

Comunicação

[Communication]

Viabilidade de ovos de *Fasciola hepatica* de bovinos em sistema de biodigestão anaeróbia

[Viability of bovine's *Fasciola hepatica* eggs in a system of anaerobic biodigestion]

M.B. Mentz¹, J.M. Wiest², P.C. Gonçalves³

¹Departamento de Microbiologia - Setor de Parasitologia - UFRGS
Av. Sarmiento Leite, 500

90050-170 - Porto Alegre, RS

²Instituto de Ciências e Tecnologia de Alimentos – ICTA - UFRGS

³Faculdade de Medicina Veterinária – UFRGS

A liquefação de resíduos e dejetos animais obriga a reformulação das técnicas de biodegradação quanto aos aspectos de saúde, pois a umidade favorece a resistência e a viabilidade da maioria dos patógenos encontrados nesses materiais (Mayr, 1972; Gerba et al., 1975; Jones et al., 1975). Para Strauch (1987), os problemas de saúde animal e pública aumentam significativamente quando o desenvolvimento da criação não é acompanhado de adequados sistemas de tratamento dos resíduos da produção, visando a sua reciclagem e seu retorno controlado ao ambiente. Com a limitação do espaço físico, a matéria orgânica liquefeita tende a permanecer armazenada por tempo inferior ao necessário para o seu adequado controle sanitário, sendo geralmente utilizada como fertilizante e condicionante do solo (Downey e Moore, 1977; Kiehl, 1984; Strauch, 1987).

Outro problema que ocorre nos vários sistemas de compostação líquida de resíduos de origem animal, vegetal e humana é que, muitas vezes, o processo de biodigestão ocorre em anaerobiose. Isso significa que a energia calórica e a elevação do pH à alcalinidade, fundamentais no controle dos agentes causais potencialmente presentes, não se manifestam espontaneamente (Strauch, 1987; Wiest, 1982).

O objetivo desta pesquisa foi estimar a viabilidade de ovos da espécie *Fasciola hepatica*, em um sistema fechado de biodigestão, em que os processos de fermentação e de putrefação ocorrem em anaerobiose.

O experimento foi conduzido em laboratório, no período correspondente ao verão (dezembro, janeiro e fevereiro), em Porto Alegre, RS. O biodigestor constou de um tanque cilíndrico com 200 litros de capacidade, medindo 0,87m de altura e 0,72m de diâmetro, mantido sobre o piso do laboratório. O tanque era provido de uma válvula de controle de pressão do biogás, localizada na parte superior do tanque, uma torneira para retirada do material em processo de digestão, situada lateralmente e a 0,30m do piso e um termômetro para medição da temperatura interna do sistema, na mesma altura da torneira. O biodigestor foi instalado e manejado segundo as recomendações do Ministério... (1979) e Soares (1981). O tanque foi carregado com 83kg de fezes, coletadas de uma só vez, provenientes de oito vacas da raça Holandesa naturalmente infectadas com *Fasciola hepática*. As fezes foram diluídas em água, na proporção de 1:1, em base gravimétrica (Silva, 1978). A carga única de 166 litros foi mantida em biodigestão anaeróbia pelo período de 63 dias do experimento. A partir do sétimo dia de observação, foi realizada uma coleta de um litro do material, imediatamente

Recebido para publicação em 2 de maio de 2003

Recebido para publicação, após modificações, em 26 de março de 2004

E-mail: mbmentz@uol.com.br

Viabilidade de ovos de *Fasciola hepatica*...

subdividida em cinco subamostras de 200ml cada. As coletas foram realizadas semanalmente, após a homogeneização da carga por agitação manual do tanque por aproximadamente dois minutos. As temperaturas do ambiente externo (laboratório) e interna do biodigestor foram registradas duas vezes ao dia, respectivamente às 8h e 18h. As medidas internas foram realizadas na parte média da carga, usando-se o termômetro do biodigestor. O pH do material coletado foi medido semanalmente, no momento da coleta, com o auxílio do papel medidor¹.

A técnica utilizada para a recuperação e contagem de ovos de *F. hepatica* foi a de Girão e Ueno (1985). Para o cultivo dos ovos e observação da eclosão e obtenção de miracídios usou-se a técnica de Ueno e Gutierrez (1983).

Para análise quantitativa dos ovos utilizou-se a média como medida de tendência central. Os resultados do cultivo de ovos foram expressos em porcentagem.

Ao longo do período de observação, a temperatura no ambiente do laboratório variou de 26°C a 33°C e a temperatura interna do biodigestor de 24°C a 28°C. A temperatura do biodigestor sempre foi inferior a 35°C, conforme também verificada por Silva (1978), em processo anaeróbio semelhante e, segundo o autor, suficiente para o controle de patógenos. Os resultados obtidos estão de acordo com os mencionados por Wiest (1982), a respeito do processo de fermentação. Para o autor, quando o meio utilizado estiver em anaerobiose, o processo ocorre sem elevação de temperatura.

O pH das amostras do biodigestor manteve o valor 7,0, indicando que a degradação biológica da mistura ocorreu em anaerobiose. A constância

do pH no presente estudo, durante o processo de putrefação, está de acordo com as observações de Wiest (1982/1983).

Strauch (1987) demonstrou que pH de 9,0 destrói determinados agentes bacterianos. Quanto aos agentes parasitários, as medidas de pH entre 5,0 e 8,5 não tiveram influência sobre a sobrevivência de larvas de alguns helmintos, mas elevaram a taxa de eclosão (Pecheur, 1962; Misra e Ruprah, 1973; Dick e Leland, 1973; Netto, 1988).

Os resultados da variação do número médio de ovos de *F. hepatica* de bovinos e do seu desenvolvimento nas cinco subamostras semanais do esterco liquefeito, em relação ao tempo de permanência em sistema fechado de biodigestão anaeróbia, são apresentados na Tab. 1.

No 28º dia de observação verificou-se a maior média do experimento. A justificativa mais plausível para esse aumento foi a ocorrência de flutuação amostral significativa, responsável pela elevação na média de ovos, a partir do dia zero. A partir do 35º dia de observação, constatou-se declínio na média de ovos por grama do efluente coletado. Do 49º dia em diante, todos os ovos encontrados apresentaram modificações estruturais, como alteração de mórula, abaulamento e escurecimento do opérculo e do ovo, e não evoluíram quando colocados em cultivo. No 56º dia do experimento, foi observada elevação no número de ovos encontrados mas eram inviáveis, por apresentarem alterações estruturais semelhantes às observadas no 49º dia. No 63º dia ainda foram encontrados ovos de *F. hepatica* em todas as subamostras do esterco liquefeito, inclusive com as alterações estruturais já mencionadas.

Tabela 1. Número médio de ovos de *Fasciola hepatica* de bovinos em subamostras de 4g do efluente e percentual de desenvolvimento de ovos cultivados segundo o tempo de permanência (dias) em sistema fechado de biodigestão anaeróbia¹

	0	7	14	21	28	35	42	49*	56*	63*
Média	3,6	7,2	7,6	7,2	9,8	5,2	4,8	4,2	7,4	6,0
% de evoluídos	100,0	90,0	72,7	83,3	22,6	33,4	0	0	0	0
% de eclodidos	30,8	0	0	0	6,4	18,6	0	0	0	0

*Todos os ovos apresentavam alterações estruturais.

¹Técnica de Ueno e Gutierrez (1983); técnica de Girão e Ueno (1985).

¹ Merck

Quanto à sobrevivência, Burger e Stoye (1978) informaram que os ovos de *F. hepatica*, apesar de menor frequência nas fezes de bovinos, apresentam grande capacidade de resistência e evolução, mesmo sob condições desfavoráveis. Neste experimento, os ovos também apresentaram grande viabilidade. Apesar de o material não se tornar negativo ao longo dos 63 dias da investigação, os ovos apresentaram-se viáveis até o 42º dia. Enigk et al. (1965) conseguiram sobrevivência maior (55 a 90 dias), mas as temperaturas (8°C e 18°C, respectivamente), foram mais baixas em relação às verificadas neste trabalho. Quando o sistema utilizado foi o de fermentação aeróbia, houve aumento de temperatura entre 35°C e 40°C, o que fez com que a viabilidade dos ovos baixasse para 14 dias (Enigk et al., 1975). Scrotte (1955), Enigk et al. (1965), Persson (1973) e Strauch (1987), em temperaturas entre 8°C e 56°C, conseguiram diminuir o período de sobrevivência de ovos de *F. hepatica* de 76 para seis dias.

As alterações estruturais verificadas nos ovos a partir do 49º dia de observação, no presente estudo, explicam a não viabilidade desse parasito. Os dados diferem dos obtidos por Zajicek et al. (1980), que registraram a inviabilização dos parasitos por alteração de mórula, a partir do sétimo dia de observação, em

temperaturas entre 18°C e 26°C. Esses autores justificaram os resultados obtidos à provável presença de bactérias putrefativas e à diminuição do oxigênio, uma vez que o meio utilizado também foi o de esterco liquefeito em anaerobiose.

A viabilidade do agente estudado está de acordo com a hipótese de Wiest (1982) de que os processos de fermentação e putrefação prevalentes nos sistemas de compostação líquida são diretamente proporcionais à anaerobiose e inversamente proporcionais ao controle de patógenos. Strauch (1987) também sugere que os resíduos animais liquefeitos não produzem, por si, temperaturas capazes de controlar patógenos durante o período de armazenamento.

A utilização do esterco liquefeito de bovinos parasitados pela *Fasciola hepatica* não deve ser feita *in natura* sobre o solo e pastagens. Para que o seu emprego como fertilizante não acarrete riscos à saúde animal e humana, o período de retenção do material em biodigestão anaeróbia fechada não deve ser inferior a 42 dias, antes do seu retorno ao ambiente.

Palavras-chave: viabilidade, ovos, *Fasciola hepatica*, resíduo liquefeito, biodigestão anaeróbica

ABSTRACT

Cattle Fasciola hepatica egg-viability was studied in closed system of anaerobic biodigestion. Two thirds of a biodigester were filled with liquefied manure from eight Hosltein cows, naturally infected. For 10 consecutive weeks of observation, the biodigester internal temperature ranged from 24°C to 28°C, and external temperature from 26°C to 33°C. All the effluent samples showed a constant pH of 7. The samples of the effluent were weekly collected, in a total of 10 and submitted to techniques to detect the presence and viability of the trematode eggs. It was detected a 42-day egg viability. Therefore, liquefied cattle manure containing Fasciola hepatica eggs must remain under anaerobic biodigestion for at least 42 days before its safe return to the environment.

Keywords: viability, eggs, Fasciola hepatica, liquefied cattle manure, anaerobic biodigestion

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BURGER, H.J.; STOYE, M. Parasitological problems associated with recycling of animal excretions. In: KELLY, W.R. *Animal and human hazards associated with the utilization of animal effluents*. Office for the

Official Publications of the European Communities, Luxembourg, 1978. p.24-84 .

DICK, J.W.; LELAND Jr., S.E. The influence of pH on the *in vitro* development of *Cooperia punctata* (Ranson,1907). *J. Parasitol.*, v.59, p.770-775, 1973.

Viabilidade de ovos de *Fasciola hepatica*...

- DOWNEY, N.E.; MOORE, J.F. Trichostrongilid contamination of pasture fertilized with cattle slurry. *Vet. Rec.*, v.101, p.487-488, 1977.
- ENIGK von, K.; HILDEBRANDT, J.; TIETJEN, C. Die lebensdauer von helmintheneiern und-larven in schwemmist. *Berl Munch Tier Wochen*, v.78, p.2-106, 1965.
- ENIGK von, K.; THAER, R.; DEY-HAZRA, A.; AHLERS, R. Die überensfähigkeit parasitärer dauerformen bei der fermentation von rinderflüssigmist unter erhöhten temperature. *Zent. Vet. Med. B*, v.22, p.687-702, 1975.
- GERBA, C.P.; WALLIS, C.; MELNICK, J.L. Fate of wastewater, bacteria and viroses in soil. *J. Irrig. Drain. Div.*, v.1R3, p.157-174, 1975.
- GIRÃO, E.; UENO, H. Técnica dos quatro tamises para o diagnóstico coprológico quantitativo da Fasciiose dos ruminantes. *Pes. Agropec. Bras.*, v.20, p.905-912, 1985.
- JONES, P.W.; BEW, J.; GAMMACK, D.B. An investigation into the potential hazard to animal health of effluent sludge from dairy factories. *J. Hyg.*, v.75, p.143-149, 1975.
- KIEHL, E. J. Produção de fertilizantes orgânicos. In: SIMPÓSIO SOBRE FERTILIZANTES NA AGRICULTURA BRASILEIRA, 1984, Brasília. *Anais...* Brasília, 1984: p. 137-146
- MAYR, A. Belebte Krankheitsursachen. In: FREI, W. *Allgemeine Pathologie*. Berlin: Parey, 1972. 296p.
- MINISTÉRIO da Agricultura. Digestor anaeróbio para produção de biogás. Eletrificação Rural, Brasília, 1979. 8p.
- MISRA, S.C.; RUPRAH, N.S. Effects of temperature, relative humidity and pH on *Haemonchus contortus* eggs. *Ind. Vet. J.*, v.50, p.136-142, 1973.
- NETTO, F.G.S. Influência da temperatura e do pH na obtenção *in vitro* de larvas infectantes de nematódeos gastrointestinais de ovinos. 1988. 86f. Dissertação (Mestrado em Doenças Parasitárias) - Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- PECHEUR, M. Étude de l'influence du pH et l'action de la cyanamide calcique sur les oeufs et les larves de *Trichostrongylus et strongyloides*. *Ann. Med. Vet.*, v.106, p.18-41, 1962.
- PERSSON, L. The destruction of parasites in liquid cattle manure by aeration using the Licom System. *Zent. Vet. Med. B*, v.20, p.289-303, 1973.
- SCROTTLE, H. Ueber die haltbarkeit von wurmeier und wurmlarven im dunger. 1955. 72f. *Vet. Med. Dissertation*. München. Fachbereich Veterinaermedizin. Ludwig-Maximilians Universitaet.
- SILVA, E.J. *Biogas generation: development, problems and tasks: an overview*. Conference of the state of the art of bioconversion of organic residues for rural communities. Guatemala, 1978. p.72-83.
- SOARES, F.S. Biodigestor: uma alternativa energética. *Hora Vet.*, v.2, p.12-16, 1981.
- STRAUCH, D. Animal production and environmental health Science. (World Animal Science B6). Amsterdam: Elsevier Science Publishers BV, 1987. 324p.
- UENO, H.; GUTIERREZ, V.C. *Manual para o diagnóstico das helmintoses de ruminantes*. Japan International Cooperation Agency, 1983. 176p.
- WIEST, J.M. Biodigestores: a importância em saúde animal e saúde pública e alternativas para o seu controle sanitário. *Hora Vet.*, v.1, p.21-27, 1982.
- WIEST, J.M. Controle sanitário da matéria orgânica. *Arq. Fac. Vet. UFRGS*, v.10-11, p.35-44, 1982/83.
- ZAJICEK, D.; BISCHOFOVA, N.; BENDA, J. Survival of parasite eggs and cysts in stored liquid manure. *Vet. Med.*, v.25, p.213-222, 1980.