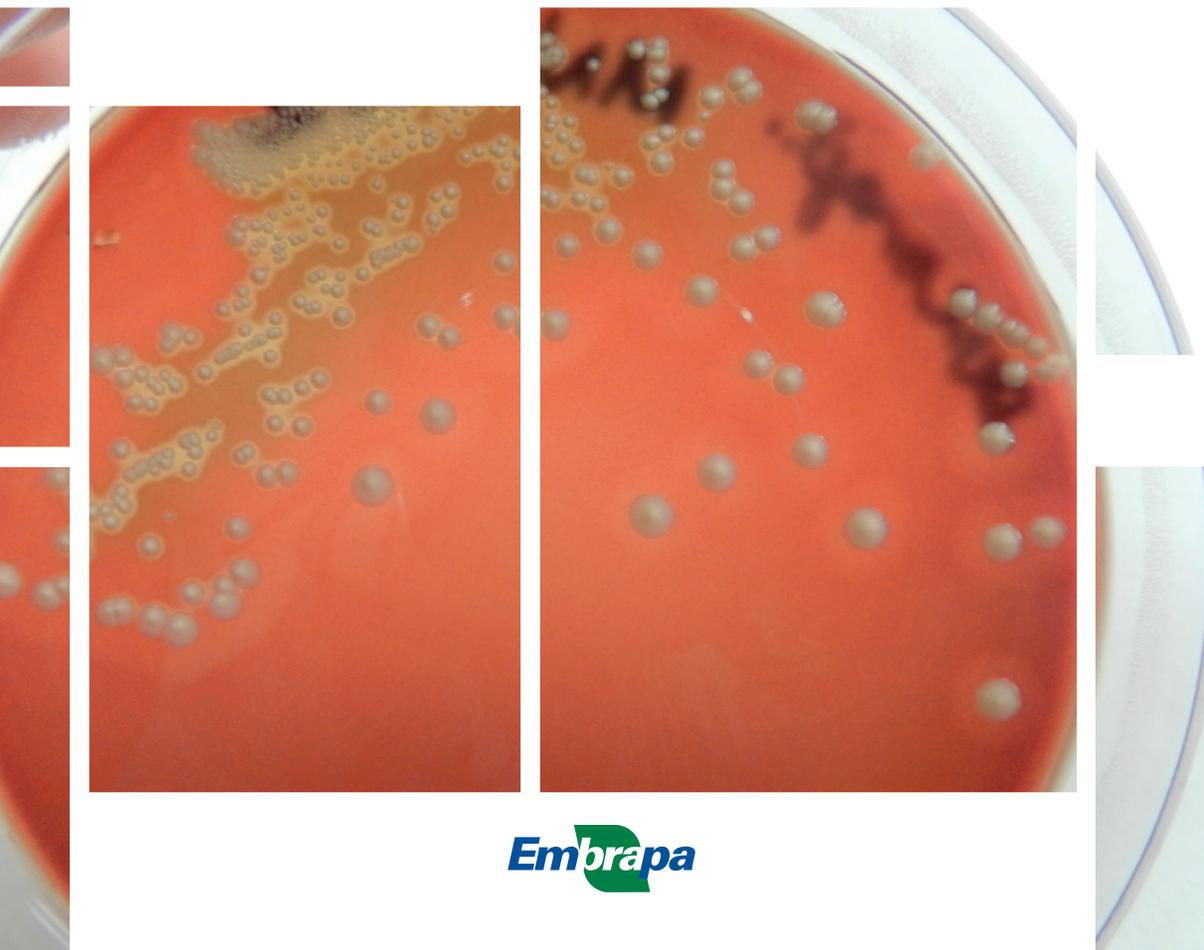


Efeito bactericida *in vitro* da cal hidratada sobre *Corynebacterium pseudotuberculosis* em ambientes simulados



**Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Caprinos e Ovinos
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**

**BOLETIM DE PESQUISA
E DESENVOLVIMENTO
06**

**Efeito bactericida *in vitro* da cal hidratada
sobre *Corynebacterium pseudotuberculosis*
em ambientes simulados**

*Patrícia Yoshida Faccioli-Martins
Raymundo Rizaldo Pinheiro
Antônio Cezar Rocha Cavalcante*

**Embrapa Caprinos e Ovinos
Sobral, CE
2019**

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Caprinos e Ovinos
Fazenda Três Lagoas, Estrada Sobral/
Groáiras, Km 4 Caixa Postal: 71
CEP: 62010-970 - Sobral, CE
Fone: (88) 3112-7400
www.embrapa.br
www.embrapa.br/fale-conosco/sac

Comitê Local de Publicações
da Embrapa Caprinos e Ovinos

Presidente
Cícero Cartaxo de Lucena

Secretário-Executivo
Alexandre César Silva Marinho

Membros
*Alexandre Weick Uchoa Monteiro, Carlos José
Mendes Vasconcelos, Fábio Mendonça Diniz,
Maíra Vergne Dias, Manoel Everardo Pereira
Mendes, Marcos André Cordeiro Lopes, Tânia
Maria Chaves Campêlo, Zenildo Ferreira
Holanda Filho*

Supervisão editorial
Alexandre César Silva Marinho

Revisão de texto
Carlos José Mendes Vasconcelos

Normalização bibliográfica
Tânia Maria Chaves Campêlo

Projeto gráfico da coleção
Carlos Eduardo Felice Barbeiro

Editoração eletrônica
Francisco Felipe Nascimento Mendes

Foto da capa
Patrícia Yoshida Faccioli-Martins

1ª edição
On-line (2019)

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 Caprinos e Ovinos

Faccioli-Martins, Patrícia Yoshida.

Efeito bactericida *in vitro* da cal hidratada sobre *Corynebacterium pseudotuberculosis*
em ambientes simulados / Patrícia Yoshida Faccioli-Martins, Raymundo Rizaldo Pinheiro
Antônio Cezar Rocha Cavalcante. - Sobral : Embrapa Caprinos e Ovinos, 2019.

24 p. : il. Color. - (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento / Embrapa Caprinos e
Ovinos, ISSN 0101-6008; 6).

Sistema requerido: Adobe Acrobat Reader.

Modo de acesso: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/item/181>>.

1. Linfadenite caseosa - Desinfecção. 2. Doença animal – Bactéria. I. Pinheiro,
Raymundo Rizaldo. II. Cavalcante, Antônio Cezar Rocha. III. Título. IV. Série.

CDD 579.373

Sumário

Resumo	05
Abstract	06
Introdução.....	07
Material e Métodos	08
Resultados e Discussão	12
Conclusões.....	15
Referências	16

Efeito bactericida *in vitro* da cal hidratada sobre *Corynebacterium pseudotuberculosis* em ambientes simulados

Patrícia Yoshida Faccioli-Martins¹

Raymundo Rizaldo Pinheiro²

Antônio Cezar Rocha Cavalcante³

Resumo: A linfadenite caseosa é uma das principais enfermidades bacterianas de caprinos e ovinos. Os abscessos causados pela doença apresentam alta concentração do agente. Quando não tratados antes do rompimento, levam à grande contaminação ambiental e aumento de casos no rebanho. O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficácia da cal hidratada, desinfetante de baixo custo e fácil aplicação, na eliminação de *Corynebacterium pseudotuberculosis* em ambientes simulados. Para tanto, a cal foi aplicada em duas apresentações (pó e a 40%), sob duas condições de umidade (35% e 100%) e em dois tipos de superfícies (lisa e rugosa). A umidade relativa do ar elevada manteve a pintura de cal úmida por mais tempo, tendo sido removida mais facilmente em contato com a água. Conclui-se que tanto na superfície lisa quanto rugosa, a cal hidratada em pó reduz a contaminação e a cal hidratada a 40% elimina o agente, pois a última promove cobertura mais homogênea das superfícies.

Termos de indexação: *Corynebacterium pseudotuberculosis*, linfadenite caseosa, desinfecção, superfícies.

¹ Médica-veterinária, doutora em Medicina Veterinária Preventiva, pesquisadora da Embrapa Caprinos e Ovinos, Sobral, CE.

² Médico-veterinário, doutor em Ciência Animal, pesquisador da Embrapa Caprinos e Ovinos, Sobral, CE.

³ Médico-veterinário, doutor em Parasitologia, pesquisador aposentado da Embrapa Caprinos e Ovinos, Sobral, CE.

In vitro bactericidal effect of hydrated lime on *Corynebacterium pseudotuberculosis* in simulated environments

Abstract: Caseous lymphadenitis is one of main bacterial diseases from goats and sheep. Abscesses caused by the disease have a high concentration of the agent. When they are not treated before disruption, they lead to high environmental contamination and increase cases on herds. The aim of this work was to evaluate the efficacy of low cost, easy to use disinfectante hydrated lime to eliminate *Corynebacterium pseudotuberculosis* in simulated environments. Therefore, hydrated lime was applied in two presentations (powder and 40%), under two humidity conditions (35% and 100%) and on two types of surfaces (smooth and rough). The high relative humidity kept the lime paint moist longer and it was more easily removed in contact with water. It is concluded that on both smooth and rough surfaces hydrated lime powder reduces contamination and 40% hydrated lime eliminates the agent because the latter promotes more homogeneous surface coverage.

Index terms: *Corynebacterium pseudotuberculosis*, caseous lymphadenitis, disinfection, surfaces.

Introdução

A Linfadenite Caseosa é uma enfermidade infecto-contagiosa de caráter crônico, causada por *Corynebacterium pseudotuberculosis*, uma bactéria gram positiva. Acomete caprinos e ovinos e caracteriza-se pela hipertrofia dos gânglios linfáticos com formação de um exsudato purulento (abscessos), processo que pode ocorrer em todo o organismo do animal (Faccioli-Martins et al., 2014).

É uma das principais enfermidades da cadeia produtiva de caprinos e ovinos responsável por perdas econômicas. A doença é caracterizada por debilidade geral do animal, afetando o ganho de peso, diminuição da produção de carne e leite, desvalorização da pele, transtornos reprodutivos, embargo comercial, condenação de carcaças e vísceras, eutanásia ou morte dos animais severamente afetados e, ainda, custos com medicamentos e mão de obra para tratamento dos abscessos (Baird; Fontaine, 2007).

Ferimentos na pele, ocasionados por fatores físicos, facilitam a penetração do micro-organismo, presente no ambiente, devido à ruptura de abscessos de indivíduos infectados. Assim, uma das formas de controle e tratamento é o isolamento de animais acometidos e remoção dos abscessos por drenagem cirúrgica e cauterização química, antes que se rompam no meio ambiente. A ausência de tratamento do abscesso previamente à sua ruptura aumenta em 10,34 vezes o risco de ocorrência da doença nos animais, dada a alta concentração do agente infeccioso no material purulento eliminado (Farias et al., 2019).

C. pseudotuberculosis permanece cronicamente nos rebanhos pela dificuldade de se eliminar o agente dos animais e do ambiente contaminado, e é capaz de sobreviver por longos períodos nas fezes, solo e fômites (Augustine; Renshaw, 1986; Spier et al., 2012). Dessa forma, é importante que formas eficazes e de baixo custo de controle do agente no ambiente, associadas ao tratamento dos abscessos nos animais, estejam disponíveis.

Entre esses desinfetantes está a cal hidratada, produto facilmente encontrado no comércio, de baixo custo, fácil aplicação e indicado para uso em instalações de diferentes sistemas de produção animal. Na caprinocultura é utilizada a 40% em pedilúvio, utilizada na desinfecção de ambientes a 20% (água de cal) e está regulamentada nos Estados Unidos como desinfetante

químico álcali pela EPA (*U.S. Environmental Protection Agency*). Na União Europeia é indicada na desinfecção de instalações de animais, com seu uso na forma em pó, levemente hidratada após sua aplicação, ou como água de cal (European Lime Association, 2009; USDA, 2014).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficácia da cal hidratada, desinfetante de baixo custo e de fácil aplicação, na eliminação de *C. pseudotuberculosis* em ambientes simulados na forma em pó e a 40%.

Materiais e Métodos

O experimento foi realizado no laboratório de Bacteriologia da Embrapa Caprinos e Ovinos em outubro de 2015. Foi avaliado o efeito bactericida da cal hidratada sob as seguintes condições: 1) duas formas de apresentação (cal hidratada em pó e cal hidratada a 40%); 2) duas condições de umidade relativa do ar (35% e 100%); e dois tipos de superfícies contaminadas com pus (lisa e rugosa). Foi realizada uma réplica para cada combinação de variáveis e seus respectivos controles positivos (superfícies contaminadas com material purulento, sem aplicação de cal). A concentração de cal hidratada a 40% foi escolhida por ensaios prévios *in vitro* sob papel-filtro, simulando a superfície de aplicação da pintura, que demonstraram a formação de uma camada uniforme e consistente de cal nessa concentração.

A superfície lisa foi simulada pela utilização de placas de petri em poliestireno de 90x15 mm estéreis. A superfície rugosa imitando cercas e instalações de madeira foi simulada por fragmentos de madeira do gênero *Manilkara*, conhecida como Maçaranduba, medindo 0,5 cm x 0,3 cm x 5 cm (largura x altura x comprimento), esterilizados por autoclavação.

Como fonte de *C. pseudotuberculosis*, utilizou-se conteúdo purulento obtido de animal que apresentava nódulo em linfonodo superficial. O abscesso foi drenado assepticamente, e o material foi encaminhado ao laboratório de Bacteriologia da Embrapa Caprinos e Ovinos para processamento.

O material purulento foi distribuído em placas de petri e sobre os fragmentos de madeira com o auxílio de espátula metálica estéril, em finas camadas, sendo que na placa a área de aplicação foi de aproximadamente 3 cm x 3

cm, e na madeira cobriu-se apenas a face superior (numa área de 0,5 cm x 5 cm). Esse procedimento foi repetido três vezes, para que o material pudesse ser acompanhado em três situações: controle (sem a aplicação de cal); pó (aplicação de 2 g de cal hidratada em pó); e 40% (aplicação de 2 mL de cal hidratada a 40%, diluída em água destilada estéril). Todos os tratamentos foram incubados em estufa clínica a $37,0 \pm 2^\circ\text{C}$, por 24 h, em que cada réplica foi submetida simultaneamente a condições de umidade relativa do ar de 35% ou 100% (Figuras 1A, 1B, 2A, 2B, 2C e 2D).

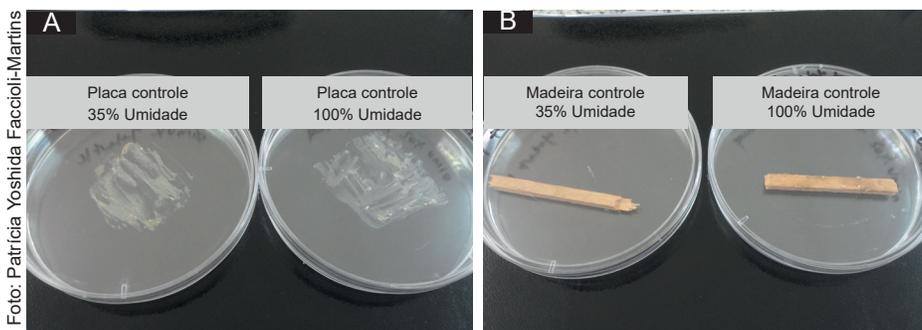


Figura 1. Superfícies lisas (A) e rugosas (B) contaminadas com pus e sob duas condições de umidade (35% e 100%).

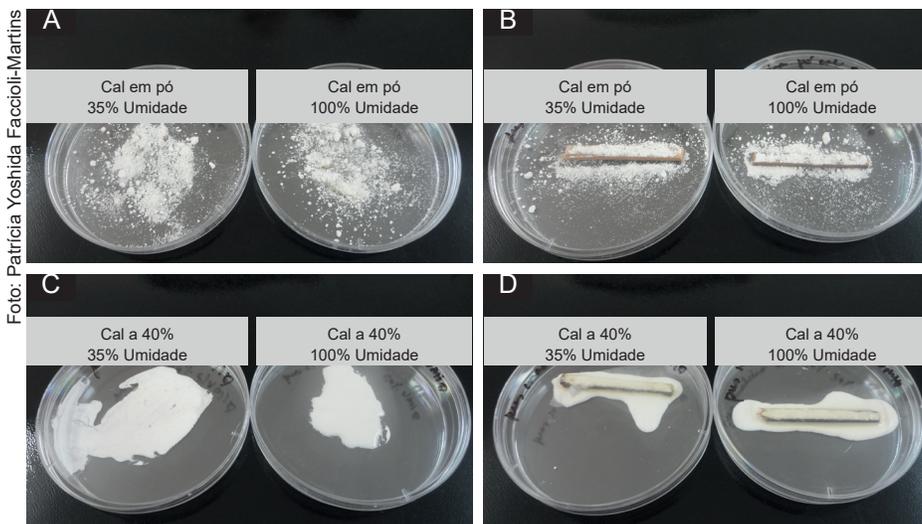


Figura 2. Superfícies lisas (A e C) e rugosas (B e D) contaminadas com pus, sob duas condições de umidade (35% e 100%) e tratadas com duas formulações de cal hidratada (pó e diluída a 40%).

A unidade relativa do ar a 35% foi obtida naturalmente, e a umidade relativa de 100% foi alcançada com a deposição das placas em recipiente plástico com tampa, adicionado de gaze umedecida com água. A umidade foi aferida com um termo-higrômetro digital (Highmed®, modelo HM-02).

Após as 24 h de incubação, tanto a superfície lisa quanto a superfície rugosa, tiveram os excessos de cal hidratada em pó e de cal hidratada a 40% removidos (por movimentação mecânica no primeiro, e por instilação de solução salina no segundo) antes do cultivo em ágar sangue e em caldo cérebro-coração (Himedia®) com 0,1% Tween® 80 (BHI-T).

Seguida a essa remoção, o material exposto foi colhido com suabe estéril umedecido em solução salina 0,85% e cultivado em ágar sangue. Para o enriquecimento, o suabe oriundo da superfície lisa e o próprio fragmento de madeira foram imersos em caldo BHI-T, seguidos de incubação por 24 h a 37 °C (Figuras 3, 4 e 5).

O material obtido do enriquecimento foi cultivado em ágar sangue e incubado por 24 h. Os caldos com os suabes foram reincubados a 37 °C por mais 24 h (totalizando 48 h) e plaqueados em ágar sangue, para verificar a sobrevivência de *C. pseudotuberculosis*.

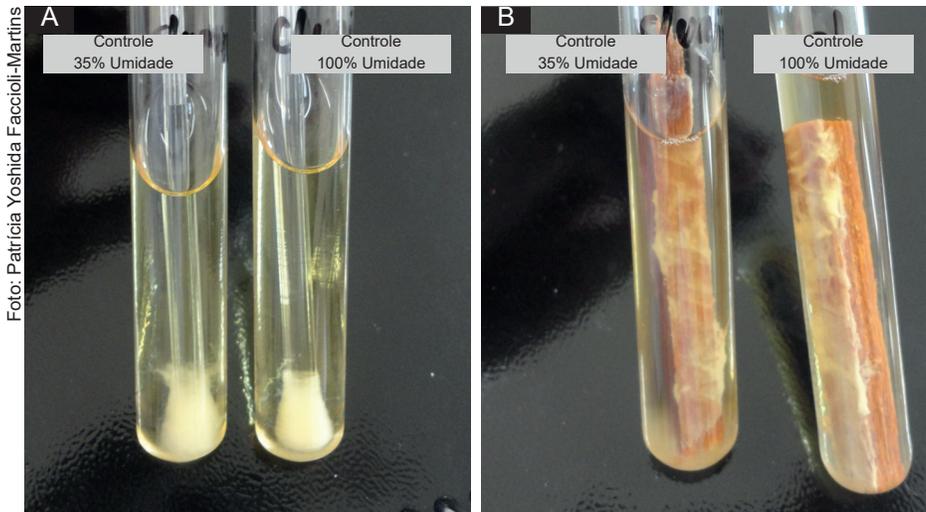


Figura 3. Suabe da superfície lisa (placa de petri) (A) e a superfície rugosa (madeira) (B), mantidos sem tratamento por 24 h, sob umidade baixa e alta, e incubados em BHI-T por 24 h para enriquecimento.

Foto: Patrícia Yoshida Faccioli-Martins

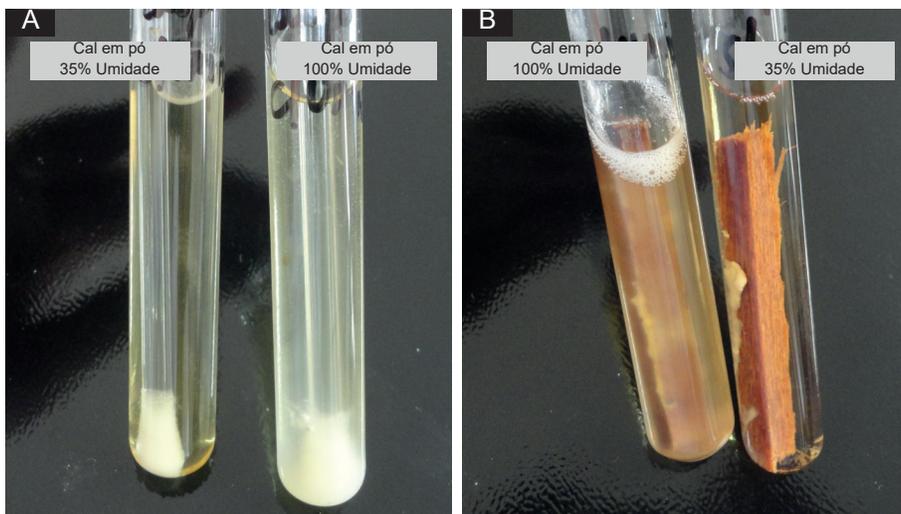


Figura 4. Suabe da superfície lisa (placa de petri) (A) e superfície rugosa (madeira) (B) tratados com cal em pó por 24 h, sob umidade baixa e alta, e incubados em BHI-T por 24 h para enriquecimento.

Foto: Patrícia Yoshida Faccioli-Martins

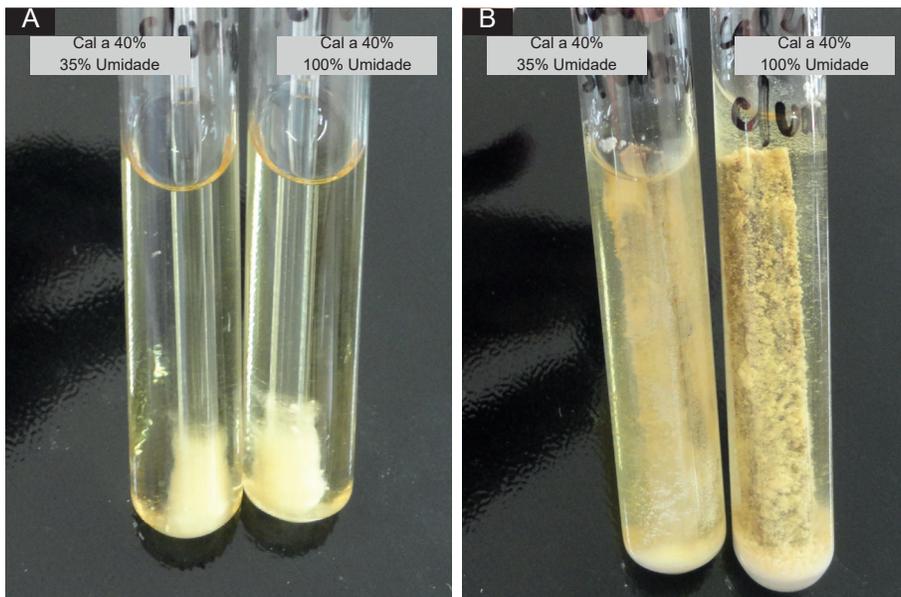


Figura 5. Suabe da superfície lisa (placa de petri) (A) e superfície rugosa (madeira) (B) tratados com cal a 40% por 24 h, sob umidade baixa e alta, e incubados em BHI-T por 24 h para enriquecimento.

Resultados e Discussão

Os resultados das figuras 6 e 7 demonstram que a simulação dos tipos de superfícies contaminadas com pus no experimento foi adequada, visto que houve o isolamento de *C. pseudotuberculosis* nos controles positivos realizados em superfície lisa (placas de petri) e rugosa (fragmentos de madeira) sob as duas condições de umidade relativa do ar (35% e 100%).



Foto: Patrícia Yoshida Faccioli-Martins

Figura 6. Redução de *C. pseudotuberculosis* com o uso da cal em pó e sua eliminação com cal a 40%, em superfície lisa, sob as duas condições de umidade.

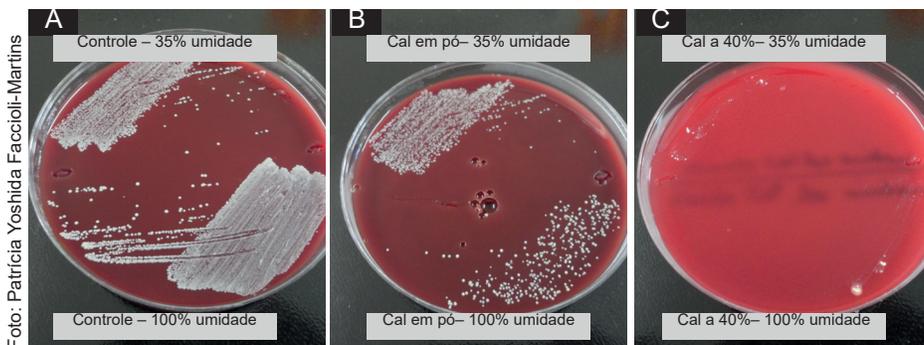


Foto: Patrícia Yoshida Faccioli-Martins

Figura 7. Redução de *C. pseudotuberculosis* com o uso da cal em pó e sua eliminação com cal a 40%, em superfície rugosa, sob as duas condições de umidade.

A cal em pó, aplicada sobre as superfícies lisas e rugosas contaminadas com pus, promoveu a redução significativa das colônias de *C. pseudotuberculosis*, sob as duas condições de umidade. A cal a 40% apresentou efeito bactericida mais pronunciado, promovendo a eliminação das colônias das superfícies tratadas, sob as duas condições de umidade (Figuras 6 e 7).

Tabela 1. Avaliação do isolamento de *C. pseudotuberculosis* com 35% de umidade relativa do ar.

Superfície lisa			
Isolamento	Controle	Cal Pó	Cal 40%
Ágar Sangue	CP	Redução 50% de CP	Neg
Pós 24h BHI-T	CP + bacilo	Bacilo	Neg
Pós 48h BHI-T	CP	Bacilo	Neg
Superfície rugosa			
Isolamento	Controle	Cal Pó	Cal 40%
Ágar Sangue	CP	Redução 50% de CP	Neg
Pós 24h BHI-T	Bacilo	Bacilo	Neg
Pós 48h BHI-T	nr	nr	nr

CP – *C. pseudotuberculosis*; Neg – sem isolamento; Nr – não realizado; h = horas

Tabela 2. Avaliação do isolamento de *C. pseudotuberculosis* com 100% de umidade relativa do ar.

Superfície Lisa			
Isolamento	Controle	Cal Pó	Cal 40%
Ágar Sangue	CP	Redução 50% de CP	Neg
Pós 24h BHI-T	CP	Bacilo	Neg
Pós 48h BHI-T	CP	Bacilo	Bacilo
Superfície rugosa			
Isolamento	Controle	Cal Pó	Cal 40%
Ágar Sangue	CP	Redução 50% de CP	Neg
Pós 24h BHI-T	CP + 2 espécies de bacilos	Bacilo	Neg
Pós 48h BHI-T	nr	nr	nr

CP – *C. pseudotuberculosis*; Neg – sem isolamento; Nr – não realizado; h = horas

O enriquecimento dos suabes e fragmentos de madeira em caldo BHI-T por 24 h demonstraram que o patógeno não sobreviveu ao tratamento com as duas apresentações de cal, sob as duas condições de umidade relativa do ar (Tabelas 1 e 2). Houve apenas o aparecimento de poucas colônias de bacilos, não representativos e considerados contaminantes de coleta.

A maior eficiência de eliminação de *C. pseudotuberculosis* na forma líquida da cal hidratada pode ser explicada pelo melhor contato do produto com a superfície. A cal em pó não conseguiu ser distribuída de forma uniforme sobre as superfícies, tanto lisa quanto rugosa, deixando lacunas. Por outro lado, a cal a 40% espalhou-se por completo, deixando uma camada uniforme de cobertura.

Comparando-se as superfícies lisas cobertas com a cal a 40%, expostas a 35% e 100% de umidade relativa do ar, observou-se diferença na textura das coberturas formadas. A placa sob umidade baixa apresentou secagem e aderência da cal ao pus, não sendo removida pela lavagem com a solução salina. A cal a 40% aplicada na placa de petri sob umidade alta manteve seus aspectos líquidos, sendo facilmente removida pela lavagem (Figura 8), demonstrando que as condições ambientais de umidade no momento da aplicação podem interferir na durabilidade do tratamento de cal na superfície. Esse resultado indica que no período seco a pintura vai aderir por mais tempo nas superfícies, aumentando o intervalo necessário para reaplicações.

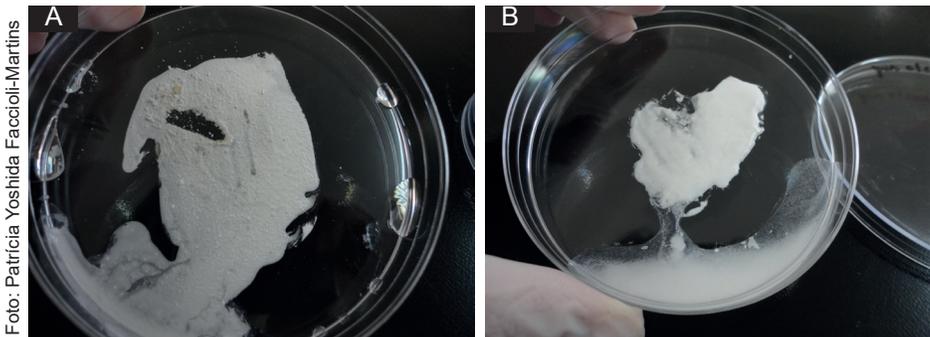


Foto: Patrícia Yoshida Faccioli-Martins

Figura 8. Tratamento do pus com cal a 40% sob 35% de umidade – aderida, não lavável. Remoção do excesso de cal com suabe e coleta de *C. pseudotuberculosis* abaixo da camada de cal (A). Tratamento do pus com cal a 40% sob 100% de umidade – lavável com solução salina (B).

O efeito desinfetante da cal a 40% já foi demonstrado em tratamento de lodo de esgoto (Passami et al., 2002), e na inativação de ovos de parasitas de pacas em cativeiro (Alves et al., 2014). No primeiro caso, ocorre a inibição do crescimento de coliformes fecais e destruição de ovos de helmintos, e no segundo há uma redução intensa nas larvas de *Strongyloides*. Os autores justificam o efeito desinfetante pelo aumento da temperatura, quando utilizando

cal virgem seguida de hidratação, e pelo aumento do pH tanto na cal virgem quanto na hidratada. Segundo a literatura, os desinfetantes álcalis têm uma ação antimicrobiana pela dissociação dos íons hidroxila (-OH) que alteram o pH ambiental. Há um efeito detergente sobre gorduras e lipídeos que contribui com o processo de limpeza. Além disso, a atividade desses produtos é maior em pH superior a nove (USDA et al., 2011).

Finalmente, a umidade baixa desfavoreceu a sobrevivência de *C. pseudotuberculosis* na lasca de madeira, pois a bactéria não pode ser recuperada do controle pelo enriquecimento em BHI-T após 24 h, diferente à lasca de madeira sob umidade alta. Essa observação corrobora com os achados de Augustine e Renshaw (1982b) que registraram a sobrevivência de *C. pseudotuberculosis* a 37 °C em superfície de madeira por apenas um dia. Os estudos desses autores demonstraram que a presença de matéria orgânica, água e temperaturas mais amenas favorecem a maior permanência do microorganismo no ambiente e utensílios (Augustine; Renshaw, 1982a). Vale ressaltar que todos os estudos realizados até o momento para determinação da sobrevivência de *C. pseudotuberculosis* em ambientes e utensílios foram realizados em ambiente simulado, com material a ser inoculado estéril, e com contaminação experimental a partir de pus proveniente de abscessos de linfadenite caseosa ou de crescimento puro do agente. Isso porque essa bactéria cresce somente em meios ricos, como ágar sangue, tem crescimento lento e não consegue ser isolada de material contaminado. O presente experimento, portanto, reflete a melhor metodologia disponível para a verificação da viabilidade do agente no ambiente.

Conclusões

A cal hidratada em pó reduz a contaminação por *C. pseudotuberculosis* em superfícies lisas e rugosas.

A cal hidratada a 40% elimina a contaminação pelo agente nas superfícies lisa e rugosa.

A maior umidade relativa do ar mantém a pintura de cal úmida por mais tempo, sendo removida mais facilmente da superfície tratada pelo contato com a água.

Os resultados obtidos demonstram que a cal em pó e a 40% é eficaz no controle da contaminação de superfícies lisas e rugosas por material purulento contendo *C. pseudotuberculosis*. Entretanto, a cal a 40% promove uma cobertura mais homogênea e elimina o agente mais eficientemente.

Agradecimentos

A equipe agradece ao Alex Vieira Franca e Antônio Filomeno Rodrigues do Nascimento pela coleta do material purulento, ao Antônio Orlando Vieira Franca pela confecção dos fragmentos de madeira, ao Roberto Cláudio Fernandes Franco Pompeu pelo empréstimo e montagem do termohigrômetro e à Jamile Bezerra de Araújo pelas discussões e apoio técnico nas análises.

Referências

- ALVES, A. L. F.; MESQUITA, N. M. P.; RIBEIRO, V. M. F.; SOUZA, S. F. Avaliação da eficiência de cal virgem na inativação de ovos, cistos e oocistos de parasitos de pacas (*Cuniculus paca*) em cativeiro. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA PARA O PROGRESSO DA CIÊNCIA, 66., 2014, Rio Branco. **Anais...** Rio Branco: UFAC; SBPC, 2014. Resumo 7844.
- AUGUSTINE, J. L.; RENSHAW, H. W. *Corynebacterium pseudotuberculosis* survival in soil samples amended with water. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON GOAT PRODUCTION AND DISEASE, 3., 1982, Tucson. **Proceedings...** Scottsdale: Dairy Goat Journal, 1982. p. 526a.
- AUGUSTINE, J. L.; RENSHAW, H.W. Survival of *Corynebacterium pseudotuberculosis* in axenic purulent exudate on common barnyard fomites. **American Journal of Veterinary Research**, v. 47, n. 4, p. 713-715, Apr. 1986.
- AUGUSTINE, J. L.; RENSHAW, H.W. Survival of *Corynebacterium pseudotuberculosis* on common barnyard fomites. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON GOAT PRODUCTION AND DISEASE, 3., 1982, Tucson. **Proceedings...** Scottsdale: Dairy Goat Journal, 1982. p. 525b.
- BAIRD, G. J.; FONTAINE, M. C. *Corynebacterium pseudotuberculosis* and its role in ovine caseous lymphadenitis. **Journal of Comparative Pathology**, v. 137, n. 4, p. 179-210, Nov. 2007. DOI: 10.1016/j.jcpa.2007.07.002
- EUROPEAN LIME ASSOCIATION. **Practical guidelines for disinfection with lime**: Practical guidelines on the use of lime for prevention and control of avian influenza, foot and mouth disease and other infectious diseases. Brussels, 2009. 8 p. Disponível em: <http://www.uspoultry.org/animal_husbandry/files/2009%2002%2011%20Influenza_UK_web.pdf>.
- FACCIOLI-MARTINS, P. Y.; ALVES, F. S. F.; PINHEIRO, R. R. **Linfadenite caseosa**: perspectivas no diagnóstico, tratamento e controle. Sobral: Embrapa Caprinos e Ovinos, 2014. 77 p.

(Embrapa Caprinos e Ovinos. Documentos, 113). Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/117061/1/CNPC-2014-Linfadenite.pdf>>. Acesso em: 15 abr. 2019.

FARIAS, A. E. M. de; ALVES, J. R. A.; ALVES, F. S. F.; PINHEIRO, R. R.; FACCIOLI MARTINS, P. Y.; LIMA, A. M. C.; AZEVEDO, S. S. de; ALVES, C. J. Seroepidemiological characterization and risk factors associated with seroconversion to *Corynebacterium pseudotuberculosis* in goats from Northeastern Brazil. **Tropical Animal Health and Production**, v. 54, n. 1, p. 745-752, may. 2019.

PASSAMI, F. R. F.; KELLER, R.; GONÇALVES, R. F. Higienização de lodo utilizando caleagem e pasteurização em uma pequena estação de tratamento de esgoto combinando reator UASB e biofiltro aerado submerso. In: CONGRESO INTERAMERICANO DE INGENIERÍA SANITARIA Y AMBIENTAL, 28, 2002., Cancún. **Gestión inteligente de los recursos naturales**; actas. Cancún: AIDIS, 2002. 1 CD Rom. 6 f.

SPIER, S. J.; TOTH, B.; EDMAN, J.; QUAVE, A.; HABASHA, F.; GARRICK, M.; BYRNE, B. A. Survival of *Corynebacterium pseudotuberculosis* biovar equi in soil. **Veterinary Record**, v. 170, n. 7, p. 180, Jan. 2012. DOI: 10.1136/vr.100543

USDA. UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. Animal And Plant Health Inspection Service. Center for Food Security and Public Health. **NAHEMS Guidelines: cleaning and disinfection**. Riverdale, 2014. 56f. Disponível em: <https://www.aphis.usda.gov/animal_health/emergency_management/downloads/nahems_guidelines/cleaning_disinfection.pdf>. Acesso em: 12/08/2019.



Caprinos e Ovinos



MINISTÉRIO DA
AGRICULTURA, PECUÁRIA
E ABASTECIMENTO



CGPE 15.504