

ESTABILIDADE TÉRMICA DE PATÓGENOS ENTÉRICOS EM EFLUENTES E LODOS SUINÍCOLAS

Fongaro, G¹; Kunz, A^{2,3}; Magri, M.E¹; Shissi, C.D¹; Zaguini¹, J; Barardi, C.R.M¹

¹Universidade Federal de Santa Catarina – Florianópolis-SC-Brasil

²Embrapa Suínos e Aves, Concórdia-SC-Brasil

³PGEAGRI-CCET-UNIOESTE- Cascavel-PR-Brasil

THERMAL STABILITY OF ENTERIC PATHOGENS IN SWINE EFFLUENT AND SLUDGE

ABSTRACT: The study of the enteric pathogens stability in different temperatures is very important to know the survival of the pathogen and elucidate processes that allow its inactivation. The aim of this study was to evaluate the thermal stability of enteric pathogens models (*Salmonella* Thyphimurium, bacteriophage ϕ X174 and Human Adenovirus-2 (HAdV-2)) in function of storage time in swine effluent and sludge subject to psychrophilic temperature (winter and summer, 16 and 23°C, respectively), mesophilic temperature (37°C) and thermophilic temperature (55°C). Pathogens were quantified, ϕ X 174 proved to be more stable at all temperatures. The thermophilic and mesophilic temperatures, 55 and 37°C, respectively, were considered the most efficient in the removal of enteric pathogens (up to 40 days of storage time) in effluent and sludge, however, to achieve these temperatures conventionally no need of energy expenditure for heating the biomass to be sanitized. Psychrophilic temperature were not considered promising in the inactivation of enteric pathogens, reinforcing the need of post-treatment after swine and sludge storage in psychrophilic temperatures, glimpsing the safe reuse of swine wastewater and sludge for fertilization purposes.

KEY-WORDS: Swine wastewater and sludge, Enteric pathogens; Thermal stability; Effluent Reuse

INTRODUÇÃO

Em processos de higienização ou desinfecção, o emprego de calor é realizado quando se pretende inativar os patógenos entéricos, já que como consequência da elevação da temperatura há desnaturação de proteínas estruturais, destruição de atividades enzimáticas e desnaturação de ácidos nucleicos, impedindo irreversivelmente a replicação dos patógenos, bem como impedindo que os mesmos sejam reconhecidos pelos seus hospedeiros, quando for o caso (exemplo: interação do vírus com o receptor da célula hospedeira) (FONG; LIPP, 2005), contudo, deve-se considerar que há microrganismos que apresentam fatores de resistência à inativação termal. Neste contexto, este estudo objetivou avaliar a estabilidade térmica de patógenos entéricos modelo (*Salmonella* Thyphimurium, bacteriófago ϕ X 174 e Adenovírus humano-2' (HAdV-2) em função do tempo de estocagem em efluentes e lodos suinícolas sujeitos à temperatura psicrófila (inverno e verão, 16 e 23°C, respectivamente), mesófila (37°C) e termófila (55°C).

METODOLOGIA

Para a realização do experimento de avaliação da estabilidade térmica dos patógenos entéricos em efluente e lodo da suinicultura proveniente de biodigestor anaeróbio (BA) de Lagoa Coberta, foram coletados 10 L de amostra de efluente final e 10 L de lodo acumulado no fundo do biodigestor. As amostras foram contaminadas artificialmente com quantidades conhecidas de bacteriófago ϕ X 174, HAdV-2 e *S. Thiphymurium* como modelos de

patógenos entéricos virais e bacteriano, respectivamente. Em tréplicas, alíquotas de 500 mL de efluente e lodo, em recipiente de vidro, foram alocadas em temperaturas controladas mimetizando condição: 1) Psicofílica (inverno e verão, 16 e 23°C ± 2°C, respectivamente); b) Mesofílica (37°C ± 2°C); c) Termofílica (55°C ± 2°C).

As amostras foram coletadas durante as estocagens numa frequência amostral variável, em função da temperatura de estocagem e avaliadas quanto à enumeração de *S. Thyphimurium*, segundo ISO 6579 (2002), de bacteriófagos ϕ X 174, segundo ISSO 10705-2: 2000 (2001) e HAdV-2, usando métodos de ICC-et-RT-qPCR, segundo Fongaro et al. (2013) e Ko et al. (2003). Análise ANOVA foi aplicada para avaliar diferenças significativas entre as amostragens.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados de estabilidade dos patógenos modelos avaliados mostrou que HAdV-2 no efluente manteve-se estável na temperatura 16°C por até 90 dias, havendo apenas 2 logs de decaimento, sendo este significativo nos tempos 90 e 120 dias. Nas temperaturas 22 e 37°C houve decaimento significativo a partir de 30 dias de estocagem, com tendência linear e decaimento superior aos 2,5 logs. ϕ -X 174 no efluente mostrou-se mais estável que o HAdV-2 em todas as temperaturas, já que em 16°C não foi registrado decaimento significativo (sem tendência de decaimento) até 120 dias de avaliação e nas temperaturas 22 e 37°C foram consideradas reduções estatisticamente significativas nos tempos 90 e 60 dias, respectivamente, sendo este decaimento adequado para o modelo linear. Nas amostras de lodo HAdV-2 mostrou-se menos estável que no efluente. Quando sujeito à temperatura de 16°C, HAdV-2 mostrou-se estável até 60 dias, havendo 2 logs de decaimento, sendo este significativo com tendência linear. Nas temperaturas 22 e 37°C houve decaimento significativo a partir de 30 e 20 dias, respectivamente, sendo este decaimento superior aos 2,5 logs e também com tendência linear. ϕ X 174 no lodo também se demonstrou mais estável que o HAdV-2, porém ambos os vírus foram mais susceptíveis à inativação quando estavam em contato com o lodo do que quando estavam em efluente suinícola. ϕ -X 174, frente à temperatura de 16°C manteve-se estável por até 120 dias de avaliação, sem tendência de decaimento. Nas temperaturas 22 e 37°C foram consideradas reduções estatisticamente significativas nos tempos 60 e 45 dias, respectivamente, sem tendência linear (Figura 1 a - b).

ϕ -X 174 e HAdV-2, em lodo e efluente da suinocultura, foram submetidos à temperatura de 55°C por até 168 horas. ϕ -X 174 demonstrou-se estável no efluente por até 24h, reduzindo 2 logs ou mais a partir desse período, e no lodo foi mais susceptível à inativação, já que a partir de 12 horas já apresentava reduções significativas na sua infecciosidade, sendo esta inativação linear. HAdV-2 foi considerado novamente mais susceptível à inativação térmica se comparado ao ϕ -X 174, majoritariamente no lodo que no efluente suinícola, já que no efluente sofreu redução significativa em 8 horas e no lodo em 4 horas de incubação, sendo registrada decaimento com tendência linear de mais de 2 logs (Figura 2 a -b).

O estudo da estabilidade de *S. Thyphimurium*, como modelo bacteriano, em efluentes e lodos demonstrou que estas se mantiveram estáveis por até 7 dias em 16 e 22°C (em fase estacionária), obtendo-se reduções significativas a partir de 20 dias de estocagem, com decaimento superior a 2 logs e tendência linear. Quando temperaturas de 37 e 55°C foram aplicadas, reduções significativas foram registradas em 4 h e 0,25 h no efluente e no lodo, sendo registrada a inativação de mais de 2 logs, com tendência linear(Figura 3 a-b).

Os resultados encontrados neste trabalho reforçam a estabilidade térmica do bacteriófago ϕ -X 174 quando comparado ao HAdV-2; Os colifagos somáticos, caso do ϕ -X 174, são apontados como um dos melhores bioindicadores microbianos, representando os vírus entéricos humanos e animais, particularmente em processos de tratamentos de lodos, esgotos e dejetos, sendo amplamente utilizado em tratamentos que apliquem energia térmica como princípio (MANDILARA et al., 2006).

Condições mesofílicas e termofílicas são recomendadas para desinfecção de lodos e efluentes podem danificar o capsídeo viral, desnaturar proteínas, desestabilizando as funções celulares, levando à perda de viabilidade dos patógenos entéricos, como bactérias, vírus, ovos de áscaris e protozoários (FONG; LIPP, 2005; LEAL et al., 2013;) requerendo, no entanto, gasto energético para aquecimento da biomassa. A condição psicrófila raramente foi estudada nestas matrizes, os resultados aqui apresentados apontam que os tempos de retenção hidráulica dos efluentes em BA de lagoa coberta (40 dias) bem como em esterqueiras (80 dias) não são o suficiente para inativar minimamente 90% dos patógenos entéricos presentes.

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos reforçam a necessidade de tratamentos pós-biodigestão anaeróbia, principalmente quando considera-se o tipo lagoa coberta que atua em temperatura psicrófila, vislumbrando o reúso seguro de efluentes e lodo suinícolas para fins de biofertilização.

REFERÊNCIAS

- FONGARO, G., NASCIMENTO, M. A., RIGOTTO, C., RITTERBUSCH, G., DA SILVA, A.D., ESTEVES, P.A., BARARDI, C.R.M. Evaluation and molecular characterization of human adenovirus in drinking water supplies: viral integrity and viability assays. *Vir J* 10:166, 2013.
- KO, G., CROMEANS, T.L., SOBSEY, M.D. Detection of infectious adenovirus in cell culture by mRNA reverse transcription-PCR. *Appl Environ Microbiol* 2003, 69:7377–84, 2002.
- LEAL, D.A.G., RAMOS, A.P.D., SOUZA, D.S.M., DURIGAN, M., GREINERT-GOULART, J.A., MORESCO, V., AMSTUTZ, R.C., MICOLI, A.H., CANTUSIO NETO, R., BARARDI, C.R.M., FRANCO, R.M.B. Sanitary quality of edible bivalve mollusks in southeastern Brazil using an U.V. based depuration system. *Ocean Coast. Manag.*, 72: 93–100, 2013.
- MANDILARA, G., MAVRIDOU, A., LAMBIRI, M., VATOPOULOS, A., RIGAS, F. The use of bacteriophages for monitoring the microbiological quality of sewage sludge. *Environ Technol*, 27:367–370, 2006.
- WONG, K., ONAN, B.M., XAGORARAKI, I. Quantification of enteric viruses, pathogen indicators, and salmonella bacteria in Class B anaerobically digested biosolids by culture and molecular methods. *Appl Environ Microbiol*, 76(19):6441–6448, 2010.

Figura 1: Estabilidade térmica de ϕ – X 174 e HAdV-2 em função da temperatura em a) efluente e b) lodo suinícola, frente às temperaturas de 16, 22 e 37°C.

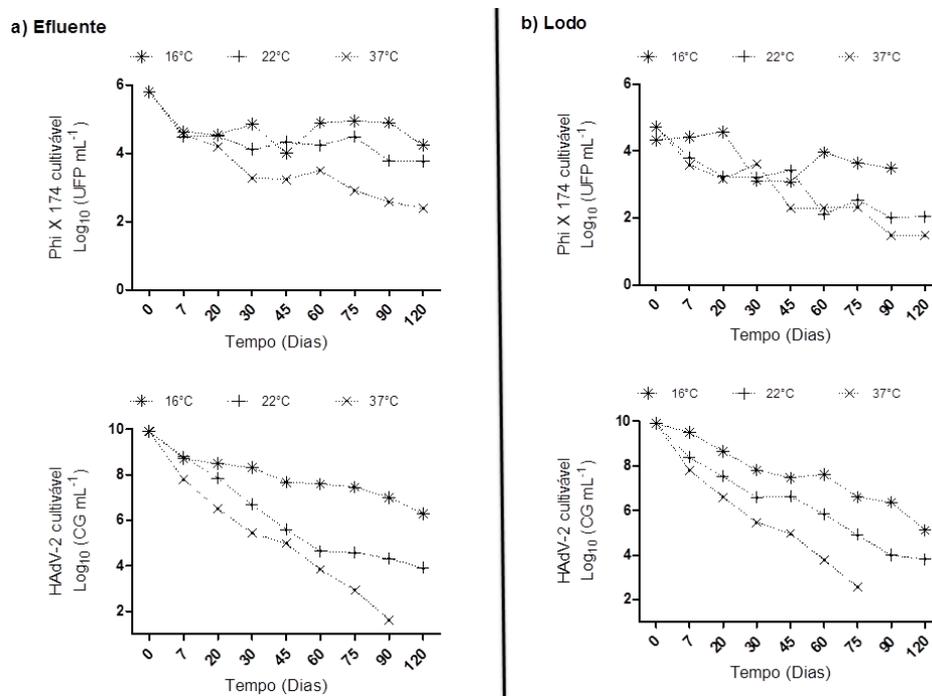


Figura 2: Estabilidade térmica de a) ϕ X-174 e b) HAdV-2 em função do tempo, em efluente e lodo suinícola frente à temperatura de 55°C

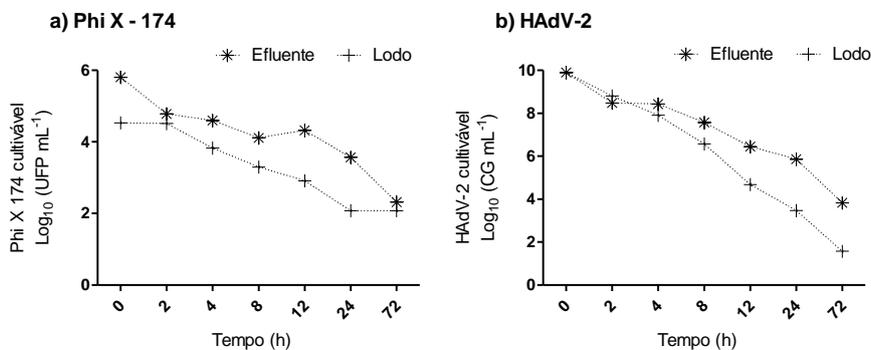


Figura 3: Estabilidade térmica de *Salmonella* Thiphymurium em função do tempo, em efluente e lodo suinícola, frente às temperaturas de a) 16 e 22°C e b) 37 e 55°C.

