

CAPÍTULO 3

Dispersão de patógenos e resistência antimicrobiana em áreas adubadas com dejetos de suínos

Jalusa Deon Kich, Caroline Reichen e Cesar Rodrigo de Souza Surian

Introdução

No Brasil, a suinocultura industrial é predominantemente coordenada de forma vertical, onde as agroindústrias (empresas e cooperativas) organizam a produção através de contratos com produtores especializados em diferentes estágios da cadeia de produção (ex: unidades de produção de leitões, crechários e unidades de crescimento e terminação). Nestes contratos, em geral, as agroindústrias fornecem animais, alimentação, assistência técnica na produção e definem os padrões tecnológicos para os projetos de instalações e especificações de equipamentos que o produtor utiliza no sistema de produção.

A concentração de animais nesta atividade pecuária resulta na produção volumosa de dejetos, tendo como consequência uma ampliação do risco de impacto negativo ao meio ambiente. Devido ao alto volume e potencial carga poluidora, estes resíduos requerem gestão adequada, estabelecida por legislação ambiental, para que o seu potencial impacto seja mitigado. No entanto, resíduos da suinocultura são com alguma frequência descartados no solo desconsiderando as recomen-

dações agronômicas. Com as melhorias nos sistemas de produção e desenvolvimento de novas tecnologias, têm-se buscado métodos alternativos de tratamento destes resíduos, com o intuito de reduzir o impacto de seu descarte sobre o ambiente (Assmann *et al.*, 2007; Barnabé *et al.*, 2007; Cabral *et al.*, 2011).

O uso de dejetos de suínos como fertilizante do solo apresenta vários benefícios, tanto da perspectiva da suinocultura, representando um destino para este resíduo, quanto da agricultura, por ser uma fonte de nutrientes para as plantas e material biológico para estruturação do solo. Porém, os dejetos também podem conter organismos patogênicos para animais e homem, que se dispersam no ambiente por diferentes rotas, incluindo a fertilização do solo. Entre estes organismos destacam-se enterobactérias, clostrídios, micobactérias, alguns parasitas e as doenças priônicas, conhecidas como encefalopatias espongiformes transmissíveis (EETs). Outro aspecto atual relacionado ao uso de dejetos é a presença de resíduos de antimicrobianos e a persistência de bactérias resistentes aos antimicrobianos nos dejetos. O presente capítulo reúne informações sobre a dispersão de patógenos e resistência antimicrobiana pelo uso de dejetos de suínos na adubação de pastagens.

Patógenos presentes em áreas adubadas com dejetos de suínos

O ciclo de transição de populações microbianas entre habitats naturalmente relacionados como o trato gastrointestinal animal, os dejetos, o solo, as plantas e novamente animais (Kupriyanov *et al.*, 2010) possibilita que o dejetos cru ou tratado inadequadamente seja uma rota de disseminação de patógenos (Elving *et al.*, 2014). A disseminação de agentes patogênicos via dejetos e carcaças de suínos pela contaminação de água e solo é uma forma reconhecida de risco aos animais, humanos e meio ambiente (Tápparo *et al.*, 2020). Entre estas populações, alguns microrganismos possuem caráter zoonótico e são patogênicos para os animais. As enterobactérias *Clostridium perfringens*, *Mycobacterium* sp. e *Cryptosporidium parvum* já foram relatadas na literatura e

serão discutidos a seguir (Tirado; Schmidt, 2001; Farzan *et al.*, 2009; Kupriyanov *et al.*, 2010).

Enterobactérias

De acordo com a taxonomia, a família *Enterobacteriaceae* é constituída por 53 gêneros e cerca de 170 espécies conhecidas. Dentre estes, sabe-se que 26 gêneros são causadores de infecções em seres humanos. As enterobactérias que estão envolvidas na cadeia de produção de suínos com forte impacto na sanidade animal e com importância na disseminação via dejetos de suínos são *Salmonella* sp. e *Escherichia coli*.

Salmonella sp.

A infecção por salmonelas em animais de produção representa dois riscos, de ocorrência de doença nos animais e de saúde pública pela contaminação dos alimentos (Narro; Tiongco; Scott *et al.*, 2011). Em rebanhos de suínos, a infecção é endêmica, predominantemente subclínica e pode ocorrer em todas as fases da produção (Arguello *et al.*, 2013), com maior probabilidade de se manifestar no período de terminação (Berends *et al.*, 1996; Kranker *et al.*, 2003). A maioria das salmonelas isoladas dos dejetos não é causa de doença clínica, contudo os suínos têm o papel epidemiológico de portadores, multiplicadores e excretos intermitentes da bactéria no ambiente de produção (Berends *et al.*, 1996). A frequência de isolamento de *Salmonella* em amostras de dejetos é bastante variável; com relatos de 1,6 até 38,46% (Holzel; Bauer, 2008; Hutchison *et al.*, 2004; Farzan *et al.*, 2009; Pornsukarom; Thakur, 2016).

A *Salmonella* pode persistir no solo por pelo menos de três semanas (Pornsukarom; Thakur, 2016) até mais de 400 dias após a aplicação do dejetos suíno (You, 2006). A viabilidade da *Salmonella* em solo arenoso foi de 75 dias após a aplicação de dejetos bovino incorporado ao solo e de 10 dias quando espalhado na superfície (Wang *et al.*, 2018). A sobrevivência da *Salmonella* no solo é influenciada por vários fatores, como temperatura, umidade, tipo de solo, presença de plantas, exposição à luz solar (UV), predação por protozoários e o número inicial de organismos presentes (You *et al.*, 2006; Jacobsen; Bech, 2012). A forma

como o dejetos é espalhado no solo, bem como o local e profundidade da coleta das amostras, podem interferir na quantidade de *Salmonella* na amostra (Pornasukarom; Thakur, 2016; Bech *et al.*, 2010). A textura do solo também afeta a concentração da bactéria, já que solos mais argilosos têm maiores concentrações de *Salmonella* na água de drenagem do que solos arenosos (Bech *et al.*, 2010). A presença de *Salmonella* foi detectada em amostras de água subterrânea coletadas de fossas próximas a locais onde ocorre o enterro de carcaças não tratadas (Kim; Kim, 2012). Estas evidências alertam para a possibilidade de contaminação de água supostamente potável, o que pode ser um risco à saúde pública.

Escherichia coli

A *Escherichia coli* é uma bactéria comumente encontrada no intestino de humanos e animais de sangue quente e a maioria das cepas não causa doença. No entanto, algumas cepas são patogênicas, entre elas as *E. coli* enteropatogênicas (EPEC), *E. Coli* enterotoxigênicas (ETEC), *E.coli* enteroinvasivas (EIEC) e *E. coli* enterohemorrágicas, produtora de toxina Shiga (STEC). Estas cepas causam doenças graves de origem alimentar, sendo o sorotipo O157:H7 da STEC o mais patogênico. Os principais sintomas em humanos são cólicas abdominais severas e diarreia profusa, muitas vezes sanguinolenta. A via de transmissão são alimentos contaminados, principalmente carne e leite crus ou malcozidos e vegetais contaminados consumidos crus.

A *E. coli* O157 foi encontrada em quase 12% das amostras coletadas de dejetos suínos sem tratamento e em 16% das amostras de dejetos que passaram por armazenamento em lagoas (Hutchison *et al.*, 2004). O tempo de sobrevivência em solos argilosos submetidos a aplicações profundas de dejetos foi de 75 dias (Wang; Huber; Dunfield *et al.*, 2018). A *E. coli* O157 sobreviveu por até um mês em solos arenosos e argilosos após a aplicação de dejetos bovinos, e a sua taxa de sobrevivência no solo depende de uma variedade de condições (Nicholson; Groves; Chambers *et al.*, 2005). O tempo de sobrevivência da bactéria em dejetos armazenados ao ar livre é provavelmente mais longo durante o inverno do que no verão, por causa das temperaturas mais baixas (Placha *et*

al., 2001). Análises microbiológicas mostraram que 100% das amostras coletadas em esterco bovino e 58% das amostras de cama de frango foram positivas para *E. coli* enteropatogênica com população variando de 3,3 a 6,5 Log UFC/g (Neetoo *et al.*, 2020). A *E. coli* permanece viável por mais tempo em cama de frango do que no esterco de cavalo ou de bovinos. Contudo, fatores como local de aplicação, estação do ano e umidade podem influenciar mais a sobrevivência da bactéria no solo (mais 90 dias) do que o tipo de esterco (Sharma *et al.*, 2019).

A poeira gerada pelo esterco proveniente de um confinamento de gado pode transferir *E. coli* O157:H7 para plantações de olerícolas a 180 m de distância. Esse tipo de contaminação aumenta quando as superfícies dos currais para gado estão muito secas e quando esta situação é combinada com manejos que geram poeira no ar (Berry *et al.*, 2015). *E. coli* já foi detectada em amostras de água subterrânea próximas a locais onde ocorre o enterro de carcaças sem tratamento prévio (Kim & Kim, 2012).

Clostridium perfringens

O gênero *Clostridium* engloba algumas espécies sanitariamente importantes, como o *C. Tetani*, *Botulinum* e o *Perfringens*, todas com capacidade de formação de esporos, geralmente difundidas no meio ambiente e encontradas no solo e nos sedimentos, bem como nas fezes (Wiegel; Tanner; Rainey *et al.*, 2006). O *Clostridium* (*C.*) *perfringens* é classificado em cinco tipos toxigênicos (A-E). Alguns isolados de *C. perfringens* produzem uma enterotoxina (CPE) que é responsável pelos sintomas clínicos desenvolvidos em casos de toxinfecção alimentar, enterite necrosante e gangrena gasosa. O *Clostridium* sp. foi relatado como um dos grupos de microrganismos mais abundantes nos processos de decomposição (Kim *et al.*, 2017), sendo a população predominante no final da decomposição de carcaças enterradas sem tratamento prévio. Por outro lado, em amostras de esterco bovino e cama de aviário sem tratamento, o *C. perfringens* não foi detectado.

A adubação anual com esterco suíno, em área que estava há três anos sem a utilização deste substrato, resultou na detecção de $0,40 \log^{10}$ e $43 \log^{10}$ UFC de *C. perfringes* no primeiro e segundo ano de monitoramento, respectivamente. Não houve detecção da bactéria em amostras de água de bebida dos animais coletadas nas proximidades, não sendo evidenciada a transferência da bactéria via solo para a água (Samarajeewa *et al.*, 2012).

Mycobacterium

O gênero *Mycobacterium* compreende atualmente mais de 150 espécies, sendo que as zoonóticas se constituem em sérias ameaças à saúde e à economia em várias regiões do globo. O gênero é dividido em quatro grandes grupos, conforme a epidemiologia, habilidade de crescimento *in vitro* e associação com a doença. São eles: Complexo *Mycobacterium tuberculosis* (MCTb), micobactérias não-tuberculosas (MNT), *Mycobacterium leprae* e *Mycobacterium ulcerans* (Forbes *et al.*, 2018).

Entre as micobactérias presentes no grupo MNT, o Complexo *Mycobacterium avium* (MAC) abrange espécies consideradas patógenos oportunistas e é composto por quatro subespécies: *Mycobacterium avium avium* (MAA), *Mycobacterium avium silvaticum* (MAS), *Mycobacterium avium hominissuis* (MAH) e *Mycobacterium avium paratuberculosis* (MAP) (Moravkova *et al.*, 2008; Rindi; Garzelli, 2014).

O MAH é a subespécie na linfadenite granulomatosa mais relatada em suínos, com raros casos sendo atribuídos ao MCTb. Em estudo realizado no Brasil, a partir de 399 amostras de linfadenite granulomatosa colhidas no abate em oito estados, a taxa de isolamento de *Mycobacterium* foi 32,8% (128/399). Do total de amostras positivadas, 76,56% foram de MAH, 1,56% de *M. bovis* e 21,87% de *Mycobacterium* spp. não pertencendo às espécies investigadas (Mori, 2019).

O *M. tuberculosis* é menos patogênico e autolimitante para o bovino. Por outro lado, o *Mycobacterium bovis* é um patógeno zoonótico que causa tuberculose em bovinos, uma doença essencialmente respiratória de transmissão aerógena. O patógeno também é excretado nas secreções nasal, vaginal, leite, fezes, urina e sêmen. A ingestão

de leite contaminado é considerada a principal via de transmissão para animais jovens e para o homem. Falhas de biossegurança, como o uso de subprodutos da produção leiteira contaminados para alimentação de suínos, são meios importantes de transmissão interespecie.

O *Mycobacterium* sp. pode sobreviver no solo por anos (Eslami et al., 2018) e o ambiente contaminado é uma fonte de infecção importante para animais susceptíveis (Bauman et al, 2017). Se presente no dejetos aplicado às gramíneas forrageiras, o patógeno pode resistir às condições de ensilagem, tornando a silagem uma rota potencial de infecção (Cook et al., 2013). Salgado et al. (2013) demonstraram a probabilidade de contaminação da água com MAP quando presente em biofertilizantes de pastagens, particularmente durante as estações chuvosas.

Cryptosporidium parvum

Os parasitas são importantes patógenos de origem alimentar, possuem ciclos de vida complexos, rotas de transmissão variadas e períodos prolongados entre a infecção e os sintomas. Portanto, suas rotas de transmissão e fontes de infecção são frequentemente difíceis de avaliar (European Food Safety Authority, 2018). O *Cryptosporidium* (*C*) *parvum* é um protozoário coccídeo, sem organelas de locomoção, causador da criptosporidíase, zoonose causadora de diarreias e gastroenterites em humanos (Kinyua te al., 2016). Um dos seus principais modos de transmissão é a água de bebida e uso doméstico contaminada. O *C. parvum* é responsável por 23,7% de todos os surtos de doenças transmitidas pela água anualmente no mundo, especialmente os que acometem jovens, idosos e indivíduos imunocomprometidos (Dufour et al., 2012).

Mesmo de ocorrência rara, pode estar presente em criações de suínos. Mais comumente encontra-se em dejetos de bovinos. O transporte de oocistos para as águas superficiais pode ocorrer por deposição de esterco diretamente na água ou por lavagem no escoamento superficial. Já para águas subterrâneas é menos direto e requer que os oocistos se movam através do solo e rochas para alcançar o lençol freático (Boyer et al., 2009). O *C. parvum* foi encontrado em quase 14% de amostras coletadas de dejetos suínos sem tratamento e em 5% de

dejetos que passaram por armazenamento em lagoas (Hutchison *et al.*, 2004). Os oocistos na superfície do solo estão sujeitos à dessecação, calor e luz ultravioleta, que mostraram reduzir a infectividade do oocisto (Li *et al.*, 2005).

O ideal é que não ocorra a fixação do oocisto no solo. A adesão de oocistos à fibra alimentar ou ao dejetos antes da aplicação previne a sua fixação às partículas do solo. A alta concentração microbiana do dejetos também compete por esses sítios de fixação. No caso do esterco bovino, esta fixação é facilitada pela presença de muco, que pode servir para “ligar” os oocistos às partículas do solo (Kuczynska; Shelton; Pachepsky *et al.*, 2005).

Tratamento

Pré-tratamentos

O pré-tratamento de carcaças e de dejetos pode ser utilizado como prática de controle ambiental, diminuindo o volume e melhorando a qualidade sanitária deste material pela redução da concentração de patógenos ou mesmo pela destruição dos mesmos (Tápparo *et al.*, 2020). Exemplos desses pré-tratamentos são o uso de moagem e peneiramento para reduzir o tamanho das partículas (He *et al.*, 2020) e a higienização por 60 min a 70 °C e/ou esterilização por 20 min a 133 °C 3 bar (Wu J. *et al.*, 2017) para melhoria da qualidade sanitária. Entre tecnologias mais avançadas, a eletrólise reduz significativamente a carga orgânica por meio da troca de elétrons e gera produtos de interesse biotecnológico, como o biohidrogênio e o biogás (Wagner *et al.*, 2009). A aplicação de compostos químicos, como ácidos, bases e oxidantes, a exemplo da aplicação de amônia em carcaças e dejetos suínos, é uma opção de pré-tratamento (Gupta; Lee, 2010). Outra tecnologia é o uso de enzimas, porém sem eficácia na inativação de patógenos (Xu *et al.*, 2018). Da perspectiva sanitária, um pré-tratamento para ser considerado efetivo deve reduzir 99,9% (3 log) dos patógenos bacterianos, utilizando salmonela como indicador (Kunz *et al.*, 2021).

Processos aeróbios

Diversas alternativas estão disponíveis para o tratamento de dejetos e carcaças oriundas do processo de produção animal, incluindo tratamento físico-químico, processos anaeróbios (nitrificação/desnitrificação), compostagem e digestão anaeróbia (Loyon, 2017).

O processo de digestão aeróbia, como a compostagem, é muito empregado, pois é um método sustentável para o manejo de carcaças e dejetos suínos em granjas, convertendo-os em biogás e fertilizantes orgânicos. Também reduz as cargas patogênicas oriundas da produção animal (Kunz; Miele; Steinmetz (2009); Hidalgo; Martín-Marroquín; Corona (2018), a exemplo da *E. coli* O157: H7, que não foi detectada após 72 h de compostagem a 45 °C. Um processo de compostagem bem conduzido a uma temperatura mínima de 50 °C, com duração de mais de uma semana, é capaz de inativar com sucesso a maioria dos patógenos (Lung *et al.*, 2001).

Quando a carcaça do animal é decomposta sem tratamento prévio, microrganismos patogênicos podem permanecer disponíveis no solo e contaminá-lo por longos períodos (Chowdhury *et al.*, 2019). As carcaças enterradas se decompõem naturalmente, o que leva a mudanças rápidas nas condições ambientais circundantes, liberando altas concentrações de oxigênio, nitrogênio amoniacal, fósforo e cloreto. É provável que esses constituintes químicos forneçam substratos para o crescimento bacteriano e afetem a dinâmica da comunidade microbiana e características bioquímicas do solo, impactando nos lençóis de águas subterrâneas (Kim *et al.*, 2017).

Processos anaeróbios

O tratamento adequado do dejetos e carcaça depende do patógeno que se deseja eliminar. Dentre as rotas tecnológicas para tratamento dos dejetos de suínos e carcaças, aquela com melhor resultado para inativação de salmonela é a digestão anaeróbia (Fongaro *et al.*, 2014). Quando se fala em *Cryptosporidium parvum*, a alternativa mais recomendada segue sendo a digestão anaeróbia de amônia livre (Kinyua *et al.*, 2016). À medida que a temperatura aumenta, as paredes do oocisto

umentam em permeabilidade, permitindo que a amônia livre penetre mais facilmente. Uma vez dentro dos oocistos, a amônia livre interrompe a química e a estrutura celular por meio da desnaturação de proteínas, tornando as células vulneráveis à inativação.

A digestão anaeróbica, seja ela mesofílica (37 °C) ou termofílica (55 °C), em geral reduz a carga patogênica em comparação com substratos não tratados, com exceção de príons e bactérias formadoras de esporos (Franke-Whittle *et al.*, 2013). Os esporos de *Clostridium perfringens* não foram inativados em digestão anaeróbia, tanto mesofílica quanto termofílica, sendo que o maior número de UFC foi detectado após 15 dias de incubação e o menor após 60 dias (Gómez-Bradón *et al.*, 2016).

O uso de 3% de CaO- Óxido de Cálcio – Cal como controle do *Mycobacterium avium* obteve um resultado positivo, reduzindo estatisticamente a carga de células viáveis desta bactéria no dejetos animal (Avilez *et al.*, 2019). A eficiência da cal na redução dos contaminantes se deve ao aumento no pH do dejetos, que passa de 6,9 para 12,6 após o tratamento (De Benedictis *et al.*, 2007). A hidratação do CaO também é uma reação exotérmica, aumentando a temperatura do composto, o que reduz a viabilidade do patógeno (Heinonen-Tanski *et al.*, 2006). Tratamento de amostras fecais com ácido em solução de Anfotericina B também se mostrou eficiente para destruição do *Mycobacterium avium* (Oliveira *et al.*, 2007). O *Mycobacterium avium* a 71,8 °C por 11,7 s é destruído (Sung; Collins, 2000), ou seja, tempos de decimação são dependentes de diferentes temperaturas, de modo que em temperaturas mais altas os valores de log de tempos de decimação são mais curtos do que em temperaturas mais baixas (Heinonen-Tanski *et al.*, 2006).

Dispersão da resistência antimicrobiana em áreas adubadas com dejetos de suínos

De acordo com as estimativas de Van Boeckel *et al.* (2015), o Brasil é um dos cinco maiores consumidores de antimicrobianos no mundo e continuará nessa posição até 2030. O consumo médio de antimicrobianos em 2019, estimado pela Organização Mundial de Saúde Animal, a partir das informações reportadas por 109 países de 108,49 mg por kg

de biomassa animal (WOAH, 2022). Ainda não disponibilidade de dados que revelam a quantidade de antimicrobianos utilizada na suinocultura brasileira. Para o sistema de produção independente, aqueles que operam sem contrato de integração com agroindústrias, Dutra (2017) estimou uma ingestão de 358 mg de antimicrobianos por kg de suíno produzido. Embora a maioria da produção seja executada nos sistemas integrados de produção, esse dado comparado à média global de 172 mg por kg (Van Boeckel *et al.*, 2015) é evidentemente excessiva.

Os antimicrobianos são utilizados com basicamente quatro finalidades, que são uso terapêutico para o tratamento de animais doentes, uso profilático em todo o lote para prevenção da ocorrência de doenças, uso metafilático (que trata todo o lote após alguns animais apresentarem sinais clínicos) e o uso como melhorador de desempenho (promotor de crescimento). A forma de administração pode ser injetável e/ou oral. A forma injetável, sendo de administração interna e metabolização no organismo, resulta numa menor eliminação da molécula nas fezes e menor impacto na seleção de bactérias resistentes (Checkley *et al.*, 2010; Zhang *et al.*, 2013). Na administração de antimicrobianos via oral, alguns aspectos relevantes são:

- O desperdício, que sempre ocorre em maior ou menor quantidade de ração ou água tratada, levando assim as moléculas intactas aos dejetos.
- A ração medicada produzida por grandes fábricas que atendem muitas granjas, inevitavelmente permitindo que lotes de suínos saudáveis recebam ração medicada.
- A exposição contínua da microbiota intestinal aos antimicrobianos, que resulta na seleção de populações bacterianas resistentes que irão compor a massa biológica dos dejetos.

Resistência antimicrobiana (RAM)

Os antimicrobianos possuem como estratégia atacar cinco alvos do metabolismo bacteriano, que são a síntese da parede celular, síntese proteica, síntese do RNA, síntese do DNA e metabolismo intermediário. A RAM, por sua vez, é produzida por três mecanismos:

- **Resistência intrínseca:** devido à estrutura normal da bactéria, a exemplo da parede celular das Gram negativas que confere resistência inerente às penicilinas.
- **Resistência circunstancial:** quando o antimicrobiano não consegue atingir o alvo *in vivo*.
- **Resistência adquirida:** que é o mecanismo majoritário e consiste num processo de evolução contra a ação dos antimicrobianos.

Este tipo de resistência resulta da mutação que ocorre naturalmente nas bactérias, alterando sua estrutura e lhe conferindo a característica de resistir à ação antimicrobiana de uma molécula ou classe ao qual era anteriormente sensível (Holmes *et al.*, 2016). A administração dos antimicrobianos seleciona os organismos resistentes. Além da mutação de genes do genoma microbiano, elementos genéticos móveis, como plasmídeos e transposons, albergam genes de resistência que podem ser transmitidos horizontalmente entre as bactérias (Holmes *et al.*, 2016). Bactérias resistentes a mais de três classes de antimicrobianos são classificadas como multirresistentes (Schwarz *et al.*, 2010).

A emergência e a persistência de bactérias resistentes e multirresistentes na cadeia de produção de carne possui um papel epidemiológico na transmissão para o homem, via alimentos e ou contaminação ambiental. A revisão de Lekagul, Tangcharoensathien e Yeung (2019) indica que as moléculas consideradas “criticamente importantes para humanos” pela OMS são comumente utilizadas na suinocultura mundial.

Dispersão de bactérias resistentes e determinantes de resistência nos dejetos suínos

Os animais de produção, especialmente criados de forma intensiva, excretam de forma persistente bactérias resistentes a diferentes antimicrobianos nas fezes. Este fato é amplamente relatado na literatura, a qual indica a *Escherichia coli* e *Enterococcus* (European Food Safety Authority, 2019), representando respectivamente o grupo de bactérias Gram negativas e positivas, como modelos para estudos de RAM. As fezes ricamente colonizadas por bactérias resistentes representam uma por-

ção importante das dejeções da granja. A depender do tratamento que o dejetos recebe, tanto as moléculas de antimicrobianos como bactérias resistentes podem persistir e atingir o solo onde esta massa biológica é disposta como fertilizante.

Rasschaert *et al.* (2020) investigaram a presença de resíduos antimicrobianos e de bactérias resistentes em amostras de dejetos suíno. Em apenas 4 das 89 amostras estudadas não foi detectado resíduo de antimicrobianos. Também foi demonstrado a presença de *Salmonella* multiresistente e *Escherichia coli* resistente a quinolona e cefalosporina, que são classes de antimicrobianos de alta criticidade para a saúde humana (WHO, 2019).

Além das bactérias, estão presentes nas fezes “determinantes de resistência” que, conforme o glossário do CDC (2019), inclui genes de resistência e mutações de resistência que dão a uma bactéria a capacidade de resistir aos efeitos de um ou mais antimicrobianos. Os determinantes de resistência (genes e plasmídeos) podem estar dentro da célula bacteriana e também soltos na matéria orgânica devido à morte celular ou à transferência para o meio extracelular (Dong *et al.*, 2019). Estes determinantes também persistem nos dejetos que alcançam o solo (Barrios *et al.*, 2020).

A disseminação das moléculas de antimicrobianos é influenciada pela forma de distribuição do dejetos, bem como do regime de chuvas, embora o comportamento varie também de acordo com as características do antimicrobiano. Quando o dejetos é distribuído na superfície do solo, a concentração dos antimicrobianos na água de escoamento é maior do que no solo, ou seja, a injeção do dejetos no solo previne o escoamento superficial dos antimicrobianos (Barrios *et al.*, 2020). Quanto mais cedo chover após a distribuição dos dejetos, maior será a concentração das moléculas na água de escoamento superficial.

No caso dos genes de resistência aos antimicrobianos, estas relações não são tão evidentes. Observam-se diferenças entre genes, embora a aplicação superficial resulte numa abundância maior destes genes na água de escoamento. No estudo de Barrios *et al.* (2020), genericamente o regime de chuvas não influenciou a abundância de genes de resistên-

cia no solo. Especificamente, para um gene estudado, a concentração no solo aumentou após uma semana de aplicação do dejetos, tanto no solo como na água de escoamento superficial, o que indica efeito da administração do dejetos.

Adubação de pastagens com dejetos de suínos e o risco de contaminação priônica no Brasil

A aplicação de dejetos de suínos como fonte de nutrientes para plantas forrageiras tipo pastagens apresenta bons resultados. Esta prática vem ao encontro da atual necessidade de sustentabilidade ambiental e conservação dos recursos naturais. Além disto, dá um destino correto aos resíduos e aumenta a produtividade das culturas, reduzindo também os gastos com fertilizantes (Medeiros *et al.*, 2007; Giacomini; Aita, 2008; Figueiredo; Tanamati, 2010).

No Brasil, existem cerca de 100 milhões de hectares de pastagens que necessitam de recuperação (Serafim, 2010). Este fato, aliado à crescente necessidade de maior produção de áreas de pastagem e da utilização dos dejetos suínos, ilustra uma alternativa capaz de promover o aumento na produção de alimentos para bovinos, que depois será convertido em proteína animal e utilizado na alimentação humana (Konzen, 2003; Serafim, 2010).

O efeito direto da utilização dos dejetos suínos tratados depende da quantidade de nutrientes contidos no mesmo e da quantidade de fertilizantes minerais que podem ser substituídos por este. O efeito indireto do dejetos é sua ação benéfica nas propriedades físicas e químicas do solo e melhoria da atividade microbiana e enzimática (Scherer; Aita; Baldissera *et al.*, 1996). Esta adubação aumenta os teores de matéria orgânica e contribui na estrutura do solo, incrementando a capacidade de retenção de umidade, infiltração da água da chuva, atividade microbiana e capacidade de troca de cátions (Scheffer-Basso *et al.*, 2008).

Entretanto, alguns riscos biológicos da utilização dos dejetos devem ser considerados. As doenças provocadas por príons ocorrem em várias espécies animais, incluindo o homem. São consideradas doenças neurodegenerativas, sendo as principais já descritas: doença Creutzfeldt-Jakob (CJD) em humanos, *scrapie* em ovelhas e cabras e a encefalopatia espongiforme bovina (EEB). Essas enfermidades são transmitidas de uma espécie para outra, principalmente quando ocorre a ingestão de farinha de carne e de ossos do animal infectado, além dos fluidos corporais, dejetos e solo contaminado.

Portanto, existem algumas restrições quanto ao uso dos dejetos suínos em pastagens. Cita-se aqui a Instrução Normativa n° 8 (IN 8/2004), de 25 de março de 2004, e a Instrução Normativa do Mapa n° 61 (IN 61/2020), de 20 de fevereiro de 2020. A primeira proíbe em todo território nacional a produção, comercialização e utilização de produtos destinados à alimentação de ruminantes que contenham na sua composição proteína ou gordura de origem animal, o que inclui o esterco suíno. Um dos motivos para a proibição é o risco que o uso traz para a sanidade do rebanho nacional e para a saúde humana. Dentre as enfermidades que podem ser veiculadas pelo esterco suíno estão o botulismo e a EEB, conhecida popularmente como “a doença da vaca louca”, causada por um príon (proteína alterada) (Brasil, 2004). Já a segunda (IN 61/2020) define que fertilizantes que contenham como matéria-prima qualquer quantidade de resíduos de origem animal, como camas e estercos de aves ou de suínos que têm uso proibido na alimentação de ruminantes, sendo permitido o uso em pastagens e capineiras somente quando os resíduos forem incorporados ao solo. No caso de pastagens, o pastejo somente é permitido após 40 dias da incorporação do fertilizante no solo. Estas informações devem constar na rotulagem dos fertilizantes. O objetivo desta restrição é reduzir o risco de contaminação dos bovinos em pastejo com o príon causador da EEB (Brasil, 2020).

No Brasil, a EEB foi relatada em 2019, no estado do Mato Grosso, na sua forma atípica, forma espontânea e esporádica em todas as populações de bovinos do mundo, não estando relacionada à ingestão de alimentos contaminados. Esta detecção é resultado do ativo moni-

toramento no âmbito do Programa Nacional de Prevenção e Vigilância da EEB (PNEEB). Desde 2015, a OIE deixou de considerar esse tipo de ocorrência na avaliação do *status* sanitário dos países. O Brasil continua a ser considerado, pela OIE, país de risco insignificante para a doença, o melhor grau atribuído pela organização (BRASIL, 2020).

Encefalopatias espongiformes transmissíveis (EETs)

As EETs são doenças priônicas, que provocam alterações espongiiformes encontradas em cortes histopatológicos do encéfalo, tanto nos homens quanto nos animais, provocando desordens neurodegenerativas progressivas e fatais (Willesmith, 1998; Kimberlin, 1993). As principais EETs que podem acometer os animais de produção são a encefalopatia EEB, a “doença da vaca louca” e a paraplexia enzoótica dos ovinos, também conhecida como *scrapie*.

A EEB é um distúrbio neurológico que acomete bovinos adultos, sendo uma doença transmissível subaguda de extrema importância econômica mundial, endêmica na Inglaterra e descrita pela primeira vez na Grã-Bretanha em novembro de 1986 (Willesmith, 1998; Costa; Borges, 2000; Radostits *et al.*, 2000).

Os animais afetados com EEB demonstram a sintomatologia clínica de sinais nervosos, que são desordens comportamentais causadas por alterações do estado mental, como apreensão, hipersensibilidade, agressividade, falta de coordenação dos membros posteriores durante a marcha, quedas e incapacidade de se levantar (Ortolani, 1999). O prurido, sinal clínico comum presente no *scrapie* de ovinos, não acontece na EEB (Radostits *et al.*, 2000; Stokka; Boeing, 2000). O decúbito prolongado precede a morte. Com o quadro clínico já instalado, deve-se procurar manter os animais em ambiente em que lhes seja familiar e silencioso, a fim de reduzir a severidade dos sinais, em especial a hiperestesia. Os sinais persistem de semanas até meses, com a debilidade do animal se prolongando de dois a seis meses e, no máximo, atingindo estado terminal em três meses (Ortolani, 1999). É necessário que os animais sejam sacrificados pelo fato da doença não possuir tratamento clínico (Stokka; Boeing, 2000).

O *scrapie* é uma doença de baixa prevalência no Brasil. O foco mais recente ocorreu em 2017, no estado de Santa Catarina (Brasil, 2018). Os sintomas aparecem normalmente entre os 2 e 5 anos de idade. Os ovinos podem viver de 1 a 6 meses desde o aparecimento dos sinais clínicos até a morte do animal, que será inevitável (Riet-Correa; Riet-Correa; Schild *et al.*, 2002). Os sinais clínicos mais notáveis incluem mudanças no comportamento e no temperamento dos animais afetados. Estas mudanças são procedidas pela tendência do animal a se esfregar contra objetos rígidos, aparentemente com o objetivo de aliviar o prurido (Brun; Castilla; Torres *et al.*, 2004).

Em junho de 1988, o governo britânico tornou a EEB uma doença de notificação obrigatória e proibiu o uso de proteína originada de tecidos de origem animal na alimentação de ruminantes. A utilização de cérebro, medula espinhal, intestinos, baço, gânglios linfáticos e globos oculares foram proibidos na produção de embutidos e produtos para a alimentação humana, ou como insumos na fabricação de medicamentos (como hormônios) (Nitrini, 2001). A enfermidade pode ser transmissível ao homem, causando uma doença semelhante, chamada de a nova variante da Doença de Creutzfeldt – Jakob (nvDCJ). Uma característica marcante da nvDCJ é o início de manifestações psiquiátricas em que predominaram depressão, ansiedade e isolamento. O tempo de sobrevivência é somente de cinco meses, e 80% dos pacientes com nvDCJ morrem em um ano (Nitrini, 2001; Dall’Alba *et al.*, 2004; Ritchie; Barria, 2021).

Abrial *et al.* (2005) estimaram que áreas com alta densidade de suínos estavam associadas a um risco 2,4% maior a ocorrência de EEB em bovinos. Essa conclusão sugere que farinhas de carne e ossos produzidas a partir de matéria-prima subproduto de ruminantes e destinada à alimentação de suínos teriam sido usadas, erroneamente, na alimentação de bovinos. Heres, Elbers, e Van Zijderveld *et al.* (2007) demonstraram que bovinos afetados poderiam ter sido expostos à farinha de carne e ossos oriundos de alimentações de suínos e aves através da contaminação cruzada, corroborando as informações obtidas por Abrial *et al.* (2005).

A estabilidade de príons da EEB frente à microbiota do trato digestórios de camundongos, hamsters e bovinos foi demonstrada, sendo a excreta potencial contaminante para o ambiente (Maluquer *et al.*, 2008, Böhnlein *et al.*, 2012). Além disso, também foi observado que as fezes de ovinos e cervídeos infectados são fontes potenciais de contaminação do ambiente (Tamguney *et al.*, 2009).

Segundo o relato de Xu *et al.* (2013) e Booth, Johnson e Pedersen (2013), a compostagem de materiais de risco específico (*specific risk material* – SRM) em mistura com dejetos de animais pode ser um processo efetivo para a biodegradação do príon. Segundo os autores, a elevada temperatura (>500C) durante o processo de compostagem promove o relaxamento da molécula, o que permitiria a ação de proteases extracelulares na biodegradação efetiva do príon, fato esse que não se verifica em temperatura ambiente. Booth, Johnson e Pedersen (2013), entretanto, levantam a hipótese de que a não detecção do príon após o processo de compostagem pode ser devido à recuperação incompleta da proteína (príon) após esse processo, que poderia estar aderida às partículas do composto. Estes autores também relatam que a biodigestão anaeróbica e a flora ruminal de bovinos não é capaz de degradar o príon.

Johnson *et al.* (2006), Seidel *et al.* (2007) e Leita *et al.* (2006) relatam que o príon pode se acumular e permanecer estável aderido às partículas minerais do solo, mantendo a sua infectividade durante anos (>29 meses). No entanto, outro trabalho citado na revisão elaborada por Booth, Johnson e Pedersen (2013) indicam que a bioestimulação da atividade microbiana do solo, através do enterro de carcaças de ovelhas, pode aumentar o número de diversidade de proteases produzidas pelos microrganismos do solo, o que levaria ao decréscimo de 50% na imunorreatividade do príon.

No Brasil, no processo de fabricação de farinhas de carne e ossos, os tecidos onde a concentração de glicoproteína príon do hospedeiro (PrP^c) em sua forma patogênica (PrP^{Sc}) é mais elevada, como encéfalo, a medula e o íleo de ruminantes, são previamente retirados e incinera-

dos, de acordo com a Instrução Normativa nº 34, de 28 de maio de 2008 do Mapa (Brasil, 2008). A normativa estabelece que o tratamento de farinhas deve aplicar uma temperatura mínima de 133 °C por 20 minutos, sob uma pressão de vapor de no mínimo 3 bars. De acordo com Giles *et al.* (2008), o tratamento a uma temperatura de 134 °C por 15 minutos eliminou 82% da capacidade do PrP^{Sc} da EEB e por 30 minutos a 134 °C eliminou 90% de sua capacidade infectante para a inoculação em camundongos, sendo duas horas na mesma temperatura a pressão foi suficiente para eliminar 100% de sua infectividade.

O diagnóstico da EEB constitui-se de um desafio, pois várias doenças neurológicas compartilham da sintomatologia apresentada, sendo facilitado nos casos de surtos da doença com óbito de animais e posterior diagnóstico, quando são coletadas amostras do sistema nervoso central e realizado o exame histológico seguido da técnica de imuno-histoquímica.

Por ser uma doença de importância econômica, de alta contaminação e por apresentar diagnóstico definitivo *post mortem*, é importante que em qualquer manifestação clínica nervosa, similar à da EEB, em qualquer animal do rebanho, seja feita uma notificação obrigatória e suas ocorrências ou suspeitas devem ser imediatamente informadas à autoridade de defesa sanitária animal local, para que sejam realizados os exames confirmatórios, feitos somente por médicos veterinários autorizados (Ortolani, 1999).

Considerações finais

A regulamentação atual previne o risco microbiológico para contaminação de ruminantes com base no tratamento dos dejetos e condições de uso como fertilizante de pastagens. Contudo, o tratamento da totalidade dos dejetos de suínos anterior a sua aplicação no solo é uma vulnerabilidade do sistema atual de produção. A fertilização de pastagens com dejetos de suínos alimentados com ingredientes a partir de resíduos animais que passam por esterilização para eliminação de riscos microbiológicos, inclusive de príons, como previsto na IN 34, de

2008, torna o risco de contaminação dos ruminantes por esta via potencialmente negligenciável. Para aqueles sistemas de produção que não atendem a normativa relacionada ao tratamento de ingredientes proteicos na alimentação, o risco deve ser mitigado pelo cumprimento da IN 61, de 2020.

Estas categorias de risco poderiam ser criadas para uma gestão mais assertiva do uso dos dejetos de suínos nas pastagens, dando destino seguro dos mesmos e recuperando áreas de pastagens para uso na produção de ruminantes.

Referências

- ABRIAL, D. *et al.* Poultry, pig and the risk of BSE following the feed ban in France: a spatial analysis. **Veterinary Research**, v. 36, p. 615-28, 2005.
- ARGUELLO, H. *et al.* Evaluation of protection conferred by a *Salmonella typhimurium* inactivated vaccine in *Salmonella* – infected finishing farm. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, v. 36, p. 489-498, 2013.
- ASSMANN, T. S. *et al.* Desempenho da mistura forrageira de aveia-preta mais azevém e atributos químicos do solo em função da aplicação de esterco líquido de suínos. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 31, p. 1515-1523, 2007.
- AVILEZ, C. *et al.* Fate of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* and changes in bacterial diversity populations in dairy slurry after chemical treatments. **Journal Applied Microbiology**, v. 127, p. 370-378, 2019.
- BARNABÉ, M. C. *et al.* Produção e composição químico-bromatológica da *Brachiaria brizantha* cv. *marandu* adubada com dejetos líquidos de suínos. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 8, n. 3, p. 435-446, 2007.
- BARRIOS, R. E. *et al.* Fate and transport of antibiotics and antibiotic resistance genes in runoff and soil as affected by the timing of swine manure slurry application. **Science of The Total Environment**, v. 712, article number 136505, 10 Apr. 2020.
- BAUMAN, C. A. *et al.* Identification of *Mycobacterium avium* subspecies *Paratuberculosis* strains isolated from dairy goats and dairy sheep in Ontario, Canada. **The Canadian Journal of Veterinary Research**, v. 81, p. 304-307, 2017.

BECH, T. B. *et al.* Transport and distribution of *Salmonella enterica* serovar *typhimurium* in loamy and sandy soil monoliths with applied liquid manure.

Applied and Environmental Microbiology, v. 76, n. 3, p. 710-714, 2010. DOI: 10.1128/AEM.00615-09

BERENDS, B. R. *et al.* Identification and quantification of risk factors animal management and transport regarding in *Salmonella* spp. in pigs. **International Journal of Food Microbiology**, v. 30, p. 37-53, 1996.

BERRY, E. D. *et al.* Effect of proximity to a cattle feedlot on *Escherichia coli* O157:H7 contamination of leafy greens and evaluation of the potential for airborne transmission. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 81, p. 1101-1110, 2015.

BÖHNLEIN, C. *et al.* Stability of bovine spongiform encephalopathy prions: absence of prion protein degradation by bovine gut microbiota. **Zoonoses and Public Health**, v. 59, n. 4, p. 251-255, 2012.

BOOTH, C.; JOHNSON, C. J.; PEDERSEN, J. A. Microbiotal and enzymatic inactivation of prions in soil environments. **Soil biology and biochemistry**, v. 59, p. 1-15, 2013.

BOYER, D. G.; KUCZYNSKA, E. Transport, fate, and infectivity of *Cryptosporidium parvum* oocysts released from manure and leached through macroporous soil. **Environmental Geology**, v. 58, p. 1011-1019, 2009.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 8, de 25 de março de 2004. Proíbe em todo o território nacional a produção, a comercialização e a utilização de produtos destinados à alimentação de ruminantes que contenham em sua composição proteínas e gorduras de origem animal. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, p. 5, 26 de mar. 2004. Disponível em: <http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=visualizarAtoPortalMapa&chave=178957228>. Acesso em 22 fev. 2024.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 79, de 14 de dezembro de 2018. Ficam aprovados os procedimentos de inspeção ante e post mortem de suínos com base em risco na forma desta Instrução Normativa. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, ed. 241, p. 4-7, 15 jul. 2020. Disponível em: http://www.in.gov.br/web/guest/materia/-/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/55444279/do1-2018-12-17-instrucao-normativa-n-79-de-14-d%E2%80%A6%203. Acesso em: 22 fev. 2024.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 34, de 28 de maio de 2008. Aprovar o regulamento técnico da inspeção higiênico sanitário e tecnológica do processamento de resíduos de animais de o modelo de documento de transporte de resíduos animais.

Diário Oficial da União: seção 1, Brasília, DF, n. 101, p. 13-16, 29 maio 2008. Disponível em: <http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=visualizarAtoPortalMapa&chave=284275208>. Acesso em: 22 fev. 2024.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 25, de 23 de julho de 2009. Aprovar as normas sobre as especificações a as garantias, as tolerâncias, o registro, a embalagem e a rotulagem dos fertilizantes orgânicos simples, mistos, compostos, organominerais e biofertilizantes destinados à agricultura. **Diário Oficial da União:** seção 1, Brasília, DF, n. 142, p. 20-24, 28 jul. 2009. Disponível em: <https://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=recuperarTextoAtoTematicaPortal&codigoTematica=1229186>. Acesso em: 27 fev. 2024.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 61, de 8 de julho de 2020. Estabelece as regras sobre definições, garantias, tolerâncias, registro, embalagem, e rotulagem dos fertilizantes orgânicos e dos biofertilizantes destinados à agricultura. **Diário Oficial da União:** seção 1, Brasília, DF, ed. 134, p. 5, 15 jul. 2020. Disponível em: <https://www.in.gov.br/web/dou/-/instrucao-normativa-n-61-de-8-de-julho-de-2020-266802148>. Acesso em: 10 jan. 2024.

BRUN, A.; CASTILLA, J.; TORRES, J. M. Encefalopatías espongiiformes transmisibles en animales. **Revista Brasileira de Neurologia**, v. 31, p. 1033-1039, 2000. Disponível em: <http://svneurologia.org/congreso/priones-2.html>. Acesso em: 23 abr. 2021.

CABRAL, J. R. *et al.* Impacto da água residuária de suinocultura no solo e na produção de capim-elefante. **Revista Brasileira Engenharia Agrícola Ambiental**, v. 15, n. 8, p. 823–831, 2011.

CARDOSO, M. O que representam os suínos na transmissão de zoonoses para humanos? **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 1, p. 81-89, 2009.

CHECKLEY, S. L. *et al.* Associations between antimicrobial use and the prevalence of antimicrobial resistance in fecal *Escherichia coli* from feedlot cattle in western Canada. **Canadian Veterinary Journal**, v. 51, p. 853-861, 2010.

CHOWDHURY, S. *et al.* A critical review on risk evaluation and hazardous management in carcass burial. **Process Safety and Environmental Protection**, v. 123, p. 272-288, 2019.

COOK, K. L. *et al.* Sensitivity of *Mycobacterium avium subsp paratuberculosis*, *Escherichia coli* and *Salmonella enterica serotype Typhimurium* to low pH, high organic acids and ensiling. **Journal of Applied Microbiology**, v. 115, p. 334-345, 2013.

COSTA, L. M. C.; BORGES, J. R. J. Encefalopatia espongiforme bovina (“Doença da Vaca Louca”), **Revista CFMV**, Brasília, n. 21, p. 8-15, 2000.

DALL’ALBA, C. *et al.* Relato de caso Creutzfeldt-Jakob: primeiro relato de caso no Rio Grande do Sul, **Revista da AMRIGS**, Porto Alegre, v. 48, ano 2, n. 73, p. 99-102, 2004.

DE BENEDICTIS, P.; BEATO, M. S.; CAPUA, I. Inactivation of avian influenza viruses by chemical agents. **Zoonoses Public Health**, v. 54, n. 2, p. 51-68, 2007.

DONG, P. *et al.* Assessment of extracellular antibiotic resistance genes (eARGs) in typical environmental samples and the transforming ability of eARG. **Environment International**, v. 125, p. 90-96, p. 2019.

DUFOUR, A. *et al.* **Animal waste, water quality and human health**. Londres: IWA Publishing, 2012. 476 p.

ELVING, J. *et al.* Thermal treatment for pathogen inactivation as a risk mitigation strategy for safe recycling of organic waste in agriculture. **Journal of Environmental Science and Health**, v. 49, p. 679-689, 2014.

EMPRESA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA E DE EXTENSÃO RURAL DO ESTADO DE SANTA CATARINA. Centro Integrado de Informações de Recursos Ambientais – CIRAM. **Inventário das terras da sub-bacia hidrográfica do rio Coruja/Bonito**. Florianópolis: EPAGRI/CIRAM, 2000. 112 p.

ESLAMI, M. *et al.* *Mycobacterium avium paratuberculosis* and *Mycobacterium avium* complex and related subspecies as causative agents of zoonotic and occupational diseases. **Journal of Cellular Physiology**, v. 234, n. 8, p. 12415-12421, 2019.

EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY. Public health risks associated with food-borne parasites. **EFSA Journal**, v. 16, 2018. Doi: 10.2903/j.efsa.2018.5495.

EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY. Technical specifications on harmonised monitoring of antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from food-producing animals and food. **EFSA Journal**, v. 17, n. 6, 2019. Doi: 10.2903/j.efsa.2019.5709

FARZAN, A. *et al.* Occurrence of *Salmonella*, *Campylobacter*, *Yersinia enterocolitica*, *Escherichia coli* O157 and *Listeria monocytogenes* in Swine. **Zoonoses and Public Health**, v. 57, p. 388-396, 2009.

FIGUEIREDO, P. G.; TANAMATI, F. Y. Adubação orgânica e contaminação ambiental. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 5, p.1- 4, 2010.

FONGARO, G. *et al.* Utility of specific biomarkers to assess safety of swine manure for biofertilizing purposes. **Science of the Total Environment**, v. 479-480, p. 277-283, 2014.

FORBES, B. A. *et al.* Practice guidelines for clinical microbiology laboratories: mycobacteria. **Clinical Microbiology Reviews**, vol. 31, n. 2, 2018. Doi: <https://doi.org/10.1128/cmr.00038-17>

FRANKE-WHITTLE, I. H.; INSAM, H. Treatment alternatives of slaughterhouse wastes, and their effect on the inactivation of different pathogens: a review. **Critical Reviews in Microbiology**, v. 39, p. 139-151, 2013.

GIACOMINI, S. J.; AITA, C. Cama sobreposta e dejetos líquidos de suínos como fonte de nitrogênio ao milho. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 32, p. 195-205, 2008.

GILES, K. *et al.* Resistance of bovine spongiform encephalopathy (BSE) prions to inactivation. **PLoS Pathogens**. v. 4, n. 11, p. 1-9. 2008.

GLOSSARY of terms related to antibiotic resistance. Atlanta: Centers for Disease Control and Prevention, 2019. Disponível em: <https://www.cdc.gov/narms/resources/glossary.html>. Acesso em: 19 fev. 2024.

GÓMEZ-BRANDÓN, M. *et al.* Effects of digestate on soil chemical and microbiological properties: a comparative study with compost and vermicompost. **Journal of Hazardous Materials**, v. 302, p. 267-274, 2016.

GUPTA, R.; LEE, Y. Y. Investigation of biomass degradation mechanism in pretreatment of switchgrass by aqueous ammonia and sodium hydroxide. **Bioresource Technology**, v. 101, p. 8185-8191, 2010.

HE, C.; QI, B.; JIAO, Y. *et al.* Potentials of bio-hydrogen and bio-methane production from diseased swines. **International Journal of Hydrogen Energy**. v. 45, p. 34473-34482, 2020.

HEINONEN-TANSKI, H. *et al.* Methods to reduce pathogen microorganisms in manure. **Livestock Science**, v. 102, p. 248-255, 2006.

HERES, L.; ELBERS, A. R. W.; VAN ZIJDERVELD, G. Identification of the characteristics and risk factors of the BSE epidemic in the Netherlands. **Risk Analysis**, v. 5, p. 1119-1129, 2007.

HIDALGO, D.; MARTÍN-MARROQUÍN, J. M.; CORONA, F. The effect of feed composition on anaerobic co-digestion of animal-processing by-products. **Journal of Environmental Management**, v. 216, p. 105-110, 2018.

HOLMES, A. H. *et al.* Understanding the mechanisms and drivers of antimicrobial resistance. **The Lancet**, v. 387, n. 10014, p. 176-187 Jan.2016.

HOLZEL, C.; BAUER, J. *Salmonella* spp. in bavarian liquid pig manure: occurrence and relevance for the distribution of antibiotic resistance. **Zoonoses and Public Health**, v. 55, p. 133-138, 2008.

HUTCHISON, M. L. *et al.* Levels of zoonotic agents in British livestock manures. **Letters in Applied Microbiology**, v. 39, p. 207-214, 2004.

JACOBSEN, C. S.; BECH, T. B. Soil survival of *Salmonella* and transfer to freshwater and fresh produce. **Food Research Internacional**, v. 45, p. 557-566, 2012.

JOHNSON, C. J. *et al.* Prions adhere to soil minerals and remain infectious. **PLoS Pathogens**, v. 2, n. 4, p. 296-302, 2006.

KIM, H. Y.; JIYOUNG, S. KIM, T. H. *et al.* Pyrosequencing-based assessment of microbial community shifts in leachate from animal carcass burial lysimeter. **Science of the Total Environment**, v. 587-588, p. 232-239, 2017.

KIM, H.; KIM, K. Microbial and chemical contamination of groundwater around livestock mortality burial sites in Korea: a review. **Geosciences Journal**, v. 16, p. 479-489, 2012.

KIMBERLIN, R. H. **Bovine spongiform encephalopathy**: scrapie and related diseases advisory service. Edinburgh: FAO, 1993. p. 1-40.

KINYUA, M. *et al.* Viability and fate of *Cryptosporidium parvum* and *Giardia lamblia* in tubular anaerobic digesters. **Science of the Total Environment**, v. 554-556, p. 167-177, 2016.

KONZEN, E. A. **Fertilização de lavoura e pastagem com dejetos de suínos e cama de aves**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2003. 3 p. (EMBRAPA-CNPMS. Circular Técnica, 31). Disponível em: <http://www.cnpms.embrapa.br/publicacoes/publica/circul31.pdf>. Acesso em: 24 abr. 2021.

KONZEN, E. A. **Alternativas de manejo, tratamento e utilização de dejetos animais em sistemas integrados de produção**. Sete Lagoas-MG: EMBRAPA Milho e Sorgo, 2000. 32 p. (Embrapa Milho e Sorgo. Documentos, 5). Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/33415/1/doc-5.pdf>. Acesso em: 24 abr. 2021.

KRANKER, S. *et al.* Longitudinal study of *Salmonella enterica* Serotype typhimurium Infection in three danish farrow-to-finish swine herds. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 41, p. 2282-2288, 2003.

KUCZYNSKA, E.; SHELTON, D. R.; PACHEPSKY, Y. Effect of bovine manure on *Cryptosporidium parvum* oocyst attachment to soil. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 71, p. 6394-6397, 2005.

KUNZ, A. *et al.* **Considerações técnicas sobre o uso de carcaças de animais mortos não abatidos em processos de digestão anaeróbia**. Concórdia: Embrapa Suínos e Aves, 2021. 12 p. (Embrapa Suínos e Aves. Comunicado Técnico, 579). Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/221896/1/final9654.pdf>. Acesso em: 20 jan. 2024.

KUNZ, A.; MIELE, M.; STEINMETZ, R. L. R. Advanced swine manure treatment and utilization in Brazil. **Bioresource Technology**, v. 100, p. 5485-5489, 2009.

KUPRIYANOV, A. A. *et al.* Transition of Enteropathogenic and Saprotrophic bacteria in the niche cycle: animals–excrement–soil–plants–animals. **Biology Bulletin**, v. 37, p. 263-267, 2010.

LEITA, L. *et al.* Interactions of prions proteins with soil. **Soil biology and biochemistry**, v. 38, p. 1638-1644, 2006.

LEKAGUL, A.; TANGCHAROENSATHIEN, V.; YEUNG S. Patterns of antibiotic use in global pig production: a systematic review. **Veterinary and Animal Science**, v.7, n. 100058, 2019.

LI, X.; ATWILL, E. R.; DUNBAR, L. A. *et al.* Seasonal Temperature Fluctuations Induces Rapid Inactivation of *Cryptosporidium parvum*. **Environmental Science and Technology**, v. 39, p. 4484-4489, 2005.

LOYON, L. Overview of manure treatment in France. **Waste Management**, v. 61, p. 516-520, 2017.

LUNG, A. J. *et al.* Destruction of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* Enteritidis in Cow Manure Composting. **Journal of Food Protection**, v. 64, p. 1309-1314, 2001.

MALUQUER, M. C. *et al.* Extration of BSE and scrapie prions in stools from murine models. **Veterinary Microbiology**, v. 44, p. 322-331, 2008.

MAPA. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/>. Acesso em: 24 abr. 2021.

MEDEIROS, T. L. *et al.* Produção e qualidade da forragem de capim marandu fertirrigada com dejetos líquidos de suínos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 38, n. 2, p. 309-318, 2007.

MIJS, W. *et al.* Molecular evidence to support a proposal to reserve the designation *Mycobacterium avium* subsp. *avium* for Bird-type isolates and *Mycobacterium avium* subsp. *hominissuis* for the human/porcine type of *M. avium*. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 52, p. 1505-1518, 2002

MORAVKOVA, M. *et al.* Strategy for the detection and differentiation of *Mycobacterium avium* species in isolates and heavily infected tissues. **Research in Veterinary Science**, v. 85, p. 257-264, 2008.

MORI, A. P. *et al.* *Granulomatous lymphadenitis* in swine: validation of national data based on 1 identification by the Service of Federal Inspection (SFI). In: SAFEPORK 2019, 13., 2019, Berlin. **Proceedings...** Berlin: MCI Deutschland, 2019. p. 145-146.

MORRIS, R. S.; PFEIFFER, D. U.; JACKSON, R. The epidemiology of *Mycobacterium bovis* infections. **Veterinary Microbiology**, v. 40, p. 153-177, 1994.

NAG, R. *et al.* Ranking hazards pertaining to human health concerns from land application of anaerobic digestate. **Science of the Total Environment**, v. 710, n. 136297, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.136297>. Acesso em: 29 abr. 2021.

NARROD, C.; TIONGCO, M.; SCOTT, R. Current and predicted trends in the production, consumption and trade of live animals and their products. **Revue scientifique et technique. International Office of Epizootics**, v. 30, p. 31-49, 2011.

NEETOO, H. *et al.* Understanding The management practices of animal manure and associated risks of transference of bacterial pathogens to crop vegetables. **African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development**, v. 20, 2020.

NICHOLSON, F. A.; GROVES, S. J.; CHAMBERS, B. J. Pathogen survival during livestock manure storage and following land application. **Bioresource Technology**, v. 96, p. 135-143, 2005.

NITRINI, R. Nova variante da doença de Creutzfeld-Jakob: a doença priônica humana relacionada à encefalopatia espongiforme bovina "Doença da Vaca Louca". **Revista Associação de Medicina Brasileira**, São Paulo, v. 47 n. 2, p. 25-28, 2001.

OLIVEIRA, E. M. D. *et al.* Comparison of methods for mycobacteria isolation from swine feces. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 38, p. 687-692, 2007.

O'REILLY, L. M., DABORN, C. J. The epidemiology of *Mycobacterium bovis* infections in animals and man: a review. **Tubercle and Lung Disease**, v. 76, supl., p. 1-46, 1995.

ORTOLANI, E. L. Encefalite espongiforme bovina: considerações epizootiológicas, etiológicas e clínicas. **Revista de Educação Continuada do CRMV- SP**. São Paulo, v. 2, p. 3- 8, 1999.

PLACHA, I. *et al.* The effect of summer and winter seasons on the survival of *Salmonella typhimurium* and indicator micro-organisms during the storage of solid fraction of pig slurry. **Journal of Applied Microbiology**, v. 91, p. 1036-1043, 2001.

PORNSUKAROM, S.; THAKUR, S. Assessing the impact of manure application in commercial swine farms on the transmission of antimicrobial resistant *salmonella* in the environment. **Plos One**, v. 11, p. 1-17, 2016.

RASSCHAERT, G. *et al.* Antibiotic residues and antibiotic-resistant bacteria in pig slurry used to fertilize agricultural fields. **Antibiotics**, v. 9, n. 1, p. 34, 2020. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9010034>.

RADOSTITS, O. M. *et al.* 9. ed. Clínica Veterinária. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002.

RIET-CORREA, F.; RIET-CORREA, G.; SCHILD, A. L. Importância do exame clínico para o diagnóstico das enfermidades do sistema nervoso em ruminantes e equídeos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 22, n. 4, p. 161-168, 2002.

RINDI, L.; GARZELLI, C. Genetic diversity and phylogeny of *Mycobacterium avium*. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 21, p. 375-383, 2014.

RITCHIE, D. L.; BARRIA, M. A. Prion diseases: a unique transmissible agent or a model for neurodegenerative diseases? **Biomolecules**, v. 11, n. 207, p. 1-24, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/biom11020207>. Acesso em: 24 abr. 2021.

SALGADO, M. A. *et al.* Effect of soil slope on the appearance of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in water running off grassland soil after application of contaminated slurry. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 79, p. 3544-3552, 2013.

SAMARAJEEWA, A. D. *et al.* Bacterial contamination of tile drainage water and shallow groundwater under different application methods of liquid swine manure. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 58, p. 668-677, 2012.

SCHEFFER-BASSO, S. M. *et al.* Resposta de pastagens perenes a adubação com chorume suíno: cultivar Tifton 85. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, n.11, p. 1940-1946, 2008.

SCHERER, E. E.; AITA, C.; BALDISSERA, I. T. **Avaliação da qualidade do esterco líquido de suínos da região Oeste Catarinense para fins de utilização como fertilizante**. Florianópolis: EPAGRI, 1996. 46 p. (Boletim Técnico, 79).

SCHWARZ P. *et al.* Ocorrência de surto de tuberculose causada pelo complexo *Mycobacterium tuberculosis* em uma criação de suínos. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 30, p. 197-200, 2002.

SEIDEL, B. *et al.* Scrapie agente (strain 263k) can transit disease via route after persistence in soil over Years. **PLoS ONE**, v. 5, p. 1-8, 2007.

SERAFIM, R. S. **Produção e composição química da *Brachiaria brizantha* cv Marandu adubada com água residuária de suinocultura**. 2021. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade do Estado de São Paulo, Jaboticabal.

SHARMA, M. *et al.* Survival of *Escherichia coli* in manure-amended soils is affected by spatiotemporal, agricultural, and weather factors in the mid-atlantic United States. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 85, p. 1-23, 2019.

SOUZA, L. T. ***Clostridium perfringens***: uma revisão. 2017.46 f. Monografia (Programa de Pós-Graduação em Microbiologia do Instituto de Ciências Biológicas) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

STOKKA, G. L.; BOEING, J. V. Bovine spongiform encephalopathy, Kansas State University Agricultural Experiment Station and Cooperative Extension Service. **Kansas**, p. 1- 2, Jan 2000.

SUNG, N.; COLLINS, M. T. Effect of three factors in cheese production (pH, Salt, and Heat) on *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* viability. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 66, p. 1334-1339, 2000.

TAMGUNEY, G. *et al.* Asymptomatic deer excrete infectious prions in faeces. **Nature**, v. 461, p. 529-532, 2009.

TÁPPARO, D. C. *et al.* Nutritional, energy and sanitary aspects of swine manure and carcass co-digestion. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 8, p. 1-13, 2020.

TIRADO, C.; SCHMIDT, K. WHO surveillance programme for control of foodborne infections and intoxications: preliminary results and trends across greater Europe. **Journal of Infection**, v. 43, p. 80-84, 2001.

VAN BOECKEL, T. P. *et al.* Global trends in antimicrobial use in food animals. **PNAS**, v. 112, n. 18, p. 5649-5654, Mar. 2015. <https://doi.org/10.1073/pnas.1503141112>

WAGNER, R. C.; REGAN, J. M.; OH, S. E. *et al.* Hydrogen and methane production from swine wastewater using microbial electrolysis cells. **Water Research**, v. 43, p.1480-1488, 2009.

WANG, D.; HUBER, A.; DUNFIELD, K. Comparative persistence of *Salmonella* and *Escherichia coli* O157:H7 in loam or sandy- loam soil amended with bovine or swine manure. **Canadian Journal of Microbiology**, v 64, p. 979-991, 2018.

WOAH. Annual report on Antimicrobial Agents Intended for Use in Animals, 7th Report, Paris, 2022. Disponível em: <https://www.woah.org/app/uploads/2023/05/a-seventh-annual-report-amu-final-3.pdf>. Acesso em: 04 abr. 2024.

- WHO. Advisory Group on Integrated Surveillance of Antimicrobial Resistance. **Critically important antimicrobials for human medicine**. Geneva, 2019. Disponível em: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/312266/9789241515528-eng.pdf>. Acesso em: 20 jan. 2024.
- WIEGEL, J.; TANNER, R.; RAINEY, F. A. **An introduction to the family Clostridiaceae**. In: DWORKIN, M. *et al.* The prokaryotes. New York: Springer, 2006.
- WILLESMTIH, J. W. **Manual on bovine spongiform encephalopathy**. Roma, FAO, 1998. (FAO Animal Health Manual, 2). Disponível em: <https://www.fao.org/3/W8656E/W8656E00.htm>. Acesso em: 23 de abr. 2021.
- WU, J.; HU, Y. Y.; WANG, S. F. *et al.* Effects of thermal treatment on high solid anaerobic digestion of swine manure: Enhancement assessment and kinetic analysis. **Waste Management**, v. 62, p. 69-75, 2017.
- XU, J, MUSTAFA, AM E LIN, H, *et al.* Effect of hydrochar on anaerobic digestion of dead pig carcass after hydrothermal pretreatment. **Waste Management**, v. 78, p. 849-856, 2018.
- XU, S.; REUTER, T.; GILROYED, B. H. *et al.* Biodegradation of specified risk material and fate of scrapie prions in compost. **Journal Environmental Science Health**. Part A. Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering. v. 3, n. 48, p. 26-36, 2013.
- YOU, Y.; RANKIN, S. C.; ACETO, H. W, *et al.* Survival of *Salmonella enterica* serovar Newport in manure and manure-amended soils. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 72, p. 5777-5783, 2006.
- ZHANG, L. *et al.* Antibiotic administration routes significantly influence the levels of antibiotic resistance in gut microbiota. **Antimicrob Agents Chemother**, v. 57, p. 3659-3666, 2013.