ARGENTINO DE INGENIERÍA RURAL, 5.; MERCOSUR, 2., 2009, Rosário. **Actas: el compromiso de la ingeniería rural con el desarrollo territorial**. Rosário: Editorial de la Universidad Nacional de Rosario, 2009.

HIGARASHI, M. M.; SARDÁ, L. G.; OLIVEIRA, P. A. V. de.; MULLER, S.; COMIN, J. J. Comparação da emissão de metano e gás sulfídrico entre duas formas de manejo de dejetos suínos - esterqueira e compostagem. In: CONGRESO ARGENTINO DE INGENIERÍA RURAL, 5.; MERCOSUR, 2., 2009, Rosário. **Actas: el compromiso de la ingeniería rural con el desarrollo territorial**. Rosário: Editorial de la Universidad Nacional de Rosario, 2009.

HIGARASHI, M. M.; SARDÁ, L. G.; MULLER, S.; OLIVEIRA, P. A. V. de; MATTEI, R. M.; COMIN, J. J. **Metodologia para medir a emissão de CH_4 , CO_2 e H_2S em compostagem de dejetos de suínos**. Concórdia: Embrapa Suínos e Aves, 2010, 5 p. (Embrapa Suínos e Aves. Comunicado Técnico, 479).

HIGARASHI, M. M.; SARDÁ, L. G.; OLIVEIRA, P. A. V. de. The influence of bulking agents on ammonia emission from swine manure co-composting. In: RAMIRAN INTERNATIONAL CONFERENCE, 14., 2010, Lisboa. **Treatment and use os organic residues in agriculture: challenges and opportunites towards sustainable management**. Lisboa: Instituto Superior de Agronomia/Universidade Técnica de Lisboa, 2010.

Referências

APHA/AWWA/WEF. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 19th ed. Washington, D.C.: American Public Health Association, 1994. 1368 p.

BLUNDEN, J.; ANEJA, V. P.; OVERTON, J. H. Modeling hydrogen sulfide emissions across the gás-liquid interface of an anaerobic swine waste treatment storage system. **Atmospheric Environment**, v. 42, p. 5602-5611, 2008.

CUNNIFF, P. (Ed.) **Official methods of analysis of AOAC International**. 16. ed. Washington, D.C.: Association of Official Analytical Chemists, 1995. 2 v.

DRAFT toxicological profile for hydrogen sulfide update. [Atlanta, Ga.]: U.S. Dept. of Health and Human Services, Public Health Service, Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 2004.

GUARINO, M.; FABBRI, C.; BRAMBILLA, M.; VALLI, L.; NAVAROTTO, P. Evaluation of simplified covering systems to reduce gaseous emissions from livestock manure storage. **Transactions of the ASAE**, v. 49, n. 3, p. 737-747. 2006.

GUIVANT, J. S.; MIRANDA, C. As duas caras de Jano: agroindústrias e agricultura familiar diante da questão ambiental. **Caderno de Ciência e Tecnologia**, v. 16, n. 3, p. 85-128, 1999.

HOBSON, A. M.; FREDERICKSON, J.; DISE, N. B. CH₄ e N₂O from mechanically turned windrow and vermicomposting systems following in-vessel pre-treatment. **Waste Management**, v. 25, p. 345-352, 2005.

HUANG, G. F.; WU, Q. T.; WONG, J. W. C.; NAGAR, B. B. Transformation of organic matter during composting of pig manure with sawdust. **Bioresource Technology**, v. 97, p. 1834-1842, 2006.

IBGE. **Censo agropecuário 1985** – Santa Catarina. Rio de Janeiro: IBGE, 1991. 660 p. (Censo econômico nº. 23).

MIRANDA, R. C. Aspectos ambientais da suinocultura brasileira. In: SEGANFREDO, M. A. (Ed.). **Gestão ambiental na suinocultura**. Brasília, D.F.: Embrapa Informação Tecnológica, 2007. p. 13-36

NUNES, M. L. A. **Avaliação de procedimentos operacionais na compostagem de dejetos de suínos**. 101 f. 2003. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) - Faculdade de Engenharia Ambiental, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

PAILLAT, J. M.; ROBIN, P.; HASSOUNA, M.; LETERME, P. Predicting ammonia and carbon dioxide emissions from carbon and nitrogen biodegradability during animal waste composting. **Atmospheric Environment**, v. 29, p. 6833-6842, 2005.

SEGANFREDO, M. A. Os dejetos de suínos e seus riscos ambientais no uso como fertilizante. In: SEGANFREDO, M. A. (Ed.). **Gestão ambiental na suinocultura**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2007. p. 149-175.

SOMMER, S. G.; MOLLER, H. B. Emission of greenhouse during composting of deep litter from pig production: effect of straw content. **Journal of Agricultural Science**, v. 134, p. 327-335, 2000.

TEDESCO, M. J.; GAINELLO, C.; BISSANI, C. A.; BOHNEN, H.; VOLKWEISS, J. S. **Análises de solo, plantas e outros materiais**. 2. ed. Porto Alegre: Departamento de Solos da UFRGS, 1995. 174p. (Boletim Técnico [de Solos] / UFRGS. Departamento de Solos, 5).

ZHU, N. Effect of low initial C/N ratio aerobic composting of swine manure with rice straw. **Bioresource Technology**, v. 98, p. 9-13, 2007.

CAPÍTULO 4

Agilização do método de diagnóstico e tipagem do vírus da influenza aviária e análises de simulação de risco de introdução de influenza na avicultura industrial do Brasil

Liana Brentano
Marcus Vinicius Gouvêa
Fulvia DiPilo
Dilmara Reischak
Soraya Cecília Albieri Camillo
André de Oliveira Mendonça
Paulo Augusto Esteves
Iara Maria Trevisol

Introdução

A influenza aviária é causada por vírus de influenza do grupo A aviário, que são vírus com genoma composto por oito genes, dos quais o gene da proteína e hemaglutinina e neuraminidase são importantes em classificar os diferentes subtipos de vírus. As aves silvestres, principalmente as aves aquáticas, são o reservatório natural do vírus de influenza e constituem a fonte dos diferentes subtipos de vírus de influenza aviária encontrados nas outras espécies, inclusive de alguns subtipos de vírus associados a zoonoses, tais como o vírus H5N1 asiático de alto potencial de mortalidade em humanos. As perdas econômicas resultantes de surtos de vírus de influenza aviária altamente patogênicos são significativas e a ocorrência de influenza na avicultura comercial brasileira seria devastadora pelo seu impacto na perda das receitas cambiais, perdas internas no consumo e desemprego no setor responsável por mais de quatro milhões de vagas diretas e indiretas. A adoção das ações de vigilância sanitária e rápido diagnóstico laboratorial são de extrema importância em condições de risco de ocorrência de influenza, sendo primordial a adoção e aprimoramento de diferentes recursos tecnológicos que possam dar suporte a essas ações.

Os vários subtipos diferentes de vírus de influenza aviária, assim como os Paramyxovírus do tipo I – vírus da doença de Newcastle, variam muito quanto a seu grau de patogenicidade. Dentre os 16 diferentes subtipos de vírus de influenza aviária apenas os vírus com as hemaglutininas H5 e H7 são notificáveis por serem potencialmente patogênicos a galinhas e a algumas outras espécies de aves domésticas. A doença de Newcastle é também uma infecção viral altamente contagiosa das aves, causada pelo vírus da doença de Newcastle, um vírus da família Paramyxoviridae, gênero avulavirus, do sorotipo 1 dentre nove diferentes sorotipos de paramyxovirus aviários já identificados. Dependendo da patogenicidade da cepa viral, a doença de Newcastle pode manifestar-se em diferentes graus de patogenicidade, que variam desde uma infecção subclínica onde os sintomas são inaparentes ou discretos, até uma doença fatal que aparece repentinamente e resulta em alta morta-

lidade das aves e que clinicamente pode ser muito similar a surtos de influenza aviária, devendo sempre ser realizado o diagnóstico laboratorial diferencial de Newcastle ou influenza. Ambas doenças, influenza aviária e Newcastle, são consideradas como notificáveis, de alto risco e impacto econômico quando causadas por vírus altamente patogênicos e, portanto, é essencial a caracterização laboratorial destes vírus para fins de diagnóstico e notificação obrigatória aos órgãos internacionais de controle de saúde animal (MANUAL..., 2008).

O diagnóstico da influenza aviária e da doença de Newcastle necessita ser confirmado pela combinação de diferentes exames laboratoriais, devendo os laboratórios oficiais utilizar metodologias de diagnóstico que estejam de acordo com os padrões e normas internacionais preconizadas pela Organização Internacional de Sanidade Animal (OIE) (MANUAL..., 2008, versão online em www.oie.int). Para a confirmação de um diagnóstico de surtos de influenza ou doença de Newcastle é necessário primeiramente realizar o diagnóstico laboratorial da presença do vírus, que em caso positivo requer subseqüentes análises de caracterização do subtipo do vírus de influenza (diagnóstico de hemaglutinina (HA) Neuraminidase (NA) viral) e, no caso de doença de Newcastle, determinar o sorotipo de paramyxovirus aviário como sendo o APMV-1 (Avian Paramyxovirus 1) – vírus da doença de Newcastle, também é requerido que seja determinada a patogenicidade do vírus de influenza ou diagnosticado, envolvendo assim a execução de diferentes metodologias laboratoriais para um diagnóstico definitivo destes vírus.

Antes da execução deste projeto, realizado em parceria entre a Embrapa Suínos e Aves, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), Secretaria de Defesa Agropecuária (SDA), Coordenação Geral de Apoio Laboratorial (CGAL) e Laboratório Nacional Agropecuário de Campinas (Lanagro - SP), o diagnóstico de influenza estava inteiramente baseado em metodologias extremamente laboriosas e demoradas, tais como isolamento do vírus em ovos e testes sorológicos para os 15 diferentes subtipos do vírus, assim como a determinação *in vivo* da patogenicidade viral, podendo demorar até mais de duas a três se-

manas para realização do diagnóstico de influenza aviária e diagnóstico diferencial de doença de Newcastle, outra doença notificável e também de enorme impacto econômico na avicultura. Estas metodologias acarretavam em tempo excessivo de espera de resultados laboratoriais para que as medidas de contenção imediata de focos pudessem ser tomadas e eram um fator limitante para a ampliação da população de aves que poderia ser monitorada. Em contraste, testes moleculares como Transcrição Reversa – Reação em Cadeia de Polimerase (RT-PCR) e RT-PCR em tempo real são metodologias que permitem pelo menos um diagnóstico preliminar destes vírus em 24 horas. Também, metodologias de sequenciamento de DNA de fragmentos do gene HA do vírus de influenza aviária ou do gene F dos vírus da doença de Newcastle podem agilizar o diagnóstico de patogenicidade viral em menos tempo que os testes *in vivo* em aves, que demoram pelo menos dez dias. Portanto, diagnósticos por RT-PCR associados a sequenciamento de DNA são ferramentas de diagnóstico essenciais e estratégicas para o monitoramento oficial destas enfermidades no país.

Objetivos

Apoiar os programas oficiais de monitoria e controle de influenza e aumentar a segurança e competitividade da produção avícola comercial do Brasil por meio de metodologias de diagnóstico.

Resultados

Serviços e produtos gerados

1. Convênio de Cooperação Técnica MAPA/DAS/CGAL/Lanagro-SP e Embrapa. Atividades executadas no Lanagro-SP vigente entre em maio de 2006 e renovado em outubro de 2008: Convênio de Cooperação Técnica MAPA e Embrapa, assinado em 17 de outubro de 2008. Publicado em DOU nº 216, de 6 novembro de 2008. - Seção 3, página 4.

2. Executada a implantação do laboratório de Biologia Molecular/PCR do Lanagro-SP, do MAPA. Em colaboração entre a Embrapa Suínos e Aves e MAPA/CGAL/Lanagro-SP foi realizada a estruturação física (equipamentos, insumos) e o treinamento e capacitação técnica de pessoal do Lanagro-SP para a execução de diagnósticos moleculares dos vírus da doença de Newcastle, influenza aviária e laringotraqueíte infecciosa das aves. Atualmente o Lanagro-SP está com capacidade física e técnica para realizar extrações de ácidos nucleicos por método automatizado e métodos manuais convencionais, execução de diagnósticos por métodos de RT-PCR e PCR convencional e eletroforese de produtos de DNA, diagnóstico por RT-PCR e PCR em tempo real e metodologias de sequenciamento automático de DNA a partir de produtos de RT-PCR ou PCR para análises de patogenicidade dos vírus.
3. Implantados métodos de diagnóstico molecular dos vírus de influenza aviária e vírus da doença de Newcastle conforme metodologias indicadas pela OIE, desenvolvidas e validadas pelo Laboratório Nacional de Serviços Veterinários (NVSL - National Veterinary Services Laboratories), Ames, Iowa, e pelo Serviço de Pesquisa em Agricultura (ARS – Agricultura Research Services/USDA) em Athens, GA, Estados Unidos.

Métodos de diagnóstico implantados no Lanagro-SP

1. RT-PCR em tempo real para diagnóstico do Gene M dos vírus de influenza aviária (AIV), em execução na rotina de diagnóstico molecular do laboratório.
2. RT-PCR em tempo real para diagnóstico do Gene M dos Paramyxovirus-1 para diagnóstico do vírus da doença de Newcastle (NDV), em execução na rotina de diagnóstico molecular do laboratório.
3. RT-PCR em tempo real para diagnóstico dos vírus de influenza aviária dos subtipos H5 e H7 (linhagens virais Américas e Ásia e vírus H7 da América do Sul – Chile), em execução na rotina de diagnóstico molecular do laboratório.
4. RT-PCR em tempo real para diagnóstico do Gene F de amostras altamente patogênicas do vírus da doença de Newcastle (NDV) em galinhas.

5. RT-PCR convencional para os diagnóstico dos subtipos H2, H3 e H4 de influenza aviária, únicos subtipos de vírus já identificados oficialmente no Brasil em aves domésticas ou migratórias.
6. RT-PCR convencional para diagnóstico do gene F dos vírus da doença de Newcastle, para sequenciamento de DNA e patotipagem molecular, em execução na rotina de diagnóstico molecular do laboratório.
7. RT-PCR para amplificação e sequenciamento do gene HA dos vírus de influenza aviária. Os protocolos de sequenciamento do gene HA (hemaglutinina) de vírus H5 e H7 foram implantados mediante colaboração com o Instituto Interamericano de Cooperação para a Agricultura (IICA) e apoio técnico e treinamento realizado pela Dra. Alice Fusaro do Reference Laboratory for Newcastle disease and avian influenza/Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Itália. Protocolos para amplificação e sequenciamento de todo gene HA de outros subtipos de influenza foram padronizados no laboratório de sanidade animal da Embrapa Suínos e Aves.
4. Implantados protocolos e realizado treinamento de pessoal do Lanagro-SP em métodos de diagnóstico molecular (PCR e sequenciamento) do vírus da laringotraqueíte infecciosa das aves. Treinamento de técnico do Lanagro-SP na Embrapa Suínos e Aves em metodologias de cultivo celular para isolamento de vírus da laringotraqueíte infecciosa das aves.
5. Realizada pela Embrapa, com autorização do MAPA, a importação de amostras de referência do vírus de influenza aviária de baixa patogenicidade, compreendendo 15 diferentes subtipos de hemaglutinina e nove diferentes neuraminidases, para disponibilizar ao Lanagro-SP amostras virais de referência para padronização de reagentes controles de diagnóstico e para a produção de antígenos de referência e preparo de estoques virais para padronização das técnicas de diagnósticos por real time RT-PCR e RT-PCR e para implantação da caracterização dos vírus de influenza por sequenciamento de DNA. As amostras de baixa patogenicidade dos subtipos H5 (H5N2 A/TY/CA/209092/02) e H7 (H7N3 A/TY/Ore/71) importadas do NVSL/USDA, são os subtipos virais que causam doença de notificação obrigatória e por determinação do MAPA foram propagadas no Laboratório de Segurança Nível 3 - Laboratório NB-3 + , do Instituto de Ciências Biomédicas (ICB II) da Universidade de São Paulo

(USP), em cooperação entre Embrapa Suínos e Aves e Prof. Dr. Edison L. Durigon, do laboratório de virologia do ICB II/USP. Os vírus de referência dos subtipos H5 e H7 foram disponibilizados ao Lanagro-SP para fins de produção de antígenos e implantação de métodos de HI para sorologia específica para vírus H5 e H7 a ser executada pelo Lanagro-SP. RNA extraído destes vírus estão sendo utilizados no Lanagro-SP como controles positivos para os testes de RT-PCR em tempo real na rotina de diagnóstico dos vírus dos subtipos H5 e H7.

5. Colaboração na aprovação do programa de Twinning da OIE para parceria técnica entre o Lanagro-SP e o United States Department of Agriculture, National Veterinary Services Laboratories (USDA/APHIS/NVSL) e Laboratório Internacional de Referência da OIE para influenza aviária e doença de Newcastle, para colaboração técnica e capacitação do Lanagro-SP nas normas preconizadas pela OIE para laboratórios internacionais de referência. Execução da redação do projeto e colaboração da Embrapa Suínos e Aves como integrante dos currículos de responsáveis técnicos da proposta do projeto submetida à OIE pela Secretaria de Defesa Agropecuária/CGAL/Lanagro-SP. Aprovação do projeto pela OIE em setembro de 2008 para execução estimada até dezembro de 2010. A aprovação e execução deste programa de Twinning entre o NVSL e Lanagro-SP, amparado por recursos financeiros da OIE, poderá permitir ao MAPA a submissão à OIE de requerimento para que o Lanagro-SP seja reconhecido como Laboratório Internacional de Referência da OIE para diagnóstico oficiais dos vírus de influenza aviária e doença de Newcastle.

Considerações finais

Em colaboração entre a Embrapa e o MAPA foi efetivada a implantação do laboratório de diagnóstico molecular de enfermidades virais de aves (influenza aviária e doença de Newcastle), no Lanagro-SP, que é o laboratório oficial de referência do MAPA para diagnóstico de influenza aviária e doença de Newcastle do Brasil.

A implantação deste laboratório é um resultado relevante do projeto uma vez que atendeu as expectativas de viabilizar ao país diagnósticos mais rápidos do que eram até então disponíveis, e que fossem também já reconhecidos pela OIE para diagnósticos oficiais de influenza aviária e doença de Newcastle para fins de comércio doméstico e internacional. Com a viabilização do laboratório de diagnóstico molecular do Lanagro-SP os diagnósticos de influenza aviária, assim como da doença de Newcastle, podem ser feitos em 24 a 48 horas, permitindo ao laboratório oficial do MAPA melhor atender as expectativas e demandas do serviço oficial de defesa sanitária animal com metodologias mais rápidas para o controle e monitoramento destas doenças de notificação obrigatória e que provocam grande impacto econômico aos países produtores de aves. Antes da estruturação do laboratório e implantação das metodologias de diagnóstico molecular os diagnósticos, oficiais de influenza aviária e doença de Newcastle baseados apenas nas metodologias virológicas convencionais poderiam demorar entre até duas a três semanas ou mais, acarretando em grandes dificuldades aos serviços de defesa e colocavam em desvantagem a competitividade do Brasil em questões sanitárias reguladas pela OIE e a capacidade do país em monitorar e enfrentar eventual surto destas doenças.

Referências

MANUAL of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals. Paris: OIE/World Organisation for Animal Health, 2008. 1343 p.

Literatura recomendada

ALDOUS, E .W.; MYNN, J. K.; BANKS, J.; ALEXANDER, D. J. A molecular epidemiological study of avian paramyxovirus type 1 (Newcastle disease virus) isolates by phylogenetic analysis of a partial nucleotide sequence of the fusion protein gene. **Avian Pathology**, v. 32, n. 3, p.239-257, jun. 2003.

CHEUNG, T. K .W.; POON, L .L. M. Biology of influenza A virus. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1102, n. 1, p. 1-25, 2007.

COLLINS, M. S.; BASHIRUDDIN, J. B.; ALEXANDER, D. J. Deduced amino acid sequences at the fusion protein cleavage site of Newcastle disease viruses showing variation in antigenicity and pathogenicity. **Archives of Virology**, v. 128, p. 363-370, 1993.

HOFFMANN, E.; STECH, J.; GUAN, Y.; WEBSTER, R. G.; PEREZ, D. R. Universal primer set for the full-length amplification of all influenza A viruses. **Archives of Virology**, v. 146, p. 2275-2289, 2001.

SPACKMAN, E.; SENNE, A.; BULGA, L. L.; MYERS, T. J.; PERDUE, M. L.; GARBER, L. P.; LOHMAN, K.; DAUUM, L. T.; SUAREZ, M. L. Development of real-time RT-PCR for the detection of avian influenza virus. **Avian Disease**, n. 47, p. 1079-1082, 2004.

SEAL, B. S.; KING, D. J.; BENNETT, J. D. Characterization of Newcastle disease virus isolates by reverse transcription PCR coupled to direct nucleotide sequencing and development of sequence database for pathotype prediction and molecular epidemiological analysis. **Journal of Clinical Microbiology**, n. 33, p. 2624-2630, 1995.

SUAREZ D. L.; SENNE, D. A.; BANKS, J.; BROWN, I. H.; ESSEN, S. C.; LEE, C. W.; MANVELL, R. J.; MATHIEU-BENSON, C.; MARENO, V.; PEDERSEN, J.; PANIGRAHY, B.; ROJAS, H.; SPACKMAN, E.; ALEXANDER, D. J. Recombination resulting in virulence shift in avian influenza outbreak, Chile. **Emerging Infectious Diseases**, v. 10, p. 693-699, 2004.

WEBSTER, R. G.; BEAN, W. J.; GORMAN, O. T.; CHAMBERS, T. M.; KAWAOKA, Y. Evolution and ecology of influenza A viruses. **Microbiological Reviews**, v. 56, n. 1, p. 152-179, 1992.

WEBSTER, R. G.; PEIRIS, M.; CHEN, H.; GUAN, Y. H5N1 Outbreaks and Enzootic Influenza. **Emerging Infectious Diseases**, v. 12, n. 1, p. 3-8, 2006.

WISE, M. G.; SUAREZ, D. L.; SEAL, B. S.; PEDERSEN, J. C.; SENNE, D. A.; KING, D. A.; KAPCZYNSKI, D. R.; SPACKMAN, E. Development of a Real-Time Reverse-Transcription PCR for detection of Newcastle disease virus RNA in clinical samples. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 42, n. 1, p. 329-338, 2004.

CAPÍTULO 5

Epidemiologia e controle da linfadenite granulomatosa em suínos criados no sistema de cama sobreposta

Introdução

O sistema de criação de suínos em cama sobreposta é uma tecnologia alternativa, que visa a redução do impacto ambiental decorrente do tratamento de dejetos das criações intensivas convencionais, principalmente nas regiões de alta concentração animal. Porém, este sistema favorece a ocorrência de linfadenite granulomatosa causada por micobactérias do Complexo *Mycobacterium avium* (MAC). Em suínos, a infecção causada por MAC é assintomática, sendo diagnosticada ao abate pela presença de lesões granulomatosas, predominantemente nos linfonodos cervicais e mesentéricos. A presença dessas lesões leva à condenação total ou parcial das carcaças acometidas, causando significativo prejuízo econômico na suinocultura.

O papel da cama sobreposta como via de transmissão de micobactérias para o suíno e como ambiente favorável para manutenção e/ou multiplicação do agente tem sido relatado em muitos países, porém são escassas as informações quanto às condições em que se dá a manutenção e multiplicação neste ambiente. Estudos comparativos de tipos de substratos de cama mostraram diferença na ocorrência de linfadenite granulomatosa entre os tipos de substrato, sugerindo condições de manutenção e multiplicação das micobactérias distintas conforme a cama. As variações de pH e temperatura decorrentes do processo de compostagem da cama podem influenciar a sobrevivência de MAC no ambiente de cama. O reconhecimento de fatores favoráveis e inibitórios às micobactérias em ambiente de cama possibilita identificar alternativas de manejo adequadas ao controle deste patógeno, viabilizando a difusão deste sistema de produção.

Assim, o objetivo deste projeto foi pesquisar a sobrevivência de MAC em quatro condições distintas de cama sobreposta experimentalmente contaminada, sendo a combinação de dois tipos de substratos (casca de arroz e maravalha) e dois tipos de manejo.

Para determinar a sobrevivência de MAC nas camas foi necessário otimizar as ferramentas de diagnóstico microbiológico necessárias para o estudo proposto.

Os planos de ação iniciais foram desenvolvidos para otimização de uma técnica seletiva de descontaminação de amostras ambientais (cama de suínos), com suficiente poder de detecção de MAC para viabilizar o estudo comparativo entre os manejos, bem como a implantação da técnica de PCR utilizando os primers específicos para o gênero *DCC*, e amplificação das seqüências de inserção espécie-específicas para MAC IS1245 e IS901 para caracterização genotípica dos isolados de MAC. A segunda etapa do projeto consistiu do estudo da sobrevivência de MAC em diferentes condições de manejo, para o qual se fez uso das ferramentas otimizadas na primeira etapa.

As etapas do projeto serão apresentadas separadamente nos capítulos a seguir:

- Otimização de técnica de descontaminação seletiva para isolamento de micobactérias a partir de amostras de cama de suínos.
- Estudo da sobrevivência de MAC em camas de maravalha e casca de arroz experimentalmente contaminadas ao longo da passagem de quatro lotes consecutivos de suínos.

CAPÍTULO 5.1

Otimização de técnica de descontaminação seletiva para isolamento de micobactérias a partir de amostras de cama de suínos

Virgínia Santiago Silva
Beatris Kramer
Arlei Coldebella

Introdução

O sistema de criação de suínos em cama sobreposta favorece a ocorrência de linfadenite granulomatosa, infecção causada por bactérias do Complexo *Mycobacterium avium* (MAC), acarretando significativo prejuízo econômico para a suinocultura, devido à condenação das carcaças acometidas. A linfadenite granulomatosa é, atualmente, o maior limitante para a adesão do sistema de criação de suínos em cama sobreposta nas regiões de suinocultura intensiva, pois a prevalência dessas lesões é superior nos suínos criados em cama, quando comparados ao sistema convencional (AMARAL et al., 2006).

O papel da cama sobreposta como ambiente favorável à manutenção e/ou multiplicação do agente ainda não está totalmente esclarecido. Os diferentes tipos de substratos, bem como práticas distintas de manejo neste sistema, podem interferir no processo de compostagem da cama e, conseqüentemente, na sobrevivência dos microorganismos ali presentes. Neste contexto, para identificação de alternativas de prevenção e controle de MAC no sistema de cama sobreposta, faz-se necessário o estudo microbiológico do agente neste ambiente.

Entretanto, as pesquisas de micobactérias a partir de espécimens ambientais, como solo, água e cama de suínos, são limitadas pela falta de técnicas eficientes na detecção do agente, pois nestas amostras encontra-se uma quantidade e diversidade de microorganismos que devem ser suprimidos quando se busca a pesquisa específica de *Mycobacterium sp.* O longo tempo de geração das micobactérias patogênicas, e de algumas oportunistas de interesse em saúde pública e animal, resulta em períodos de incubação que podem variar de 21 a 60 dias nos cultivos *in vitro*, dependendo da espécie envolvida. O tempo de incubação, então, é um dos fatores que limita o sucesso da recuperação de micobactérias em amostras de cama de suínos, pois outros microorganismos de crescimento rápido (entre 24 e 48 horas) se difundem nos meios de cultura impedindo o isolamento dos agentes de crescimento lento. Assim, o sucesso da recuperação de *Mycobacterium sp.* partir de espécimens

ambientais depende de processos capazes de eliminar outros microrganismos, preservando seletivamente as micobactérias.

Objetivos

O objetivo deste trabalho foi adaptar e otimizar uma técnica seletiva de descontaminação de amostras de cama para isolamento de micobactérias, com suficiente poder de detecção, para estudos epidemiológicos de MAC no sistema de cama sobreposta.

Resultados e discussão

Ao todo foram testadas 80 variações de técnicas de descontaminação, todas em cinco repetições e cada repetição em triplicata, sendo três tubos de cultivo para cada repetição/técnica. As variações das técnicas foram testadas para maravalha e casca de arroz separadamente, ambas contaminadas experimentalmente com uma amostra padrão de *Mycobacterium avium* sub-espécie *hominisuis*, de origem suína.

As técnicas de descontaminação para cultivo de micobactérias avaliadas foram variações dos métodos de descontaminação de Petroff (método básico) e Löewenstein Jensen (método ácido) modificados, acrescidos de uma etapa com uma solução de cloreto de benzalcônio (ELLSWORTH et al, 1980). As variações do método de Petroff foram combinações de diferentes quantidades de cama processada (3 e 5g), concentração (5 e 10%) e tempo de exposição (20, 25, 30 35 e 40 minutos) ao cloreto de benzalcônio, lavagem do material após a utilização do desinfetante (sim e não), concentração (3 e 4%) e tempo de exposição de hidróxido de sódio (20 e 25 minutos).

Das 80 variações das técnicas de Petroff e Loewenstein Jensen testadas, 46 apresentaram 100% de contaminação nas cinco repetições, 13 apresentaram contaminação \geq seis tubos de cultivo entre os 15 das

cinco repetições e entre as 21 restantes seis apresentaram \geq dois tubos contaminados por repetição da técnica. As 15 técnicas restantes foram avaliadas conforme o número de UFCs de MAC recuperados, considerando-se também a variabilidade entre as repetições dentro das técnicas (repetibilidade). A Figura 1 apresenta o percentual de contaminação por nº de tubos/repetição/técnica, nas 80 variações testadas. A Figura 2 apresenta número de UFC de MAC recuperadas em 15 variações de técnicas de descontaminação, com contaminação \leq cinco tubos nas cinco repetições e recuperação de MAC \geq cinco UFC por técnica.

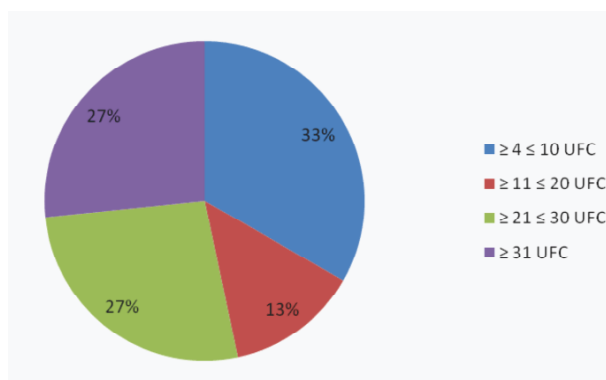


Figura 1. Percentual de contaminação por tubo/técnica, considerando as cinco repetições nas 80 variações testadas

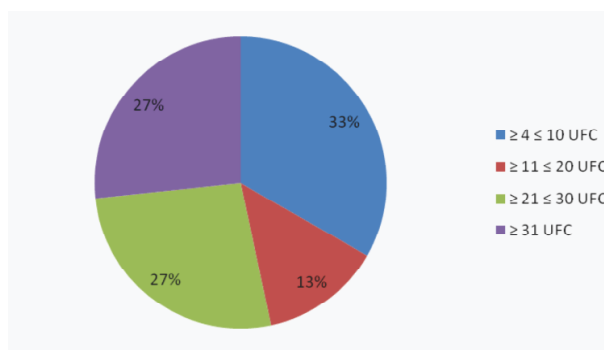


Figura 2. Número de UFC de MAC recuperadas em 15 variações de técnicas de descontaminação, onde obteve-se contaminação \leq cinco tubos nas cinco repetições e recuperação de MAC \geq cinco UFC por técnica

Entre as 15 técnicas mencionadas na Figura 2, quatro (27%) apresentaram nível de descontaminação satisfatório, sendo três com descontaminação total e uma com apenas um tubo contaminado, entre os 15 das cinco repetições em triplicata. Dessas, duas foram aplicadas à maravalha e duas à casca de arroz. A seleção da técnica mais eficiente para cada tipo de cama baseou-se no maior número de UFCs recuperado com menor contaminação.

Houve grande variabilidade entre as cinco repetições em todas as técnicas testadas, entretanto as que apresentaram melhor poder de detecção, ou seja, maior número de isolados/repetição, também apresentaram variabilidade menor entre as repetições.

De maneira geral, a descontaminação seletiva da cama de casca de arroz foi mais difícil do que a maravalha, apresentando maior percentual de contaminações na maioria dos protocolos. Entretanto, os melhores resultados de descontaminação seletiva e número de UFCs recuperado foi obtido pela mesma técnica, para ambos os materiais de cama. A técnica otimizada apresentou resultados satisfatórios quanto a descontaminação de amostras ambientais para pesquisa de micobactérias, entretanto o caráter quantitativo mostrou-se limitado. A grande variação no número de isolados obtidos em cada repetição da mesma amostra/técnica demonstra a baixa repetibilidade do método, o que restringe sua aplicação para fins quantitativos, como a enumeração de UFCs. Em amostras ambientais, a baixa repetibilidade das análises microbiológicas é um achado frequente, podendo estar associada tanto à técnica laboratorial quanto à natureza da amostra. Técnicas de descontaminação para cultivo de micobactérias em materiais com elevada carga contaminante, como solo, água e fezes têm sido pesquisadas (BALIAN et al., 2002; FALKINHAM, 1996; 2004; OLIVEIRA et al., 2007; PARASHAR et al., 2004), e são apresentadas conforme a capacidade de eliminar a microbiota contaminante com menor comprometimento das micobactérias, porém sem levar em consideração o poder quantitativo e repetibilidade.

O processo de descontaminação de solo, por exemplo, envolve três etapas: dissociação de *M. avium* da matéria particulada, concentração e desinfecção. Este processo reduz 95% de *M. avium* presentes na amostra, recuperando apenas 5% do agente e somente 0,25% do total de micobactérias do solo pode ser recuperada como unidades formadoras de colônias (FALKINHAM, 1996). Similarmente, o processo aplicado à descontaminação seletiva de cama sobreposta segue a mesma sequência, resultando nas mesmas limitações quantitativas. Além disso, há diferenças quanto à resistência a distintos métodos de descontaminação entre espécies de micobactérias (PARASHAR et al., 2004).

Falkinham (2004), ao investigar *M. avium* em amostras de água, encontrou correlação positiva entre o número de UFC de *M. avium* isolados e a turbidez (material particulado) das amostras. Isto se deve à hidrofobicidade característica deste gênero bacteriano, o que explica que grande parte das micobactérias presentes na amostra (clínica ou ambiental) possa ser perdida na transferência de recipientes, aderidas às paredes de tubos de ensaio, durante o procedimento de descontaminação (FALKINHAM, 2004). Neste sentido, é plausível concluir que parte das unidades bacterianas inoculadas nas amostras ficaram retidas nas partículas de cama, excluídas da fração propriamente testada, restringindo qualquer interpretação quantitativa.

De fato, pesquisas de micobactérias em cama de suínos têm sido realizadas sem levar em consideração o número de UFCs isolados em cada amostra. Ainda assim, o valor do exame bacteriológico qualitativo de micobactérias em espécimens ambientais permite fazer inferências sobre o papel do ambiente como fonte de infecção (FALKINHAM, 1996; MATLOVA et al., 2005; SONGER et al., 1980). Embora sua interpretação seja menos abrangente do que uma técnica quantitativa, o protocolo pode ser aplicado em pesquisas de micobactérias em cama sobreposta, possibilitando responder questões relativas à epidemiologia das micobacterioses suínas nesse sistema de produção.

Geração/adaptação de tecnologia

O resultado deste trabalho foi a otimização de uma técnica de descontaminação seletiva.

Considerações finais

O método de descontaminação seletiva, adaptado e otimizado neste trabalho apresenta melhor poder de detecção de micobactérias em cama sobreposta de suínos, quando comparado aos métodos convencionais de isolamento a partir de espécimens ambientais, sendo útil para estudos da epidemiologia desses patógenos.

Referências

AMARAL, A. L.; MORÉS, N.; VENTURA, L. V.; COLDEBELLA, A.; LUDKE, J. L.; OLIVEIRA, P. A. V. de; SILVA, V. S. Ocorrência de linfadenite em suínos criados em sistema convencional e cama sobreposta nas fases de crescimento e terminação. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, Lages, v. 5, n. 1, p. 64-72, 2006.

BALIAN, S. C.; PINHEIRO, S. R.; GUERRA, J. L.; MORAIS, Z. M.; FERREIRA, F.; FERREIRA NETO, J. S. Estudo comparativo de dois métodos de descontaminação na pesquisa de micobactérias. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 69, n. 2, p. 11-14, 2002.

ELLSWORTH, S. R.; KIRKBRIDE, C. A.; JOHNSON, D. D. Excretion of *Mycobacterium avium* form lesions in the intestine and tonsils of infected swine. **American Journal of Veterinary Research**, v. 41, n. 9, p. 1526-30, 1980.

FALKINHAM, J. O. Epidemiology of infection by nontuberculous mycobacteria. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 9, p. 177-215, 1996.

FALKINHAM J. O. Environmental sources of *Mycobacterium avium* linked to routes of exposure In: PEDLEY, S.; BARTRAM, J.; REES, G.; DUFOUR, A.; COTRUVO, J. (Ed.) **Pathogenic mycobacteria in water: a guide to public health consequences, monitoring and management**. London: IWA, 2004.

MATLOVA, L.; DVORSKA, L.; AYELE, W. Y.; BARTOS, M.; AMEMORI, T. Y.; PAVLIK, I. Distribution of *Mycobacterium avium* complex isolates in tissue samples of pigs fed peat naturally contaminated with mycobacteria as a supplement. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 43, p. 1261-1268, 2005.

OLIVEIRA, E. M. D.; RODRIGUEZ, C. A. R.; ROCHA, V. C. M.; AMBROSIO, S. R.; OHARA, P. M.; AMAKU, M.; FERREIRA, F.; DIAS, R. A.; LEÃO, S. C.; FERREIRA NETO, J. S. Comparison of methods for *Mycobacteria* isolation from swine feces **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 38, p. 687-692, 2007.

PARASHAR, D.; CHAUHAN, D. S.; SHARMA, V. D.; CHAUHAN, A.; CHAUHAN, S. V. S.; KATOCH, V. M. Optimization of procedures for isolation of environmental mycobacteria from soil and water samples of north India. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 70, p. 3751-3753, 2004.

SONGER, J. G.; BICKNELL, E. J.; THOEN, C. O. Epidemiological Investigations of swine tuberculosis in Arizona. **Canadian Journal of Comparative Medicine**, v. 44, p. 115-20, 1980.

CAPÍTULO 5.2

Estudo da sobrevivência de MAC em camas de maravalha e casca de arroz experimentalmente contaminadas, ao longo da passagem de quatro lotes consecutivos de suínos

Virgínia Santiago Silva
Armando Lopes do Amaral
Beatris Kramer
Alessandra D'Ávila
Paulo Augusto Esteves
Rejane Schaefer
Martha Mayumi Higarashi
Doralice Pedroso de Paiva
Rosemari Martini Matei
Airton Kunz
Paulo Armando Victória de Oliveira
Marcelo Minoso
Arlei Coldebella

Introdução

O sistema de criação de suínos em cama sobreposta foi introduzido e difundido no Brasil pela Embrapa Suínos e Aves em 1993, como uma alternativa para solucionar o problema de poluição ambiental relacionado ao sistema de produção convencional e visando sustentabilidade ambiental das regiões de produção intensiva de suínos (OLIVEIRA, 1999). Entretanto, este sistema de produção apresenta entraves sanitários, pois favorece a ocorrência de linfadenite granulomatosa, infecção causada por micobactérias do Complexo *Mycobacterium avium* (MAC).

Os agentes do Complexo *Mycobacterium avium* (MAC), que incluem *Mycobacterium avium subsp. avium*, *Mycobacterium avium subsp. hominisuis* e *Mycobacterium intracellulare*, são considerados agentes ambientais e patógenos oportunistas, com impacto tanto em saúde animal quanto humana. Destes, o *Mycobacterium avium subsp. hominisuis* é o mais prevalente em suínos. Em relação à sua característica ambiental e ampla distribuição em diferentes nichos ambientais, o substrato apresenta papel preponderante na sobrevivência do agente. O isolamento de *Mycobacterium avium* em amostras de solo, água, poeira, cama e excreta de animais e insetos presentes em instalações zootécnicas tem sido relatados por diversos autores, porém seu potencial impacto na epidemiologia das infecções nas populações humana e animal não é claro. Estudos da ecologia das micobactérias buscam elucidar questões relativas às condições ambientais favoráveis e restritivas à sobrevivência e multiplicação dessas bactérias para a adoção de medidas preventivas em saúde humana e animal (KAZDA et al. 2009).

O papel da cama sobreposta como via de transmissão de micobactérias para o suíno e como ambiente favorável para manutenção e/ou multiplicação do agente tem sido relatado em muitos países (FALKINHAM, 2004; KRIZOVA et al., 2010; SONGER et al., 1980), porém são escassas as informações relativas aos fatores que influenciam a multiplicação do agente neste ambiente. A diferença na ocorrência de linfadenite granulomatosa nos suínos criados em camas de serragem, maravalha,

casca de arroz e palhas sugere haver efeito dos materiais de cama sobre a manutenção e/ou multiplicação das micobactérias (CORRÊA, 1998). As variações de temperatura decorrentes do processo de compostagem que ocorre na cama podem ter influência na sobrevivência das micobactérias. Entretanto, ainda não foram estudados os limites de tais parâmetros atuando sobre o agente neste sistema, o que poderia contribuir para identificação de práticas de manejo da cama, visando a prevenção e controle desse patógeno.

Objetivos

Estudar a sobrevivência de MAC em camas de maravalha e casca de arroz experimentalmente contaminadas, em duas variações de manejo, ao longo da passagem de quatro lotes consecutivos de suínos, visando identificar alternativas de prevenção e controle de MAC neste sistema.

Metodologia

Foram usados dois galpões subdivididos em quatro baias cada, com capacidade para alojar 18 leitões/baia. No galpão 1 foi utilizada cama de maravalha e no galpão 2 cama de casca de arroz, ambas com 50 cm de profundidade, para criação dos quatro lotes consecutivos de suínos na mesma cama, com intervalo vazio das instalações entre lotes de dez dias. Nos intervalos entre lotes foram avaliadas duas variações de manejo das camas, totalizando quatro tratamentos com duas repetições (baias) cada, conforme segue:

- **Tratamento 1:** Cama de maravalha com um revolvimento entre lotes.
- **Tratamento 2:** Cama de maravalha com dois revolvimentos entre lotes.
- **Tratamento 3:** Cama de casca de arroz com um revolvimento entre lotes.
- **Tratamento 4:** Cama de casca de arroz com dois revolvimentos entre lotes.

No alojamento do primeiro lote de suínos, dois leitões/baia foram inoculados por via oral com uma suspensão de *Mycobacterium avium* subespécie *hominisuis* para que, através da eliminação das bactérias pelas fezes, estes promovessem a contaminação das camas simulando condições de campo. Amostras de cama de cada baia foram colhidas no início, meio e final de cada intervalo entre os lotes (dia 1, 5 e 10 dos tratamentos/lote) para pesquisa de micobactérias e exames físico-químicos de matéria seca, pH, nitrogênio, fósforo, cobre, zinco e cinzas. Oito bandejas contendo iscas (feromônio sexual) para atrair moscas foram colocadas no segundo dia de alojamento, a cerca de 15 cm de distância das laterais vazadas das instalações. Amostras de moscas adultas e larvas de moscas foram colhidas diretamente da cama durante o experimento para pesquisa de micobactérias.

Ao todo, 576 suínos foram monitorados ao abate para detecção de lesões de linfadenite e foram colhidos linfonodos mesentéricos e cefálicos desses para pesquisa de micobactérias.

Resultados e discussão

Dos 16 suínos inoculados no início do experimento, 12 (75%) apresentaram lesões de linfadenite ao abate e obteve-se isolamento de *Mycobacterium avium subsp. hominisuis* dos linfonodos dos 16 (100%) suínos inoculados e mais quatro suínos não inoculados no primeiro lote, confirmando a transmissão horizontal indireta. Sete dias após a inoculação dos 16 suínos, amostras de cama de cada baia foram colhidas para pesquisa de *Mycobacterium avium subsp. hominisuis* e todas resultaram positivas, confirmando a contaminação da cama e seu potencial como fonte de infecção para os lotes subsequentes.

Os suínos do segundo, terceiro e quarto lotes de todos os tratamentos não apresentaram lesões de linfadenite granulomatosa ao abate e todos resultaram negativos para *Mycobacterium avium subsp. hominisuis* na bacteriologia, mostrando que a pressão de infecção na cama não foi su-

ficiente para produzir infecção após o primeiro lote, em todos os tratamentos. Entretanto, houve isolamento de *Mycobacterium intracellulare* (agente não inoculado) dos linfonodos de oito (5,8%) e quatro (3,1%) suínos dos terceiro e quarto lotes, respectivamente.

Os isolados *Mycobacterium avium subsp. hominisuis* a partir das amostras de cama nos intervalos vazios dos quatro lotes mostram que não houve efeito dos tratamentos. Porém o desdobramento do período de coleta (dias 1, 5 e 10) apresentou efeito significativo ($p < 0,05$), mostrando redução do agente da primeira para última coleta (início e final do intervalo entre lotes). Isso demonstra o efeito do manejo de revolvimento, mesmo quando foi realizado apenas uma vez no período entre lotes.

Em todas as baias houve proliferação de moscas durante os meses mais quentes, no período de alojamento do segundo e terceiro lotes. Foram isolados *M. avium subsp hominisuis* e *M. intracellulare* tanto de moscas adultas quanto de larvas de moscas, sendo que na bacteriologia das larvas o número de unidades formadoras de colônias (UFC) foi expressivamente superior do que nas moscas. Nas camas do terceiro lote, momento em que houve proliferação de larvas e moscas mais evidente, *Mycobacterium intracellulare* foi o agente mais frequente e abundante, estando claramente associado aos resultados da bacteriologia dos linfonodos dos suínos deste mesmo lote, em que o agente foi isolado de oito suínos. O papel das moscas e outros vetores mecânicos na difusão do agente é bastante claro (FISCHER et al., 2001). Entretanto, as larvas podem aludir a um fator novo no entendimento da epidemiologia das infecções micobacterianas nos suínos criados em cama, pois o *Mycobacterium avium* é uma bactéria intracelular podendo utilizar-se de outros organismos, como protozoários, amebas e insetos, para se manter e multiplicar frente a situações ambientais adversas (FALKINHAM, 2004; FISCHER, et al., 2001). Este é um aspecto preocupante porque foi demonstrado que as cepas de *M. avium* resultantes dessa passagem são mais virulentas em ratos e galinhas (FALKINHAM, 2004). Assim, esses organismos aumentam o número de *M. avium* e

outras micobactérias em *habitats* onde ambos residem. O mesmo pode ocorrer em larvas de insetos que se desenvolvem em cama contaminada, amplificando a carga infectante neste ambiente, pois nas camas mais novas e nos períodos mais quentes do ano, a proliferação de moscas e larvas é favorecida, coincidindo com as condições de maior ocorrência de linfadenite nos suínos criados neste sistema.

Os manejos de um e dois revolvimentos entre lotes para induzir o processo fermentativo com aumento da temperatura das camas para redução ou inativação da carga de micobactérias foram eficientes, não havendo diferença estatística entre um ou dois revolvimentos. Contudo, deve-se considerar a particular resistência de *Mycobacterium avium* a temperaturas que geralmente são inibitórias para outros grupos bacterianos. Em todos os tratamentos foi possível detectar temperaturas médias superiores a 55°C por aproximadamente 72 horas, porém nas camas de casca de arroz as temperaturas foram mais elevadas e se mantiveram altas por mais tempo, especialmente nas camas submetidas a dois revolvimentos. Embora todos os tratamentos tenham sido eficientes no controle de *M. avium* *supsp hominisuis*, os tratamentos que induzem a elevadas temperaturas por mais tempo apresentam vantagem sobre os demais, pois a temperatura é um importante fator inibitório para patógenos e esta não é uniforme em toda a extensão da cama. Assim, para atuar de forma preventiva para as micobacterioses suínas e outras enfermidades, recomenda-se que, ao adotar o sistema de cama sobreposta, o vazio de pelo menos dez dias e o manejo de dois revolvimentos entre lotes seja priorizado.

Considerações finais

- O manejo de revolvimento de cama sobreposta no intervalo de vazio entre lotes de suínos mostrou-se eficiente no controle e prevenção da infecção por *Mycobacterium avium*.
- As camas submetidas a dois revolvimentos entre lotes apresentam temperaturas mais elevadas e por mais tempo, sendo a prática recomendada para controle e prevenção de micobacterioses e outras enfermidades.
- O controle de moscas e larvas de moscas na cama é fundamental na prevenção e controle de micobacterioses em suínos.
- O sistema de cama sobreposta é viável do ponto de vista sanitário desde que o manejo de revolvimento para controle de patógenos no intervalo entre lotes e controle de vetores durante o alojamento sejam criteriosamente aplicados.
- A origem dos suínos para criação em sistema de cama sobreposta deve ser monitorada e controlada para micobacterioses antes do alojamento em cama.
- Suínos cuja origem apresente histórico de linfadenite não devem ser alojados em sistema de cama sobreposta.

Referências bibliográficas

CORRÊA, E. K. **Avaliação de diferentes tipos de cama na criação de suínos em crescimento e terminação**. Pelotas: UFPel, 1998. 105 p.

FALKINHAM J. O. Environmental sources of *Mycobacterium avium* linked to routes of exposure In: PEDLEY, S.; BARTRAM, J.; REES, G.; DUFOUR, A.; COTRUVO, J. (Ed.) **Pathogenic mycobacteria in water: a guide to public health consequences, monitoring and management**. London: IWA, 2004.

FISCHER, O.; MATLOVA, L.; DVORSKA, L.; SVASTOVA, P.; BARTI, J.; MELICHAREK, L.; WESTON, R. T.; PAVLIK, I. Diptera as vectors of mycobacterial infections in cattle and pigs. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 15, n. 2, p. 208-211, 2001.

KAZDA, J.; PAVLIK, I.; FALKINHAMIII, J. O.; HRUSKA, K. **The ecology of mycobacteria: impact on animal's and human's health**. [Nova York]: Springer, 2009. 522 p.

KRIZOVA, K.; MATLOVA, L.; HORVATHOVA, A.; MORAVKOVA, M.; BERAN, V.; BOISSELET, T.; BABAK, V.; SLANA, I.; PAVLIK, I. Mycobacteria in the environment of pig farms in the Czech Republic between 2003 and 2007. **Veterinarni Medicina**, v. 55, n. 2, p. 55-69, 2010.

OLIVEIRA, P. A. V. de. **Comparaison des systems d'élevage des porcs sur litière de sciure ou caillebotis intégral**. 1999. 263 f. Thèse (Docteur: Sciences de l'Environnement) - École Nationale Supérieure Agronomique de Rennes, Rennes, France, 1999.

SONGER, J. G.; BICKNELL, E. J.; THOEN, C. O. Epidemiological Investigations of swine tuberculosis in Arizona. **Canadian Journal of Comparative Medicine**, v. 44, p. 115-20, 1980.



Ministério da
**Agricultura, Pecuária
e Abastecimento**

