

## DETECÇÃO E DESINFECÇÃO DE VÍRUS EM DEJETOS DE RUMINANTES

### DETECTION AND DISINFECTION OF VIRUS IN RUMINANT WASTES

Fernando Rosado Spilki<sup>1</sup>  
Lucas Kessler de Oliveira<sup>2</sup>  
Andréia Dalla Vecchia<sup>2</sup>  
Juliana Comerlato<sup>3</sup>  
Raquel Frezza<sup>3</sup>  
Joseane Vanessa dos Santos Silva<sup>4</sup>

#### RESUMO

A sustentabilidade da pecuária leiteira demanda hoje, além dos cuidados quanto aos aspectos sanitários e econômicos da produção, uma atenção especial aos possíveis impactos ambientais inerentes à produção intensiva de gado de leite. Merecem especial atenção, neste contexto, os cuidados com o manejo de dejetos, com vistas a evitar impactos sobre a qualidade da água, do solo e do ar. Para detectar a contaminação microbiológica da água e a eficácia das diferentes estratégias de manejo de dejetos, tradicionalmente a análise da qualidade da água está focada na detecção de coliformes fecais e bactérias termotolerantes. Todavia, os vírus entéricos, por suas características estruturais, resistem por períodos mais longos no ambiente do que bactérias e podem ser uma ameaça à produção também nos aspectos sanitários. No presente artigo, discutimos características desses vírus, seu comportamento nos dejetos de bovinos e possíveis estratégias de descontaminação.

**Palavras-chave:** Dejetos. Gado de leite. Vírus. Desinfecção.

#### ABSTRACT

The sustainability of dairy livestock husbandry today needs care not only to the health and economic aspects of production, but it requires special attention to possible environmental impacts associated with intensive milk production. In this respect, it deserves special attention the care with the management of wastes, to avoid impacts on water, soil and air quality. In order to detect the microbiological contamination of water and the effectiveness of different strategies for waste management, traditionally the analysis of water quality is focused on the detection of fecal coliforms and thermotolerant bacteria. However, enteric viruses, for their structural characteristics, are resistant for longer periods in the environment than bacteria and can be also a threat to health aspects in production. In this article we discuss characteristics of these viruses, their behavior in the manure of cattle and possible strategies for decontamination.

**Keywords:** Manure. Dairy cattle. Virus. Disinfection.

<sup>1</sup>Médico Veterinário. Mestre em Ciências Veterinárias. Doutor em Genética e Biologia Molecular. Orientador do Programa de Pós-graduação em Qualidade Ambiental na Feevale. E-mail: fernandors@feevale.br.

<sup>2</sup>Alunos de Mestrado no Programa de Pós-graduação em Qualidade Ambiental da Feevale.

<sup>3</sup>Acadêmicos do Curso de Biomedicina da Feevale.

<sup>4</sup>Acadêmica do Curso de Enfermagem da Feevale.

## INTRODUÇÃO

A produção animal intensiva em larga escala, em especial de gado de leite, suínos e aves, acarreta a formação de grandes volumes de dejetos (CLOSE; DANN et al., 2008). No caso específico dos ruminantes, o foco dos possíveis impactos ambientais da atividade pecuária recai sobre a produção leiteira. Na bovinocultura leiteira, ao contrário das práticas adotadas para gado de corte em nosso meio, os animais são mantidos sob manejo intensivo, em sistema confinado ou semiconfinado. Para dimensionar o volume de dejetos produzidos, podemos atestar que uma vaca de leite, por exemplo, produz em torno de 14.000 kg de estrume por ano (OLTJEN; BECKETT, 1996). No passado, o estrume era, via de regra, acondicionado em pilhas e distribuído diretamente na própria área da propriedade rural; no entanto, com o aumento do volume de produção e o esgotamento da capacidade de absorção do solo e dos recursos hídricos, hoje essa prática já vem sendo revista, mesmo em pequenas propriedades.

Os dejetos recebem, com vistas a diminuir o possível impacto ambiental causado por eles, diferentes tratamentos. O manejo mais caro e pouco usado no Brasil requer o uso de grandes quantidades de água e de lagoas anaeróbicas e aeróbicas para tratamento, sendo que, em muitos casos, são adotadas outras tecnologias, tais como a disposição direta dos dejetos sobre a lavoura, a compostagem, ou mais modernamente, o uso de biofiltros (OLTJEN; BECKETT, 1996; SUKIAS; CRAGGS et al., 2003; OENEMA; TAMMINGA, 2005). Ainda que sejam eficazes no tratamento dos dejetos quanto à eliminação de bactérias, em especial coliformes e bactérias termotolerantes, nem sempre as atuais estratégias de desinfecção ou mesmo de monitoramento dos processos incluem uma análise dos agentes virais que, por ventura, estejam presentes na água residuária e no adubo oriundos desses processos (DENG; CLIVER, 1992; 1995).

Até um passado recente, a maioria dos relatos referentes aos problemas no manejo do esterco na bovinocultura de leite normalmente se concentrava ainda na mensuração de caracteres físicos ou químicos, tendo especial atenção o efeito da presença de nutrientes residuais, em especial nitrogênio e fósforo, sobre a qualidade da água e potenciais riscos de eutrofização de corpos hídricos (GARRIDO; OMIL et al., 2001; SUKIAS; CRAGGS et al., 2003; OENEMA; TAMMINGA, 2005). Todavia, diferentes patógenos de animais com potencial risco à saúde animal ou mesmo à saúde humana podem estar associados ao descarte inadequado de dejetos animais, seja em mananciais de água, seja na utilização do esterco em

atividades agrícolas como fertilizante (GRATACAP-CAVALLIER; GENOULAZ et al., 2000; SCHIJVEN; RIJS et al., 2005).

A tecnificação crescente das atividades pecuárias exige hoje, portanto, uma atenção adicional aos cuidados com a sustentabilidade ambiental e a segurança alimentar sem precedentes históricos, mas que pode limitar a expansão de atividades no setor primário, caso não sejam tomados cuidados nesse sentido. Entendemos, no presente texto, os dejetos como uma mistura de fezes, urina, outras secreções, restos de material usado para cama dos animais e normalmente um volume variável de água utilizado para o manejo desses dejetos.

A avaliação da eficácia de diferentes estratégias de tratamento e manejo de dejetos de ruminantes e de outras espécies é medida classicamente por caracteres físico-químicos e marcadores microbiológicos, em especial os coliformes fecais.

## **PERSISTÊNCIA E DETECÇÃO DE VÍRUS ENTÉRICOS DE RUMINANTES NO AMBIENTE**

Diferentes agentes com potencial impacto sobre a saúde humana e animal podem ser encontrados em dejetos oriundos da criação intensiva de gado de leite, podendo ser arrolados bactérias, protozoários e vírus como possíveis agentes de excreção fecal e encontrados com frequência em dejetos animais não-tratados. Todavia, no presente texto, iremos nos ater, com mais detalhe, aos vírus, pelos motivos expostos a seguir.

Os vírus, por características estruturais peculiares, especialmente dos agentes virais não-envelopados, possuem notável resistência no ambiente, em especial quando comparados às bactérias (CZAJKOWSKA; BOSZCZYK-MALESZAK et al., 2008; OLSZEWSKA; PALUSZAK et al., 2008). Dada a ausência da necessidade de possuir um envelope (membrana biológica) que medie sua interação com a superfície das células hospedeiras e pelo fato de serem dotados de um capsídeo proteico resistente a intempéries, tais agentes resistem a extremos de pH na faixa de 3-10, podendo persistir no ambiente por vários dias a temperaturas tão altas quanto 50 °C ou por mais de um ano em baixas temperaturas. Relatos informam que vírus entéricos, os diferentes vírus de excreção fecal, podem estar presentes no esgoto com tratamento deficiente por até 120 dias, com destaque para os enterovírus e adenovírus, estes últimos também notavelmente resistentes à radiação ultravioleta (FUJIOKA; YONEYAMA, 2002). Caso ocorra a infiltração do solo por tais agentes, é notória sua disseminação e eles podem persistir aí por até 100 dias a temperaturas da ordem de 30 °C.

Para comparação, o principal marcador de contaminação fecal presentemente utilizado, qual seja, os coliformes fecais, resiste por até 30 dias em solo argiloso (PATTI; BAGNOD et al., 1996; FUJIOKA; YONEYAMA, 2002; SAHLSTROM; BAGGE et al., 2008; CHARLES; SHORE et al., 2009). Desse modo, parece-nos que, em decorrência de sua alta resistência no ambiente e seu potencial de disseminação através principalmente da água contaminada, os vírus merecem hoje especial atenção quanto ao seu potencial como contaminantes de dejetos animais. Há que ressaltar ainda que muitos relatos existem para a detecção e o monitoramento da presença de vírus animais e colifagos em amostras de esgoto urbano, mas pouco temos estudado essa situação em dejetos animais, especialmente quando nos referimos aos ruminantes.

Diferentes agentes virais podem ser encontrados em dejetos de ruminantes, os quais, por suas características estruturais, podem persistir por longos períodos no ambiente, podendo causar enfermidades nos próprios animais ou mesmo zoonoses. Merecem especial destaque quanto à sua resistência e aos relatos prévios como contaminantes de dejetos e da água os seguintes vírus de ruminantes: Enterovírus bovino (BEV), Adenovírus bovino (BAV) e Rotavírus bovino (BRV).

O BEV, um vírus não-envelopado, com genoma de RNA fita simples, membro da família *Picornaviridae*, apresenta, conforme análises moleculares, dois grupos genéticos bem-definidos, denominados BEV-1 e BEV-2 (GOENS; BOTERO et al., 2004). Os BEV estão normalmente associados a infecções subclínicas, ainda que existam relatos esporádicos de aborto e cardiomiopatia provocados por esses agentes (KIRKBRIDE, 1992; MCCARTHY; SMITH et al., 1999; BLAS-MACHADO; SALIKI et al., 2007). Em infecções experimentais, o BEV provocou também infecção e inflamação da glândula mamária. A prevalência da infecção é alta, mas sinais clínicos raramente são observados, o vírus é excretado em altas quantidades nas fezes e parece ser um eficaz marcador de contaminação fecal do ambiente (LEY; HIGGINS et al., 2002; JIMENEZ-CLAVERO; ESCRIBANO-ROMERO et al., 2005). O vírus é ubíquo nas populações bovinas estudadas e resiste por longos períodos no ambiente, podendo persistir por 12 semanas em água e seis semanas em chorume experimentalmente contaminados, mantidos à temperatura de 20°C (OLSZEWSKA; PALUSZAK et al., 2008). Em uma região apresentando 76% de prevalência da infecção em amostras de fezes de bovinos, pôde ser evidenciada, pelas mesmas ferramentas de detecção molecular, a presença de genoma de BEV em oito de 11 amostras de água analisadas, sendo estas coletadas de tanques de água de bebida para os animais e nos córregos e rios para onde eram destinados os dejetos de bovinos (JIMENEZ-CLAVERO; ESCRIBANO-ROMERO et al., 2005).

Ruminantes silvestres também podem ser infectados pelo BEV e disseminar a contaminação no ambiente (JIMENEZ-CLAVERO; ESCRIBANO-ROMERO et al., 2005; GUR; YAPKIC et al., 2008).

Foram encontrados cinco diferentes tipos de BAV em bovinos (HARRACH; MEEHAN et al., 1997; DAN; RUZSICS et al., 1998; MATIZ; URSU et al., 1998; REDDY; IDAMAKANTI et al., 1998), membros da família Adenoviridae, vírus não-envelopados dotados de DNA de dupla fita. Tais vírus provocam, em sua maioria, infecções subclínicas em ruminantes, mas um grande número de relatos aponta para sua importância como causadores de doenças oculares, pneumoenterites e síndromes de enfraquecimento e poliartrite em animais jovens, muitas vezes, com desfecho fatal (STOTT; THOMAS et al., 1980; ADAIR; MCKILLOP et al., 1996). Os BAV são resistentes ao calor, à radiação ultravioleta e a diferentes desinfetantes. Trabalhos anteriores apontam também esses vírus como potenciais marcadores de poluição fecal no meio rural, permitindo até mesmo, o que é difícil com metodologias baseadas na detecção de coliformes, a rastreabilidade da contaminação dos corpos d'água (DERBYSHIRE; BROWN, 1978; FONG; GRIFFIN et al., 2005). É possível, conforme a abordagem utilizada, diferenciar contaminação por fezes de origem humana, bovina ou suína, o que oferece uma promissora ferramenta de monitoramento de qualidade ambiental, mensuração do impacto de ações antrópicas e intensificação da produção pecuária sobre o ambiente (FONG; GRIFFIN et al., 2005; HUNDESA; MALUQUER DE MOTES et al., 2009). A presença de adenovírus bovinos pôde ser comprovada em 75% das amostras ambientais analisadas em um desses estudos (FONG; GRIFFIN et al., 2005).

Os rotavírus bovinos são agentes não-envelopados, de capsídeo duplo, com genoma de RNA fita dupla, segmentado, incluídos na família *Reoviridae*, que infectam ruminantes ao redor de todo o mundo (FALCONE; TARANTINO et al., 1999; KHURANA; PANDEY, 2001; FUKAI; ONODA et al., 2004; GARAICOECHEA; BOK et al., 2006; PARK; SAIF et al., 2006; RODRIGUEZ-LIMAS; FLORES-SAMANIEGO et al., 2009). Os BRV causam diarreias em bovinos jovens, à semelhança do que ocorre na infecção por rotavírus em crianças. Os BRVs do grupo A são os mais frequentes em bovinos, as infecções são de difícil controle, dada a extrema resistência desses agentes no ambiente (MOE; HARPER, 1983; IJAZ; SATTAR et al., 1994). Relatos da literatura apontam que o BRV pode permanecer viável nas instalações de alojamento dos animais por períodos relativamente longos, sendo resistentes a vários desinfetantes. Os BRV são estáveis em uma faixa de pH entre 3 e 9, resistem bem a secas e extremos de umidade, sendo sensíveis a temperaturas altas (ABAD, PINTO et al., 1994). Presume-se que o BRV pode ser transmitido pela água e é aceita a

possibilidade de contaminação de mananciais de água por dejetos contaminados; todavia, ao contrário do que já foi relatado para rotavírus de origem humana (BELLAMY; ALCOCK et al., 1993), não foram feitos estudos aprofundados sobre a presença de BRV como contaminante de recursos hídricos. Ainda há que destacar o potencial zoonótico e antropozoonótico de rotavírus (PELL, 1997).

Outros agentes virais não-envelopados emergentes, tais como os Norovírus, Sapovírus e Torque teno vírus também possuem relatos de sua ocorrência em ruminantes, infectando bovinos e ovinos (HINO; MIYATA, 2007; BRASSARD; GAGNE et al., 2008; MAUROY; SCIPIONI et al., 2009; WOLF; WILLIAMSON et al., 2009). Tais agentes já foram detectados em água contaminada por fezes humanas (HANSMAN; OKA et al., 2007; HANSMAN; SANO et al., 2007) e possivelmente devem estar presentes em recursos hídricos poluídos por dejetos de ruminantes (Koopmans, 2008).

## **ALTERNATIVAS PARA DESCONTAMINAÇÃO DE DEJETOS CONTAMINADOS POR VÍRUS**

O manejo incorreto de dejetos em propriedades leiteiras tem impactos sanitários (facilitação da transmissão de doenças e transmissão de vetores), econômicos (perdas na produção e contaminação de instalações e do produto final) e ambientais (infiltração e contaminação de aguadas e lençóis freáticos, odor desagradável, potenciais danos à fauna e à flora). Diferentes abordagens são encontradas em nosso meio para o manejo de dejetos sólidos e líquidos oriundos da produção leiteira: I) dispersão direta dos dejetos nos cultivos voltados à alimentação animal, mesmo sem nenhum tratamento; II) uso de esterqueiras ou compostagem, visando à elevação de temperatura e fermentação do esterco; III) chorumeiras e outras estratégias para manejo da fração líquida dos dejetos, na sua maior parte representada pela própria água utilizada nos processos de lavagem das instalações. O uso de sucessões de lagoas anaeróbicas e aeróbicas, muito utilizado nos Estados Unidos da América, ainda que já presente em considerável escala na suinocultura brasileira, não tem grande expressão em nossas propriedades de leite, provavelmente pela demanda de grandes áreas e seu alto custo de implantação. A escolha de um ou outro método está baseada, de modo geral, no nível de tecnificação da propriedade, na orientação técnica, na disponibilidade de espaço e de recursos financeiros. Ainda deveria ser levada em conta a capacidade de sustentabilidade do solo e dos mananciais hídricos em suportar o impacto determinado pela contaminação química e

microbiológica potencialmente presente na bovinocultura leiteira intensiva.

Especificamente no que tange à inativação de vírus, ainda que sejam escassos os relatos na literatura para pecuária de leite, alguns estudos foram feitos em suinocultura, medindo a eficácia de métodos similares em inativar vírus presentes em dejetos com possível extrapolação e aplicação na produção de leite. Estudos relatam que uma inativação eficaz é atingida quando são conseguidas temperaturas, em sistema de compostagem, estrumeira ou chorumeira, superiores a 60°C, com adição de soda cáustica ou formalina (Derbyshire e Brown, 1979; Hundesa, Maluquer De Motes *et al.*, 2009) . O uso de lagoas anaeróbicas e aeróbicas parece ser eficaz (MONTEITH; SHANNON *et al.*, 1986; SPILLMANN; TRAUB *et al.*, 1987; DAVIS; FARRAH *et al.*, 2006), mas sua adoção é complicada em nosso meio, dadas as características de minifúndio e a margem de lucro escassas de nossos produtores de leite (SUKIAS; CRAGGS *et al.*, 2003). Uma alternativa promissora seria a adoção de biofiltros cultivados com bactérias selecionadas para um efeito virucida, conforme demonstrado para a inativação de poliovírus e de vírus da Hepatite A em dejetos humanos e suínos (HURST; GERBA *et al.*, 1980; DENG; CLIVER, 1992; 1995).

## AGRADECIMENTOS

O presente artigo está ligado ao projeto institucional do Centro Universitário Feevale, intitulado “Uso de diferentes agentes virais como marcadores de impacto ambiental”. FRS é Bolsista de Produtividade do CNPq (PQ2). JC é bolsista Bitec/IEL/CNPq e JVSS é bolsista do programa PIBIC/CNPq. ADV é bolsista de Mestrado PROSUP/CAPES.

## REFERÊNCIAS

- ABAD, F. X. *et al.* Survival of enteric viruses on environmental fomites. **Applied Environmental Microbiology**, v. 60, n. 10, p. 3704-10, Oct 1994.
- ADAIR, B. M. *et al.* Bovine adenovirus type 10: properties of viruses isolated from cases of bovine haemorrhagic enterocolitis. **Veterinary Record** , v. 138, n. 11, p. 250-2, Mar. 16 1996.
- BELLAMY, K. *et al.* A test for the assessment of 'hygienic' hand disinfection using rotavirus. **Journal of Hospital Infection**, v. 24, n. 3, p. 201-10, Jul 1993.
- BLAS-MACHADO, U. *et al.* Fatal ulcerative and hemorrhagic typhlocolitis in a pregnant heifer associated with natural bovine enterovirus type-1 infection. **Veterinary Pathology**, v.

44, n. 1, p. 110-5, Jan 2007.

BRASSARD, J. et al. Molecular detection of bovine and porcine Torque teno virus in plasma and feces. **Veterinary Microbiology**, v. 126, n. 1-3, p. 271-6, Jan 1 2008.

CHARLES, K. J. et al. Assessment of the stability of human viruses and coliphage in groundwater by PCR and infectivity methods. **Journal of Applied Microbiology**, v. 106, n. 6, p. 1827-37, Jun 2009.

CLOSE, M. et al. Microbial groundwater quality and its health implications for a border-strip irrigated dairy farm catchment, South Island, New Zealand. **Journal of Water Health**, v. 6, n. 1, p. 83-98, Mar 2008.

CZAJKOWSKA, D. et al. Studies on the survival of enterohemorrhagic and environmental Escherichia coli strains in wastewater and in activated sludges from dairy sewage treatment plants. **Polish Journal of Microbiology**, v. 57, n. 2, p. 165-71, 2008.

DAN, A. et al. Analysis of the hexon gene sequence of bovine adenovirus type 4 provides further support for a new adenovirus genus (Atadenovirus). **Journal of General Virology**, v. 79 ( Pt 6), p. 1453-60, Jun 1998.

DAVIS, J. A. et al. Adsorption of viruses to soil: impact of anaerobic treatment. **Water Science Technology**, v. 54, n. 3, p. 161-7, 2006.

DENG, M. Y.; CLIVER, D. O. Inactivation of poliovirus type 1 in mixed human and swine wastes and by bacteria from swine manure. **Applied Environmental Microbiology**, v. 58, n. 6, p. 2016-21, Jun 1992.

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

DERBYSHIRE, J. B.; BROWN, E. G. Isolation of animal viruses from farm livestock waste, soil and water. **Journal of Hygiene (London)**, v. 81, n. 2, p. 295-302, Oct 1978.

DERBYSHIRE, J. B.; BROWN, E. G. The inactivation of viruses in cattle and pig slurry by aeration or treatment with calcium hydroxide. **Journal of Hygiene (London)**, v. 82, n. 2, p. 293-9, Apr 1979.

FALCONE, E. et al. Determination of bovine rotavirus G and P serotypes in Italy by PCR. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 37, n. 12, p. 3879-82, Dec 1999.

FONG, T. T. et al. Molecular assays for targeting human and bovine enteric viruses in coastal waters and their application for library-independent source tracking. **Applied Environmental Microbiology**, v. 71, n. 4, p. 2070-8, Apr 2005.

FUJIOKA, R. S.; YONEYAMA, B. S. Sunlight inactivation of human enteric viruses and



fecal bacteria. **Water Science Technology**, v. 46, n. 11-12, p. 291-5, 2002.

FUKAI, K. et al. Genetic and serological characterization of novel serotype G8 bovine group A rotavirus strains isolated in Japan. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 66, n. 11, p. 1413-6, Nov 2004.

GARAIKOECHEA, L. et al. Molecular characterization of bovine rotavirus circulating in beef and dairy herds in Argentina during a 10-year period (1994-2003). **Veterinary Microbiology**, v. 118, n. 1-2, p. 1-11, Nov 26 2006.

GARRIDO, J. M. et al. Carbon and nitrogen removal from a wastewater of an industrial dairy laboratory with a coupled anaerobic filter-sequencing batch reactor system. **Water Science Technology**, v. 43, n. 3, p. 249-56, 2001.

GOENS, S. D. et al. Bovine enterovirus 2: complete genomic sequence and molecular modelling of a reference strain and a wild-type isolate from endemically infected US cattle. **Journal of General Virology**, v. 85, n. Pt 11, p. 3195-203, Nov 2004.

GRATACAP-CAVALLIER, B. et al. Detection of human and animal rotavirus sequences in drinking water. **Applied Environmental Microbiology**, v. 66, n. 6, p. 2690-2, Jun 2000.

GUR, S. et al. Serological survey of bovine enterovirus type 1 in different mammalian species in Turkey. **Zoonoses and Public Health**, v. 55, n. 2, p. 106-11, 2008.

HANSMAN, G. S. et al. Human sapovirus in clams, Japan. **Emerging Infectious Diseases**, v. 13, n. 4, p. 620-2, Apr 2007.

HANSMAN, G. S. et al. Sapovirus in water, Japan. **Emerging Infectious Diseases**, v. 13, n. 1, p. 133-5, Jan 2007.

HARRACH, B. et al. Close phylogenetic relationship between egg drop syndrome virus, bovine adenovirus serotype 7, and ovine adenovirus strain 287. **Virology**, v. 229, n. 1, p. 302-8, Mar 3 1997.

HINO, S.; MIYATA, H. Torque teno virus (TTV): current status. **Reviews in Medical Virology**, v. 17, n. 1, p. 45-57, Jan-Feb 2007.

HUNDESA, A. et al. Development of a qPCR assay for the quantification of porcine adenoviruses as an MST tool for swine fecal contamination in the environment. **Journal of Virological Methods**, v. 158, n. 1-2, p. 130-5, Jun 2009.

HURST, C. J. et al. Effects of environmental variables and soil characteristics on virus survival in soil. **Applied Environmental Microbiology**, v. 40, n. 6, p. 1067-79, Dec 1980.

IJAZ, M. K. et al. Studies on the survival of aerosolized bovine rotavirus (UK) and a murine rotavirus. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, v. 17, n. 2, p.

91-8, May 1994.

JIMENEZ-CLAVERO, M. A. et al. Survey of bovine enterovirus in biological and environmental samples by a highly sensitive real-time reverse transcription-PCR. **Applied Environmental Microbiology**, v. 71, n. 7, p. 3536-43, Jul 2005.

KHURANA, B.; PANDEY, R. Evidence of bovine non-group A rotavirus in diarrhoeic neonatal calves in India. **Veterinary Record**, v. 149, n. 12, p. 364-5, Sep 22 2001.

KIRKBRIDE, C. A. Viral agents and associated lesions detected in a 10-year study of bovine abortions and stillbirths. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 4, n. 4, p. 374-9, Oct 1992.

KOOPMANS, M. Progress in understanding norovirus epidemiology. **Curr Opin Infect Diseases**, v. 21, n. 5, p. 544-52, Oct 2008.

LEY, V. et al. Bovine enteroviruses as indicators of fecal contamination. **Applied Environmental Microbiology**, v. 68, n. 7, p. 3455-61, Jul 2002.

MATIZ, K. et al. Sequencing and phylogenetic analysis of the protease gene, and genetic mapping of bovine adenovirus type 10 define its relatedness to other bovine adenoviruses. **Virus Research**, v. 55, n. 1, p. 29-35, May 1998.

MAUROY, A. et al. Epidemiological study of bovine norovirus infection by RT-PCR and a VLP-based antibody ELISA. **Veterinary Microbiology**, v. 137, n. 3-4, p. 243-51, Jun 12 2009.

MCCARTHY, F. M. et al. Molecular characterisation of Australian bovine enteroviruses. **Veterinary Microbiology**, v. 68, n. 1-2, p. 71-81, Aug 16 1999.

MOE, K.; HARPER, G. J. The effect of relative humidity and temperature on the survival of bovine rotavirus in aerosol. **Archives of Virology**, v. 76, n. 3, p. 211-6, 1983.

MONTEITH, H. D. et al. The inactivation of a bovine enterovirus and a bovine parvovirus in cattle manure by anaerobic digestion, heat treatment, gamma irradiation, ensilage and composting. **Journal of Hygiene (London)**, v. 97, n. 1, p. 175-84, Aug 1986.

OENEMA, O.; TAMMINGA, S. Nitrogen in global animal production and management options for improving nitrogen use efficiency. **Science in China C (Life Sciences)**, v. 48 Spec No, p. 871-87, Dec 2005.

OLSZEWSKA, H. et al. SURVIVAL OF BOVINE ENTEROVIRUS STRAIN LCR-4 IN WATER, SLURRY, AND SOIL **Bulletin Veterinary Institute of Pulawy**, v. 52, p. 205-209, 2008.

OLTJEN, J. W.; BECKETT, J. L. Role of ruminant livestock in sustainable agricultural systems. **Journal of Animal Science**, v. 74, n. 6, p. 1406-9, Jun 1996.

PARK, S. H. et al. Molecular characterization of novel G5 bovine rotavirus strains. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 44, n. 11, p. 4101-12, Nov 2006.

PATTI, A. M. et al. Survival of enteric viruses in the marine environment. **Annali di Igiene**, v. 8, n. 3, p. 341-8, May-Jun 1996.

PELL, A. N. Manure and microbes: public and animal health problem? **Journal of Dairy Science**, v. 80, n. 10, p. 2673-81, Oct 1997.

REDDY, P. S. et al. Nucleotide sequence, genome organization, and transcription map of bovine adenovirus type 3. **Journal of Virology**, v. 72, n. 2, p. 1394-402, Feb 1998.

RODRIGUEZ-LIMAS, W. A. et al. Genotypification of bovine group A rotavirus in Mexico. **Vaccine**, Jun. 24 2009.

SAHLSTROM, L. et al. A laboratory study of survival of selected microorganisms after heat treatment of biowaste used in biogas plants. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 16, p. 7859-65, Nov 2008.

SCHIJVEN, J. et al. Quantitative risk assessment of FMD virus transmission via water. **Risk Analysis**, v. 25, n. 1, p. 13-21, Feb 2005.

SPELLMANN, S. K. et al. Inactivation of animal viruses during sewage sludge treatment. **Applied Environmental Microbiology**, v. 53, n. 9, p. 2077-81, Sep 1987.

STOTT, E. J. et al. A survey of virus infections of the respiratory tract of cattle and their association with disease. **Journal of Hygiene (London)**, v. 85, n. 2, p. 257-70, Oct 1980.

SUKIAS, J. P. et al. Combined photosynthesis and mechanical aeration for nitrification in dairy waste stabilisation ponds. **Water Science Technology**, v. 48, n. 2, p. 137-44, 2003.

WOLF, S. et al. Molecular detection of norovirus in sheep and pigs in New Zealand farms. **Veterinary Microbiology**, v. 133, n. 1-2, p. 184-9, Jan. 1 2009.