

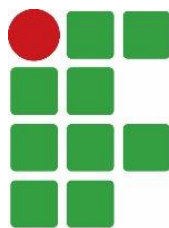


DAVIDSON SANDES CHRISTÃO

**COMPOSTAGEM COMO ALTERNATIVA SUSTENTÁVEL PARA O DESCARTE DE CADÁVERES DE FELINOS COM ESPOROTRICOSE: Avaliação da Inativação de *Sporothrix brasiliensis* e Condições Térmicas do Processo**

BambuÍ-MG

2025



**INSTITUTO FEDERAL  
DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA**  
Minas Gerais  
Campus Bambuí

DAVIDSON SANDES CHRISTÃO

**COMPOSTAGEM COMO ALTERNATIVA SUSTENTÁVEL PARA O DESCARTE  
DE CADÁVERES DE FELINOS COM ESPOROTRICOSE: Avaliação da Inativação  
de *Sporothrix brasiliensis* e Condições Térmicas do Processo**

Dissertação apresentada ao Programa de Mestrado Profissional em Sustentabilidade e Tecnologia Ambiental do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Minas Gerais – *Campus* Bambuí como requisito para obtenção do título de Mestre em Sustentabilidade e Tecnologia Ambiental.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dra. Simone Magela Moreira.

Linha de pesquisa: Tecnologia e Gestão Ambiental

Projeto estruturante: Meio Ambiente e Saúde

Bambuí-MG

2025



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO**  
**SECRETARIA DE EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E TECNOLÓGICA**  
**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE MINAS GERAIS**  
Campus Bambuí  
Diretoria de Pesquisa, Inovação e Pós-Graduação  
Seção de Pós-Graduação  
Av. Professor Mário Werneck, 2590 - Bairro Buritis - CEP 30575-180 - Belo Horizonte - MG  
37 3431 4900 • www.ifmg.edu.br

## PARECER Nº 9

### FICHA DE APROVAÇÃO

Dissertação intitulada de “**COMPOSTAGEM COMO ALTERNATIVA SUSTENTÁVEL PARA O DESCARTE DE CADÁVERES DE FELINOS COM ESPOROTRICOSE: AVALIAÇÃO DA INATIVAÇÃO DE *Sporothrix brasiliensis* E CONDIÇÕES TÉRMICAS DO PROCESSO**”, de autoria do mestrando em Sustentabilidade e Tecnologia Ambiental, **Davidson Sandes Christão**, sob a orientação da professora Dra. **Simone Magela Moreira**, aprovado pela Banca Examinadora de Defesa, em 28/03/2025, com a média de 90,0 pontos.

Bambuí (MG), 28 de março de 2025.



Documento assinado eletronicamente por **Camila de Valgas e Bastos Castro**, **Usuário Externo**, em 31/03/2025, às 17:11, conforme Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.



Documento assinado eletronicamente por **Davidson Sandes Christão**, **Usuário Externo**, em 31/03/2025, às 17:26, conforme Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.



Documento assinado eletronicamente por **Maria Isabel de Azevedo**, **Usuário Externo**, em 31/03/2025, às 21:09, conforme Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.



Documento assinado eletronicamente por **Simone Magela Moreira**, **Professora**, em 01/04/2025, às 06:44, conforme Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.



Documento assinado eletronicamente por **Ariane Flávia do Nascimento**, **Usuário Externo**, em 01/04/2025, às 07:56, conforme Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.



A autenticidade do documento pode ser conferida no site <https://sei.ifmg.edu.br/consultadocs> informando o código verificador **2249875** e o código CRC **A72879F8**.

---

**Catálogo na Fonte Biblioteca IFMG - *Campus* Bambuí**

---

C555c Christão, Davidson Sandes.

Compostagem como alternativa sustentável para o descarte de cadáveres de felinos com esporotricose: avaliação da inativação de *Sporothrix brasiliensis* e condições térmicas do processo [manuscrito] / Davidson Sandes Christão – 2025.

178 f. : il. ; color.

Orientadora: Simone Magela Moreira.

Dissertação (Mestrado Profissional em Sustentabilidade e Tecnologia Ambiental) – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Minas Gerais. *Campus* Bambuí, 2025.

1. Zoonose. 2. Viabilidade fúngica. 4. Sustentabilidade. 5. Uma só saúde. I. Moreira, Simone Magela. II. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Minas Gerais – *Campus* Bambuí. III. Título.

CDD 631.8

---

**Catálogo: João Batista Rodrigues - CRB-6/2022**

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus o dom da vida, a saúde, por me impulsionar diariamente e por permitir que pessoas tão especiais participassem desta jornada junto comigo;

Agradeço à minha família o apoio e o suporte sempre que necessário;

Agradeço aos amigos que me acompanharam e estimularam ao longo deste processo;

Agradeço aos professores do programa MPSTA do IFMG – Bambuí, que tanto contribuíram com minha formação;

Agradeço ao professor Luiz Machado, que, com prontidão, disponibilizou o galpão para que o experimento pudesse ser realizado;

Agradeço ao Sr. José Nivaldo e ao Setor de Avicultura, que forneceram parte dos substratos para a composição das composteiras;

Agradeço ao meu amigo MSc. Fernando Gusini o suporte técnico e teórico no processo de compostagem, por me fornecer grande parte do substrato para a realização do experimento e, também, por não medir esforços para me auxiliar, estando à disposição independentemente do dia e horário em que era solicitado;

Agradeço ao Setor de Manutenção a presteza em realizar a limpeza do galpão antes do período do experimento, a doação de algumas sobras de construção civil para edificação das composteiras e por emprestarem o carro para transporte de materiais após o período do experimento;

Agradeço à Secretaria de Saúde do município de Contagem o fornecimento dos cadáveres de gato; especialmente à MSc. Taíza Araújo, que facilitou toda a logística para aquisição e manipulação dos cadáveres;

Agradeço aos funcionários do Laboratório de Solos do IFMG-Bambuí por realizarem a análise química do biocomposto, especialmente à pessoa do Li, que realizou toda a interpretação dos resultados;

Agradeço aos integrantes da banca, que aceitaram contribuir nessa fase tão importante da carreira acadêmica;

Agradeço à Professora Dra. Camila Bastos o acolhimento durante minha passagem pela UFMG e o auxílio com parte do experimento do capítulo II desta dissertação, empenhando-se como se o trabalho fosse dela;

Agradeço à professora Dra. Maria Isabel todo o suporte técnico e teórico para a realização da parte laboratorial dos experimentos. Sem nenhuma obrigação para comigo,

abraçou o meu projeto, juntamente a mim, de modo que toda gratidão se faz insuficiente e jamais poderei me esquecer de ti. Não seria exagero dizer que, se não fosse pela senhora, seria impossível a conclusão desta dissertação e, conseqüentemente, do mestrado.

Agradeço à professora Dra. Simone Magela Moreira, minha orientadora deste trabalho. Mas essa descrição não reflete seu significado na minha vida. Mais que uma obrigação de orientar, você foi responsável por todo esse processo, desde minha entrada no curso até a conclusão. Não faltaram ideias para construção do projeto, incentivos nos momentos de desânimo e exaustão, puxões de orelha, cuidado e carinho todo o tempo. Já lhe disse isso, mas volto a reforçar aqui: mais que uma orientadora de trabalho, você foi uma orientadora de vida. Palavras não bastam para agradecer. Sei que, além de professora, tive uma amiga com quem contar. Creio que não conseguirei retribuir tanta bondade, mas, para o que precisar, estarei sempre à disposição. Seguirei seu exemplo em tudo que eu for capaz!!

“Subirei a montanha, seja alta como for,  
Dificuldade não me causará pavor.  
Este é o caminho da vida, a decisão não procrastino.  
Coragem, coração, apegá-te ao teu destino.  
Embora complicado, o correto é preferível,  
O conforto do caminho errado levaria a um fim terrível.”

O peregrino – John Bunyan

“Porque ainda que a figueira não floresça, nem haja  
fruto na vide; ainda que decepcione o produto da  
oliveira, e os campos não produzam mantimento;  
ainda que as ovelhas da malhada sejam arrebatadas,  
e nos currais não haja gado; todavia eu me alegrarei  
no Senhor; exultarei no Deus da minha salvação.”

## RESUMO

A esporotricose, causada por *S. brasiliensis*, representa um significativo desafio de saúde pública, especialmente no Brasil, onde elevadas taxas de mortalidade felina e infecção humana são registradas. O descarte adequado dos cadáveres de felinos infectados é essencial para prevenir a disseminação do patógeno e minimizar impactos ambientais. Neste contexto, o presente estudo investigou a compostagem como alternativa sustentável à incineração, para a inativação de *S. brasiliensis*. O estudo foi desenvolvido em dois momentos. Primeiramente, avaliando a viabilidade do fungo sob diferentes condições térmicas e os desafios enfrentados no processo. Inicialmente, foi confirmada a presença do fungo nos cadáveres por meio de *imprint* e cultura fúngica. Em seguida, três experimentos de compostagem foram conduzidos com monitoramento contínuo da temperatura. As composteiras, construídas com materiais residuais de construção civil, atingiram temperaturas superiores a 50°C, um indicativo potencial de inativação do patógeno. No entanto, ao longo do processo, não foi possível isolar novamente o fungo em nenhum momento, evidenciando desafios metodológicos na verificação da sua inativação completa, ainda que as análises do biocomposto indicassem potencial para aplicação em solos ácidos, ampliando as perspectivas de aproveitamento do material resultante. Visando testar a viabilidade fúngica sob estresse térmico, uma segunda etapa do estudo foi desenvolvida: colônias de leveduras, *in vitro*, foram submetidas a diferentes temperaturas ( $\leq 0^{\circ}\text{C}$ , 22°C, 37°C, 43°C, 56°C, 63°C e 67°C). Exposições a temperaturas de até 63°C, por cinco horas, ainda resultaram em relativa viabilidade, sendo a não sobrevivência comprovada somente após alcançar 67°C por um período de cinco horas. Isso sugere que a temperatura letal para *S. brasiliensis* encontra-se entre 63°C e 67°C, podendo sofrer, ainda, a interferência do tempo de exposição. Dessa forma, este estudo contribui para a formulação de estratégias sustentáveis no manejo de resíduos biológicos contaminados, destacando a compostagem como uma alternativa promissora para a inativação segura de *S. brasiliensis*. Porém, são necessários aprimoramentos nos protocolos experimentais e novas investigações, reforçando a importância da continuidade dessa abordagem em estudos futuros, pois a implementação de diretrizes baseadas em evidências científicas poderá otimizar a segurança do procedimento e mitigar riscos ambientais e à saúde pública.

**Palavras-chave:** Zoonose; Compostagem; Viabilidade fúngica; Uma só saúde; Sustentabilidade; Biossegurança; Manejo de resíduos biológicos.

## ABSTRACT

Sporotrichosis, caused by *S. brasiliensis*, represents a significant public health challenge, particularly in Brazil, where high rates of feline mortality and human infection are recorded. Proper disposal of the carcasses of infected cats is essential to prevent pathogen dissemination and minimize environmental impact. In this context, the present study investigated composting as a sustainable alternative to incineration for the elimination of *S. brasiliensis*. The study was conducted in two phases. First, the viability of the fungus under different thermal conditions and the challenges encountered in the process were evaluated. Initially, the presence of the fungus in the carcasses was confirmed through imprinting and fungal culture. Subsequently, three composting experiments were conducted with continuous temperature monitoring. The composting units, built using construction waste materials, reached temperatures above 50°C, a potential indicator of pathogen inactivation. However, throughout the process, it was not possible to re-isolate the fungus at any time, highlighting methodological challenges in verifying its complete elimination, even though the analysis of the biocompost indicated potential for application in acidic soils, expanding the perspectives for utilizing the resulting material. To assess fungal viability under thermal stress, a second phase of the study was conducted, in which yeast colonies were subjected *in vitro* to different temperatures ( $\leq 0^{\circ}\text{C}$ , 22°C, 37°C, 43°C, 56°C, 63°C, and 67°C). Exposure to temperatures up to 63°C for five hours still resulted in relative viability, with non-survival confirmed only after reaching 67°C for five hours. This suggests that the lethal temperature for *S. brasiliensis* is between 63°C and 67°C, and may also be influenced by the duration of exposure. Thus, this study contributes to the development of sustainable strategies for managing contaminated biological waste, highlighting composting as a promising alternative for the safe elimination of *S. brasiliensis*. However, improvements in experimental protocols and further investigations are necessary, reinforcing the importance of continuing this approach in future studies, as the implementation of evidence-based guidelines could optimize procedural safety and mitigate environmental and public health risks.

**Keywords:** Zoonosis; Composting; Fungal viability; One Health; Sustainability; Biosafety; Biological waste management.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 - LINHA DO TEMPO - EVOLUÇÃO DA ESPOROTRICOSE .....	27
FIGURA 2 - CASOS DE ESPOROTRICOSE FELINA EM TODO O MUNDO, 1952–2016. ....	28
FIGURA 3 - EVOLUÇÃO DOS CASOS DE ESPOROTRICOSE FELINA NO BRASIL, 1950–2022. ....	29
FIGURA 4 - TERMODIMORFISMO <i>SPOROTHRIX</i> SPP. VISTO À MICROSCOPIA ELETRÔNICA.....	30
FIGURA 5 - DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA DAS ESPÉCIES DE <i>SPOROTHRIX</i> SPP.....	31
FIGURA 6 - DISTRIBUIÇÃO GLOBAL DO <i>SPOROTHRIX</i> SPP. ....	32
FIGURA 7 - FASES DE UM PROCESSO DE COMPOSTAGEM .....	34
FIGURA 8 - NÍVEL DE UMIDADE NO PROCESSO DE COMPOSTAGEM E NO PRODUTO ACABADO .....	35
FIGURA 9 - OBJETIVOS DE DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL DA ONU.....	41
FIGURA 10 - COMPOSIÇÃO ESTRUTURAL DAS COMPOSTEIRAS E IDENTIFICAÇÃO DOS PONTOS DE AFERIÇÃO DE TEMPERATURA.....	44
FIGURA 11 - ASPECTO DOS CADÁVERES DURANTE O PROCESSO DE COLETA DAS AMOSTRAS DOS TECIDOS LESIONADOS SUSPEITOS DE ESPOROTRICOSE .....	46
FIGURA 12 - MODO COMO OS TECIDOS LESIONADOS EXTRAÍDOS DOS CADÁVERES DE GATO FORAM ACOMODADOS PARA SEREM SUBMETIDOS À COMPOSTEIRA .....	47
FIGURA 13 - DISTRIBUIÇÃO DAS 18 AMOSTRAS DOS TECIDOS LESIONADOS, EXTRAÍDOS DOS CADÁVERES DE GATO, POR TODA A ÁREA DA COMPOSTEIRA.....	48
FIGURA 14 - TRATAMENTO DOS TECIDOS LESIONADOS APÓS O PERÍODO DETERMINADO À COMPOSTEIRA – MACERAÇÃO DOS TECIDOS UMEDECIDOS COM SOLUÇÃO SALINA.....	49
FIGURA 15 - TRATAMENTO DA AMOSTRA APÓS PERÍODO NA COMPOSTEIRA – MACERAÇÃO DOS TECIDOS UMEDECIDOS COM SOLUÇÃO SALINA E INOCULAÇÃO EM CALDO SABORAUD .....	49
FIGURA 16 - MONITORAMENTO DA TEMPERATURA AMBIENTAL E DAS COMPOSTEIRAS AO LONGO DOS DIAS DE COMPOSTAGEM .....	52
FIGURA 17 – ASPECTO VISUAL DO COMPOSTO DA COMPOSTEIRA I APÓS 205 DIAS DE COMPOSTAGEM.....	57
FIGURA 18 - ASPECTO DO COMPOSTO NAS COMPOSTEIRAS EM TRIPLICATA APÓS 171 DIAS DE COMPOSTAGEM.....	57
FIGURA 19 - SINALIZAÇÃO DO LOCAL DA LESÃO, NA COMPOSTEIRA I, COM UMA BANDEIRA. ....	58
FIGURA 20 - IDENTIFICAÇÃO DAS LESÕES DOS CADÁVERES NAS COMPOSTEIRAS II, III E IV COM BARBANTES .....	59
FIGURA 21 - CULTURA FÚNGICA DAS LESÕES DO CADÁVER DA COMPOSTEIRA I, APÓS 15 DIAS DE COMPOSTAGEM.....	60

FIGURA 22 - FLUXOGRAMA DAS ETAPAS METODOLÓGICAS SEGUIDAS PELOS EXPERIMENTOS REALIZADOS .....	88
FIGURA 23 - SIMULAÇÃO PARA AUMENTO DA PRESSÃO DE CO <sub>2</sub> PARA CULTIVO DE LEVEDURAS DE <i>SPOROTHRIX BRASILIENSIS</i> .....	90
FIGURA 24 - ESQUEMA DO PASSO A PASSO METODOLÓGICO PARA REALIZAÇÃO DO EXPERIMENTO .....	92
FIGURA 25 - GABARITO DE 1 CM <sup>2</sup> PARA COLETA DAS AMOSTRAS FÚNGICAS (18 RÉPLICAS).....	94
FIGURA 26 - DEMONSTRAÇÃO DAS ÁREAS CONSIDERADAS PARA CONTAGEM DE CÉLULAS NA CÂMARA DE NEUBAUER .....	94
FIGURA 27 - 12º DIA DE CULTIVO A 63 °C PELO PERÍODO DE CINCO HORAS DO REPIQUE DAS AMOSTRAS DE <i>SPOROTHRIX SPP.</i> .....	96
FIGURA 28 - COMPARAÇÃO ENTRE CULTIVOS DA MESMA AMOSTRA, SUJEITOS OU NÃO AO DESAFIO DE 63 °C.....	97
FIGURA 29 - 20º DIA DE CULTIVO A 63 °C PELO PERÍODO DE CINCO HORAS DO REPIQUE DAS AMOSTRAS DE <i>SPOROTHRIX SPP.</i> .....	97
FIGURA 30 - COMPARAÇÃO ENTRE COLÔNIAS SUBMETIDAS, OU NÃO, À SIMULAÇÃO DE PRESSÃO DE CO <sub>2</sub> .....	98
FIGURA 31 - VISUALIZAÇÃO MICROSCÓPICA DAS LEVEDURAS DA CULTURA-MÃE ANTES DOS ESTRESSES TÉRMICOS - CONTAGEM E VIABILIDADE.....	99
FIGURA 32 - CRESCIMENTO DE <i>SPOROTHRIX SPP.</i> NAS RÉPLICAS SETE DIAS APÓS OS REPIQUES DA CULTURA-MÃE - ANTES DOS DESAFIOS .....	100
FIGURA 33 - VISUALIZAÇÃO MICROSCÓPICA DAS LEVEDURAS DA CULTURA APÓS O DESAFIO 1 - CONTAGEM E VIABILIDADE .....	102
FIGURA 34 - 17º DIA DE CULTIVO DO REPIQUE DAS AMOSTRAS DE <i>SPOROTHRIX SPP.</i> APÓS O DESAFIO 1 .....	103
FIGURA 35 - VISUALIZAÇÃO MICROSCÓPICA DAS LEVEDURAS DA CULTURA APÓS O DESAFIO 2 - CONTAGEM E VIABILIDADE .....	104
FIGURA 36 - 24º DIA DE CULTIVO DO REPIQUE DAS AMOSTRAS DE <i>SPOROTHRIX SPP.</i> APÓS O DESAFIO II .....	105

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - TEMPO DE CONTATO (MINUTOS) E TEMPERATURA (°C) PARA A DESTRUIÇÃO DE ALGUNS MICRORGANISMOS PATOGÊNICOS .....	36
TABELA 2 - TESTE DE <i>TUKEY</i> PARA VERIFICAR SE HAVIA DIFERENÇA ESTATÍSTICA SIGNIFICATIVA ENTRE AS TEMPERATURAS DAS COMPOSTEIRAS .....	53
TABELA 3 - TESTE DE <i>TUKEY</i> PARA VERIFICAR SE HAVIA DIFERENÇA ESTATÍSTICA SIGNIFICATIVA ENTRE AS TEMPERATURAS DAS COMPOSTEIRAS E EM RELAÇÃO À TEMPERATURA AMBIENTAL .....	54
TABELA 4 - RELAÇÃO ENTRE TEMPERATURA E DIAS DE COMPOSTAGEM - CONSIDERANDO AS COMPOSTEIRAS EM TRIPLICATA .....	55
TABELA 5 - DIAS DE CULTIVOS DAS AMOSTRAS DIÁRIAS .....	59
TABELA 6 - ANÁLISE QUÍMICA DOS COMPOSTOS .....	61
TABELA 7 - CLASSES DE INTERPRETAÇÃO PARA A ACIDEZ ATIVA DO SOLO (pH)1/ .....	62
TABELA 8 - CLASSES DE INTERPRETAÇÃO DA DISPONIBILIDADE PARA O FÓSFORO DE ACORDO COM O TEOR DE ARGILA DO SOLO OU DO VALOR DE FÓSFORO REMANESCENTE (P-REM) E PARA O POTÁSSIO.....	63
TABELA 9 - CLASSES DE INTERPRETAÇÃO DE FERTILIDADE DO SOLO PARA A MATÉRIA ORGÂNICA .....	64
TABELA 10 - RELAÇÃO LESÕES SELECIONADAS (AMOSTRAS ZERO) X RESULTADO DA CULTURA .....	65
TABELA 11 - MONITORAMENTO DA TEMPERATURA E MOMENTO DA COLETA DAS LESÕES.....	66
TABELA 12 - CONTAGEM MÉDIA DE LEVEDURAS AO HEMACITÔMETRO APÓS DILUIÇÃO EM AZUL DE TRIPAN .....	140
TABELA 13 - CONTAGEM MÉDIA DE LEVEDURAS AO HEMACITÔMETRO APÓS DILUIÇÃO EM AZUL DE TRIPAN, POSTERIORMENTE AO DESAFIO 1.....	141
TABELA 14 - CONTAGEM MÉDIA DE LEVEDURAS AO HEMACITÔMETRO APÓS DILUIÇÃO EM AZUL DE TRIPAN, POSTERIORMENTE AO DESAFIO 2.....	142

## SUMÁRIO

<b>I APRESENTAÇÃO .....</b>	<b>17</b>
<b>II. CAPÍTULO 1: COMPOSTAGEM DE CADÁVER FELINO COM ESPOROTRICOSE: VIABILIDADE DA INATIVAÇÃO DE <i>SPOROTHRIX</i> SPP. E BARREIRAS NO ISOLAMENTO DO FUNGO.....</b>	<b>18</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>18</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>20</b>
<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>21</b>
<b>1.1 JUSTIFICATIVA.....</b>	<b>23</b>
<b>2 PROBLEMA .....</b>	<b>25</b>
<b>3 OBJETIVOS .....</b>	<b>26</b>
<b>3.1 OBJETIVO GERAL.....</b>	<b>26</b>
<b>3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....</b>	<b>26</b>
<b>4 REFERENCIAL TEÓRICO .....</b>	<b>27</b>
<b>4.1 ESPOROTRICOSE .....</b>	<b>27</b>
<b>4.2 COMPOSTAGEM E INATIVAÇÃO MICROBIOLÓGICA .....</b>	<b>33</b>
<b>4.2.1 Umidade .....</b>	<b>35</b>
<b>4.2.2 Aeração .....</b>	<b>35</b>
<b>4.2.3 Temperatura .....</b>	<b>36</b>
<b>4.2.4 Granulometria .....</b>	<b>36</b>
<b>4.2.5 pH.....</b>	<b>37</b>
<b>4.2.6 Relação C/N.....</b>	<b>37</b>
<b>4.3 PARÂMETROS QUÍMICOS GERAIS DO SOLO .....</b>	<b>37</b>
<b>4.3.1 pH do Solo .....</b>	<b>38</b>
4.3.1.1 Classificação Química do pH .....	38
4.3.1.2 Classificação Agronômica do pH .....	38
<b>4.3.2 Cálcio (Ca) e Magnésio (Mg).....</b>	<b>39</b>
<b>4.3.3 Fósforo (P).....</b>	<b>40</b>
<b>4.3.4 Potássio (K).....</b>	<b>40</b>
<b>4.4 OBJETIVOS DE DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL – ODS .....</b>	<b>40</b>
<b>5 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>43</b>
<b>5.1 COMPOSTEIRA-PILOTO E COMPOSTEIRAS EM TRIPLICATA.....</b>	<b>43</b>

5.2 COMPOSTAGEM DOS FRAGMENTOS DE TECIDO .....	45
5.3 ANÁLISE QUÍMICA DO BIOCOMPOSTO .....	50
5.4 ANÁLISE SENSORIAL DURANTE O PROCESSO DE COMPOSTAGEM.....	50
<b>6 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>51</b>
6.1 COMPOSTAGEM DOS CADÁVERES .....	51
6.1.1 <i>Monitoramento da temperatura</i> .....	51
6.1.2 <i>Variabilidade dos Resultados</i> .....	54
6.1.3 <i>Análise sensorial do processo de compostagem</i> .....	56
6.1.4 <i>Análises microbiológicas</i> .....	57
6.1.5 <i>Análise química do biocomposto</i> .....	60
6.2 COMPOSTAGEM DAS LESÕES .....	64
<b>7 CONCLUSÕES.....</b>	<b>68</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>69</b>

**III. CAPÍTULO 2: AVALIAÇÃO DA VIABILIDADE DO *SPOROTHRIX BRASILIENSIS IN VITRO* SOB CONDIÇÕES DE TEMPERATURAS VERIFICADAS DURANTE A COMPOSTAGEM DE CADÁVERES DE FELINOS INFECTADOS ....**

<b>RESUMO.....</b>	<b>76</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>77</b>
<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>78</b>
1.1 JUSTIFICATIVA.....	79
<b>2. PROBLEMA .....</b>	<b>80</b>
<b>3. HIPÓTESES .....</b>	<b>81</b>
3.1. HIPÓTESE PRINCIPAL ( $H_0$ - HIPÓTESE NULA) .....	81
3.2. HIPÓTESE ALTERNATIVA ( $H_1$ - HIPÓTESE DE PESQUISA) .....	81
<b>4. OBJETIVOS .....</b>	<b>82</b>
4.1 OBJETIVO GERAL.....	82
4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	82
<b>5. REFERENCIAL TEÓRICO .....</b>	<b>83</b>
5.1 BIOLOGIA E VIRULÊNCIA DO <i>SPOROTHRIX BRASILIENSIS</i> .....	83
5.1.1 <i>Mecanismos de adaptação e sobrevivência</i> .....	83
5.2 CULTIVO DO <i>SPOROTHRIX SPP.</i> .....	85
5.3 <i>SPOROTHRIX, ONE HEALTH</i> E DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL .....	85
5.3.1 <i>ODS 3 - Saúde e Bem-Estar</i> .....	86

5.3.2 ODS 6 - Água Potável e Saneamento .....	86
5.3.3 ODS 11 - Cidades e Comunidades Sustentáveis.....	87
5.3.4 ODS 12 - Consumo e Produção Responsáveis .....	87
5.3.5 ODS 15 - Vida Terrestre.....	87
<b>6 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>88</b>
6.1 TESTE DE ESTRESSE TÉRMICO AGUDO AO <i>S. BRASILIENSIS</i> .....	89
6.2 VERIFICAÇÃO DA CAPACIDADE DO <i>S. BRASILIENSIS</i> EM SE DESENVOLVER NA FORMA LEVEDURIFORME SOB PRESSÃO DE CO <sub>2</sub> .....	89
6.3 DESAFIOS PARA ANÁLISE DO COMPORTAMENTO SOB DIFERENTES CONDIÇÕES DE TEMPERATURA.....	90
6.3.1 Comparação do dimorfismo fúngico adaptativo antes e após os desafios térmicos .....	93
6.3.2 Quantificação das células em cultivo, submetidas às diferentes condições de tempo e temperaturas similares às da compostagem de cadáveres .....	93
6.3.3 Verificação da viabilidade “in vitro” de <i>Sporothrix brasiliensis</i> , segundo variações térmicas similares à compostagem do cadáver felino .....	95
<b>7 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>96</b>
7.1 COMPARAÇÃO ENTRE OS REPIQUES DO EXPERIMENTO-PILOTO .....	96
7.2 DIMORFISMO DA RÉPLICA SUBMETIDA À PRESSÃO DE CO <sub>2</sub> .....	98
7.3 – QUANTIFICAÇÃO E VIABILIDADE DAS LEVEDURAS CONSTANTES NA PLACA-MÃE....	99
7.4 QUANTIFICAÇÃO CELULAR E VIABILIDADE CELULAR APÓS DESAFIOS I E II.....	102
7.4.1 – Desafio I.....	102
7.4.2 - Desafio II.....	104
<b>8 CONCLUSÃO.....</b>	<b>106</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>108</b>
<b>IV CAPÍTULO 3 - PTT (PPRODUTO TÉCNICO-TECNOLÓGICO): PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO (POP) PARA MANUSEIO DE CADÁVER FELINO CONTAMINADO COM ESPOROTRICOSE DURANTE PROCESSO DE COMPOSTAGEM .....</b>	<b>113</b>
<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>113</b>
1.1 APRESENTAÇÃO.....	114
1.2 CRITÉRIOS DE QUALIFICAÇÃO DO PRODUTO TÉCNICO-TECNOLÓGICO (PTT).....	115
<b>2 PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO .....</b>	<b>117</b>

2.1 OBJETIVO .....	117
2.2 MATERIAL.....	117
2.3 DESCRIÇÃO DOS PROCEDIMENTOS.....	117
2.4 SIGLAS .....	118
2.5 POSSIBILIDADES DE ERRO.....	118
2.6 FATORES COMPLICADORES.....	118
2.7 HISTÓRICO DE REVISÕES .....	119
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>120</b>
<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>121</b>
<b>APÊNDICE A: REGISTRO DAS TEMPERATURAS AFERIDAS NAS COMPOSTEIRAS DURANTE O PERÍODO DE MONITORAMENTO DA COMPOSTAGEM .....</b>	<b>123</b>
<b>APÊNDICE B – CÁLCULOS DE VIABILIDADE E CONCENTRAÇÃO DAS LEVEDURAS DE <i>SPOROTHRIX</i> SPP. ANTES E APÓS OS DESAFIOS I E II DESCRITOS NO CAPÍTULO 2 .....</b>	<b>140</b>
<b>ANEXO A – MANUAL DO LABORATORISTA PARA ANÁLISE QUÍMICA DOS SOLOS UTILIZADO NO LABORATÓRIO DE SOLOS DO IFMG – BAMBUÍ.....</b>	<b>143</b>

## I APRESENTAÇÃO

A presente dissertação investiga a compostagem como uma alternativa sustentável para o descarte de cadáveres de felinos contaminados com *Sporothrix brasiliensis*, microrganismo responsável pela esporotricose, uma zoonose de relevância crescente no Brasil. O estudo parte da premissa de que o adequado manejo desses resíduos biológicos pode minimizar os impactos ambientais e reduzir a disseminação do patógeno, contribuindo tanto para a saúde pública quanto para a biossegurança. Diante disso, a pesquisa foi estruturada em dois capítulos interligados, que, em conjunto, analisam não apenas a viabilidade da compostagem como método de inativação do fungo, mas também os desafios associados à confirmação de sua inativação ao longo do processo.

O primeiro capítulo se concentra na avaliação da inativação de *S. brasiliensis* durante a compostagem de cadáveres de felinos diagnosticados com esporotricose, destacando os parâmetros ambientais e metodológicos que influenciam a eficácia do processo. A análise inclui o monitoramento das condições térmicas e microbiológicas, evidenciando tanto a capacidade da compostagem de atingir temperaturas potencialmente inativadoras do fungo quanto as dificuldades associadas à sua posterior detecção. Além disso, são discutidas as limitações metodológicas para a reavaliação da presença do patógeno, apontando a necessidade de aprimoramentos nas técnicas de isolamento e cultura fúngica.

O segundo capítulo complementa essa abordagem ao aprofundar a análise da viabilidade do *S. brasiliensis* sob diferentes condições térmicas verificadas durante a compostagem. Por meio de experimentos *in vitro*, foram testadas temperaturas específicas para determinar o limite térmico letal para o fungo e avaliar a influência do tempo de exposição sobre sua sobrevivência. Os resultados obtidos reforçam a relevância da temperatura no controle microbiológico e destacam a complexidade do processo de inativação fúngica, sugerindo que a inativação completa pode depender de variáveis adicionais, como a umidade e a aeração do material compostado.

Ao integrar essas duas abordagens, a dissertação contribui para a formulação de diretrizes baseadas em evidências científicas para o manejo seguro de cadáveres contaminados. A compostagem se mostra uma alternativa promissora à incineração, combinando viabilidade econômica e ambiental. No entanto, são necessários aprimoramentos nos protocolos experimentais e novas investigações, para garantir que esse método possa ser aplicado de maneira eficaz e segura, minimizando riscos para o meio ambiente e também para a saúde pública.

## **II. CAPÍTULO 1: COMPOSTAGEM DE CADÁVER FELINO COM ESPOROTRICOSE: viabilidade da inativação de *Sporothrix* spp. e barreiras no isolamento do fungo**

### **RESUMO**

A esporotricose, uma infecção fúngica causada por *Sporothrix* spp., é um relevante problema de saúde pública, especialmente no Brasil, onde altas taxas de mortalidade entre gatos afetados e infecções humanas têm sido relatadas. O descarte adequado dos cadáveres de felinos que morreram em detrimento dessa infecção fúngica é essencial para evitar a propagação do patógeno e, assim, minimizar os impactos ambientais. Este estudo propõe a compostagem de felinos mortos, que possuíam diagnóstico de esporotricose, como alternativa à incineração para a inativação de *Sporothrix* spp., explorando os desafios envolvidos nesse processo. Inicialmente, a presença do fungo foi confirmada nos cadáveres por meio da técnica de *imprint* e cultura fúngica, e a compostagem foi conduzida com monitoramento contínuo. Três experimentos foram realizados. O primeiro tratou-se da composteira-piloto, que teve sua temperatura monitorada duas vezes ao dia, por um período de 205 dias, umedecida sempre que necessário. O segundo, iniciado no 35º dia do experimento-piloto, foi realizado em triplicata e teve duração de 171 dias, com a aferição da temperatura e umedecimento nas mesmas condições da composteira-piloto. O terceiro experimento abordou a compostagem de tecidos lesionados, característicos da infecção por *Sporothrix* spp., com monitoramento contínuo da temperatura a cada hora, por um período de 45 horas. Todas as cinco composteiras foram construídas em alvenaria, com materiais residuais de construção civil. Durante o processo, foram alcançadas temperaturas superiores a 50°C em todas as composteiras, o que pode ser um bom indicador para a inativação do patógeno, uma vez que ele é termossensível. No entanto, durante o processo de compostagem, não foi possível isolar novamente o fungo em cultura em nenhum dos momentos de acompanhamento e verificação. A significativa dificuldade em isolar o fungo após introdução nas composteiras ressalta as limitações enfrentadas no protocolo aplicado, indicando a necessidade de cautela na interpretação dos dados. Essa dificuldade evidencia a necessidade de melhorias nos protocolos de compostagem e de metodologias mais robustas para garantir a eficácia do tratamento desse tipo de resíduo, abordando adequadamente as limitações técnicas identificadas. Por fim, a análise preliminar revelou que, além das considerações de biossegurança, o biocomposto final possui características químicas que sugerem seu potencial para aplicação em solos ácidos.

Palavras-chave: Zoonose. Descarte sustentável. Segurança ambiental. Avaliação de impacto ambiental.

## ABSTRACT

Sporotrichosis, a fungal infection caused by *Sporothrix* spp., is a significant public health concern, particularly in Brazil, where high mortality rates among affected cats and human infections have been reported. Proper disposal of the carcasses of felines that succumbed to this fungal infection is essential to prevent pathogen dissemination and minimize environmental impacts. This study proposed composting deceased felines diagnosed with sporotrichosis as an alternative to incineration for the elimination of *Sporothrix* spp., exploring the challenges involved in this process. Initially, the presence of the fungus in the carcasses was confirmed through imprinting and fungal culture, and composting was conducted with continuous monitoring. Three experiments were performed. The first involved a pilot composting unit, with temperature monitored twice daily for 205 days and moisture adjusted as needed. The second experiment, initiated on the 35th day of the pilot experiment, was conducted in triplicate over 171 days, following the same temperature monitoring and moisture adjustment protocols as the pilot unit. The third experiment focused on composting lesion tissues characteristic of *Sporothrix* spp. infection, with temperature monitored hourly for 45 hours. All five composting units were built using masonry with residual construction materials. Throughout the process, temperatures above 50°C were achieved in all composting units, which may be a strong indicator of pathogen elimination, given its thermosensitivity. However, during composting, it was not possible to re-isolate the fungus in culture at any monitoring or verification point. The significant difficulty in isolating the fungus after its introduction into the composting units highlights the limitations of the applied protocol, indicating the need for caution when interpreting the data. This challenge underscores the necessity for improvements in composting protocols and the development of more robust methodologies to ensure the effectiveness of this waste treatment approach, adequately addressing the identified technical limitations. Finally, preliminary analysis revealed that, beyond biosafety considerations, the final biocompost possesses chemical characteristics suggesting its potential for application in acidic soils.

**Keywords:** Zoonosis; Sustainable disposal; Environmental safety; Environmental impact assessment.

## 1 INTRODUÇÃO

A compostagem é um processo biológico que ocorre de modo natural, resultante do metabolismo de grupos bacterianos e fúngicos, caracterizando o processo com a presença de temperaturas crescentes e decompondo o material orgânico em minerais, água, dióxido de carbono e matéria orgânica estabilizada (SINGHE *et al.*, 2018). O biocomposto gerado, quando produzido de maneira correta, é um insumo de alto valor para a produção agrícola. O processo passa por três fases distintas. Na primeira, denominada mesofílica, com temperaturas variando entre 20 e 45 °C, ocorre a fase latente da matéria orgânica, quando os microrganismos estão se adaptando ao ambiente em que foram alocados; já na segunda fase, a termofílica, há expressiva atividade microbiológica, com temperaturas acima de 45 °C e inferiores a 65 °C. Temperaturas abaixo deste intervalo não destroem patógenos e, acima, finalizam ou retardam o processo; na terceira fase, de resfriamento, a temperatura se estabelece um pouco acima da ambiental. Essa fase do processo é mais lenta, e é quando acontece a mineralização da matéria orgânica, até quando o composto se estabiliza, atingindo a quarta fase, a de maturação (SCHALCH V.; MASSUKADO L. M.; BIANCO C. I., 2015).

A técnica de compostagem é uma alternativa às formas usuais para destinação de cadáveres, como a deposição em fossas, enterramento, abandono ao ar livre e incineração, que podem poluir solo, água e ar, e ainda predispor a disseminação de doenças (OTENIO; CUNHA; ROCHA, 2010). De acordo com Cancelado (2014), além da temperatura, outros parâmetros são de relevância de mesmo teor para que o desenvolvimento do composto pelo processo de compostagem ocorra de modo adequado. Entre esses fatores, podem ser citados: aeração, umidade, pH, relação carbono e nitrogênio e, notoriamente, a microbiologia da compostagem.

No entanto, métodos tradicionais de descarte, como a incineração e o enterro, apresentam limitações significativas. A incineração, embora eficaz na destruição de patógenos, envolve altos custos operacionais e logísticos, além de emitir gases poluentes que podem impactar negativamente o meio ambiente (ZHANG *et al.*, 2021). O enterro, por sua vez, não garante a inativação do patógeno e tem, como consequência, a disseminação de microrganismos no solo e nas águas subterrâneas (KWON *et al.*, 2017).

A esporotricose é uma doença causada pelo fungo do gênero *Sporothrix*, que possuía alta incidência sobre trabalhadores da terra, pelo fato de este microrganismo ter seu habitat no solo, em plantas e em matéria orgânica em decomposição (COLOMBO, 2022).

Ao longo das últimas décadas, o fungo vem se adaptando como parasitos de gatos domésticos, de modo que esta espécie tem sofrido danos clínicos severos e de difícil tratamento, além de serem os principais transmissores da esporotricose no ciclo zoonótico, tornando este quadro um importante problema de saúde única. Segundo Almeida-Paes *et al.* (2015), para sucesso da infecção, é necessário que a cepa fúngica tenha fatores de virulência, destacando-se a termotolerância, quando o fungo resiste a temperaturas maiores que 37 °C, e, somente assim, é capaz de percorrer o sistema linfático do hospedeiro. Além disso, a incidência de fungos resistentes a medicamentos tem aumentado de forma geral, o que destaca a urgência de se encontrar alternativas para combater as infecções fúngicas. Igualmente, é crucial adotar medidas preventivas, como o descarte adequado de cadáveres contaminados e a intervenção no ciclo de vida do parasito, especialmente no que diz respeito aos cuidados com os gatos, principais portadores da esporotricose em sua forma zoonótica (GARCÍA-CARNERO *et al.*, 2022).

Diante dessas limitações, a compostagem surge como uma alternativa ecologicamente e economicamente viável. Este processo, quando conduzido de forma adequada, pode alcançar temperaturas elevadas suficientes para inativar patógenos como *Sporothrix* spp., transformando os resíduos orgânicos em um biocomposto útil para a agricultura. A compostagem, além de ser uma solução mais acessível financeiramente, promove a reciclagem de nutrientes e minimiza o impacto ambiental associado ao descarte de resíduos biológicos perigosos.

Enterrar os cadáveres dos animais mortos em decorrência da esporotricose pode se configurar como um grande problema para a sociedade devido à disseminação fúngica (SILVA *et al.*, 2012), e, somado a isso, são escassos os números de pesquisas sobre impactos ambientais e riscos à saúde ocasionados por essa prática (MENEZES W. B., 2021). Entretanto, dentro dos requisitos de boas práticas para lidar com esse tipo de resíduo sólido, a ação correta passa pelo acondicionamento de cadáveres em saco plástico branco leitoso, identificado com o símbolo adequado, que mostre se tratar de um material que oferece risco biológico, sendo mantido sob refrigeração até o momento da realização da incineração (SILVA *et al.*, 2012).

A incineração, em síntese, é a queima dos resíduos orgânicos a temperaturas que podem alcançar 1.250 °C, até atingir a combustão completa, de modo que os gases gerados na reação são oxidados a CO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub>O, reduzindo a praticamente zero a existência de moléculas com grande número de átomos nocivos. Apesar do bom funcionamento do processo, ele possui desvantagens, como altos custos de investimentos, de operação e manutenção; necessidade de mão de obra qualificada; problemas operacionais; inviabilidade com resíduos de menor poder

calorífico, havendo necessidade de combustão auxiliar; metais tóxicos podem ficar concentrados nas cinzas (BERTICELLI; PANDOLFO; KORF., 2017).

Diante do exposto, este estudo buscou avaliar a compostagem como uma forma alternativa de descarte de cadáveres de gatos contaminados com esporotricose, considerando que o processo atinge temperaturas superiores às temperaturas máximas relatadas como limite para crescimento de *Sporothrix* spp., que giram em torno dos 40 °C (FERREIRA, 2018). Essa indicação se dá devido à eficácia da compostagem para alcance de temperaturas acima dos 50 °C e pelo fato de o procedimento ser menos oneroso, pensando especialmente nas populações mais carentes, quando este quesito é mais preponderante. Para avaliar a eficácia da inativação fúngica pelo processo de compostagem, foram construídas cinco composteiras, sendo monitoradas diariamente as temperaturas durante a compostagem, efetuando-se a coleta e a cultura de amostras orgânicas para verificar a inativação do *Sporothrix* spp. em meio ao composto.

Para garantir a segurança do processo de compostagem e oferecer um serviço à sociedade, aproximando a academia do público, foi elaborado um Procedimento Operacional Padrão (POP) para o manuseio de carcaças de gatos com esporotricose durante a compostagem (CAPÍTULO 3).

## 1.1 Justificativa

As zoonoses são um problema de saúde única, uma vez que podem afetar, em algum grau, o meio ambiente, os animais e os seres humanos. O caso da esporotricose não se difere, apresentando justamente essa característica. Os custos emocionais e financeiros têm se mostrado elevados, uma vez que os tratamentos ocorrem por longos períodos, e a manifestação clínica do paciente pode se apresentar de maneira grave (SILVA *et al.*, 2024).

Deste modo, tão importante quanto o aprimoramento dos tratamentos é a ação preventiva, pretendendo reduzir ocorrências futuras desta doença. Dentre as formas preventivas, a adequada destinação das carcaças contaminadas reduz a perpetuação do fungo no ambiente e, conseqüentemente, reduzirá os novos casos de infecção. De acordo com Fernandes (2020 apud OMS 2017), para cada real investido em saneamento, o governo chega a economizar cerca de R\$ 9,00 em saúde. Assim, com as ações preventivas, a gestão estaria condizente com os pilares da sustentabilidade econômica, social e ambiental.

A compostagem de cadáveres felinos contaminados com esporotricose contribui diretamente para diversos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) estabelecidos pela

ONU. Especificamente, a compostagem está alinhada com o ODS 3 (Saúde e Bem-Estar), ao prevenir a disseminação de doenças zoonóticas, e com o ODS 6 (Água Potável e Saneamento), ao promover o manejo seguro de resíduos biológicos que poderiam contaminar o solo e os recursos hídricos. Além disso, a compostagem contribui para o ODS 12 (Consumo e Produção Responsáveis) e o ODS 15 (Vida Terrestre), ao transformar resíduos perigosos em compostos úteis para a agricultura, fechando o ciclo de nutrientes de forma sustentável e minimizando a necessidade de técnicas como a incineração, que possuem altos custos e impactos ambientais negativos. Dessa forma, a prática da compostagem não só atende às necessidades de biossegurança, mas também promove a economia circular, reutilizando resíduos que, de outra forma, seriam descartados de maneira menos sustentável.

Este estudo propõe a compostagem como alternativa para o descarte de cadáveres de gatos com esporotricose. Essa abordagem está alinhada à linha de pesquisa Tecnologias Ambientais, do Mestrado em Sustentabilidade e Tecnologia Ambiental do IFMG-BambuÍ, e contribui diretamente para os Objetivos de Desenvolvimento Sustentável da ONU.

## 2 PROBLEMA

A disposição inadequada de cadáveres de felinos infectados por *Sporothrix* spp. constitui um desafio crítico para a saúde pública, o bem-estar animal e a preservação ambiental, uma vez que pode favorecer a persistência e disseminação do patógeno no ecossistema. Métodos tradicionais de descarte, como o enterro e a incineração, apresentam restrições significativas, incluindo elevado custo operacional e impactos ambientais adversos.

Diante desse cenário, a compostagem pode ser considerada uma alternativa sustentável, como estratégia segura e eficiente na redução da propagação do patógeno, garantindo a biossegurança do composto final e minimizando os riscos sanitários e ambientais associados ao manejo desses resíduos?

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 Objetivo geral

Avaliar a eficácia e a segurança ambiental da compostagem como método de manejo de cadáveres de felinos infectados por *Sporothrix* spp., visando reduzir a propagação do patógeno e proteger a saúde humana, animal e ambiental.

#### 3.2 Objetivos específicos

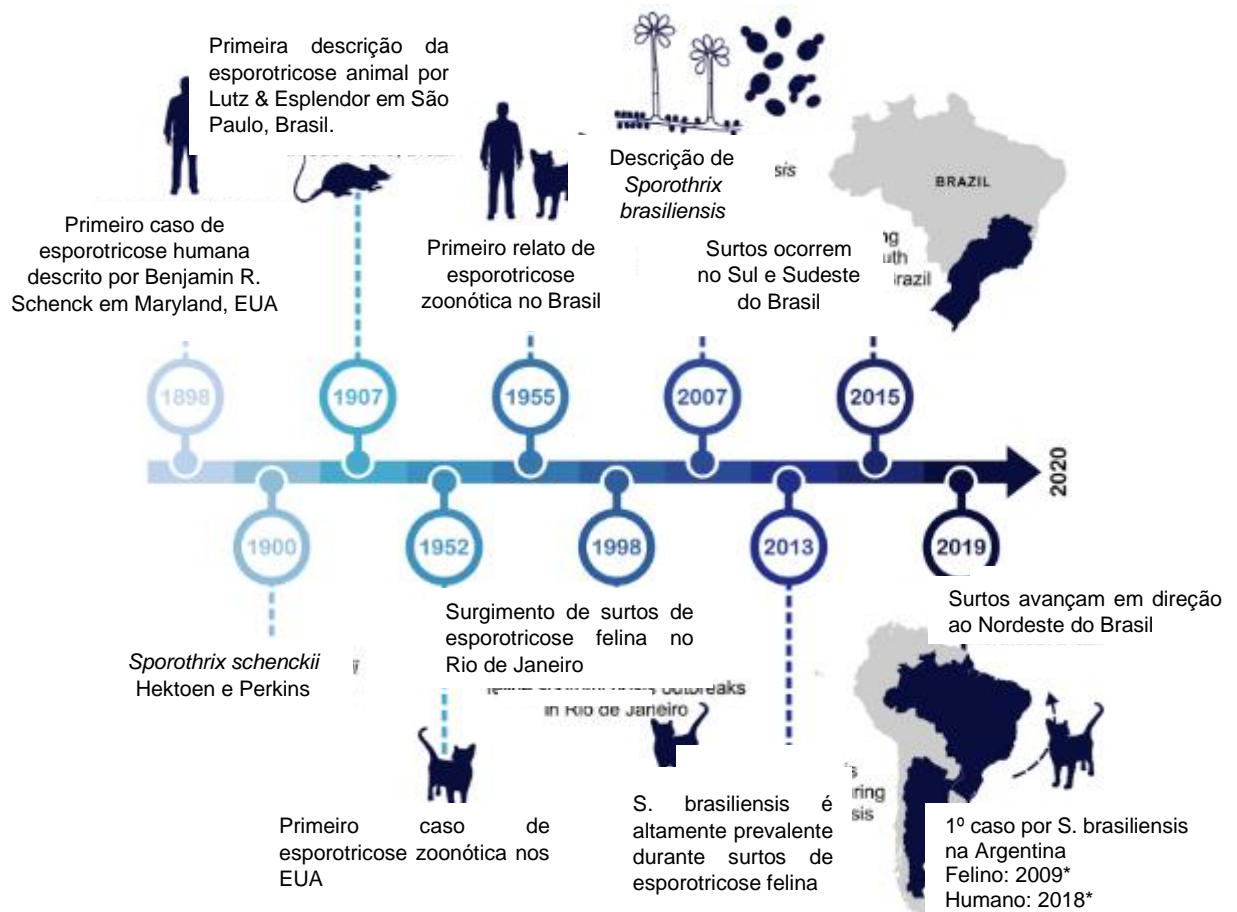
- Avaliar a eficácia da compostagem na inativação de *Sporothrix* spp. em cadáveres de felinos contaminados, considerando a influência da temperatura ao longo do tempo;
- Realizar análises microbiológicas do composto resultante, determinando a viabilidade residual de *Sporothrix* spp.;
- Efetuar análises químicas do composto resultante, especificando as características químicas do biocomposto;
- Desenvolver e validar um Procedimento Operacional Padrão (POP) para a compostagem segura de cadáveres contaminados, garantindo a replicabilidade do método e a segurança ambiental e sanitária.

## 4 REFERENCIAL TEÓRICO

### 4.1 Esporotricose

A esporotricose é uma doença causada pela infecção de fungos do gênero *Sporothrix*. Esse fungo foi descrito a primeira vez há mais de um século (Figura 1) pelo estudante de medicina Benjamin Schenck (OLIVEIRA, 2009; BARROS *et al.*, 2010; FERREIRA, 2018).

Figura 1 - Linha do tempo - evolução da esporotricose



Cronograma dos principais eventos inovadores que contribuíram aos 120 anos de história da esporotricose humana e animal. Apesar de uma doença centenária, o surgimento do *Sporothrix brasiliensis* como principal agente durante a esporotricose felina, doenças epizooticas e consequente transmissão zoonótica no Sul e Sudeste do Brasil só foi observado em décadas recentes (1998–2020).

Fonte: Adaptado de RODRIGUES *et al.*, 2020

Mesmo após todo esse tempo de conhecimento, a esporotricose ainda pode ser considerada uma doença emergente em várias regiões do mundo (Figura 2), especialmente no Brasil (Figura 3), no que diz respeito às últimas décadas (GREMIÃO *et al.*, 2017).

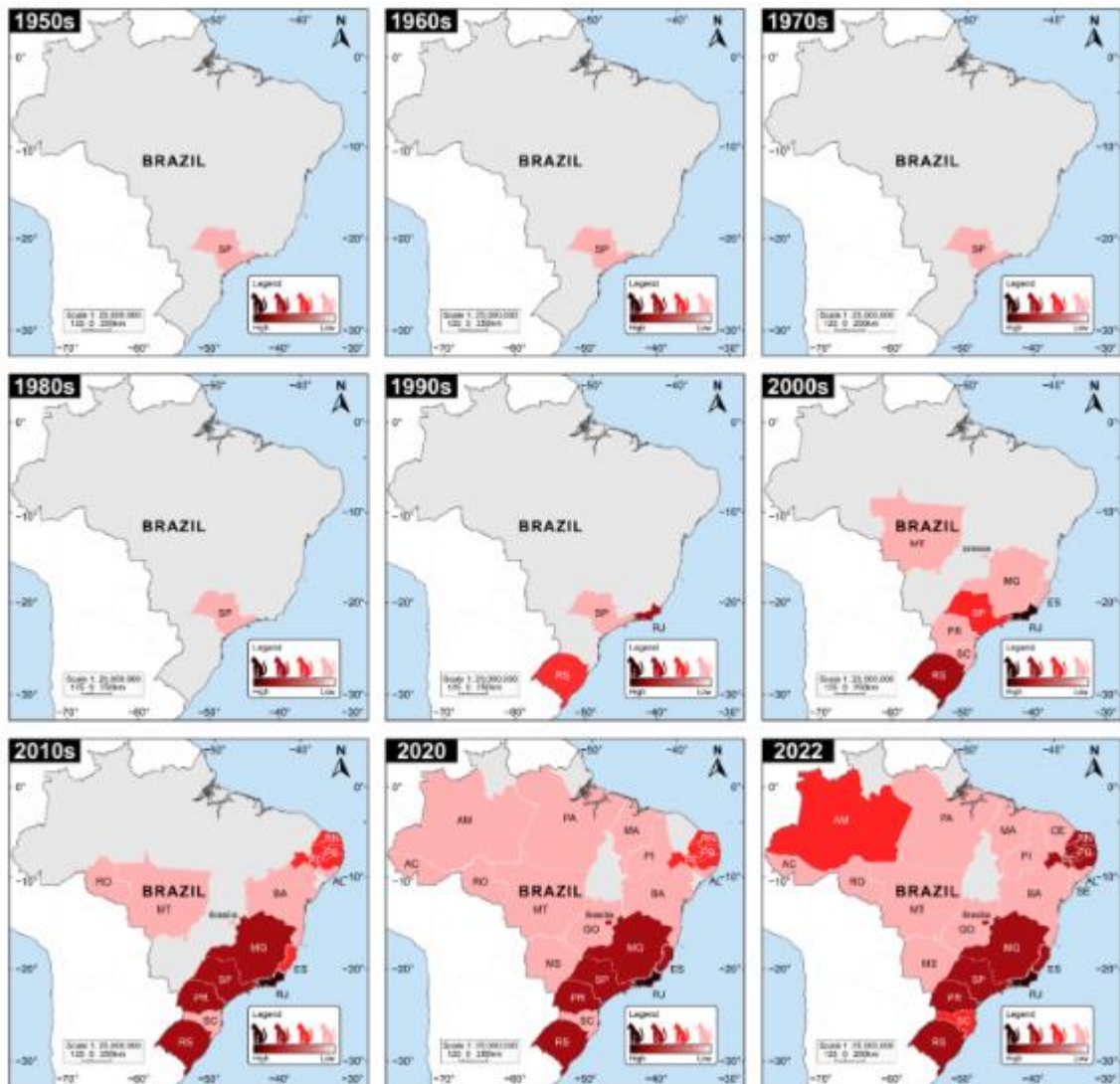
Figura 2 - Casos de esporotricose felina em todo o mundo, 1952–2016.



Desde meados do século 20, a esporotricose felina ocorre tipicamente em casos isolados e pequenos surtos, e apenas alguns relatos de transmissão zoonótica foram descritos na literatura. A região Sudeste do Brasil possui o maior número absoluto de casos com prevalência esmagadora de *S. brasiliensis* durante surtos epizooticos. Fora do Brasil, a maioria dos casos felinos se deve ao agente clássico *S. schenckii*.

Fonte: Adaptado de GREMIÃO *et al.*, 2017.

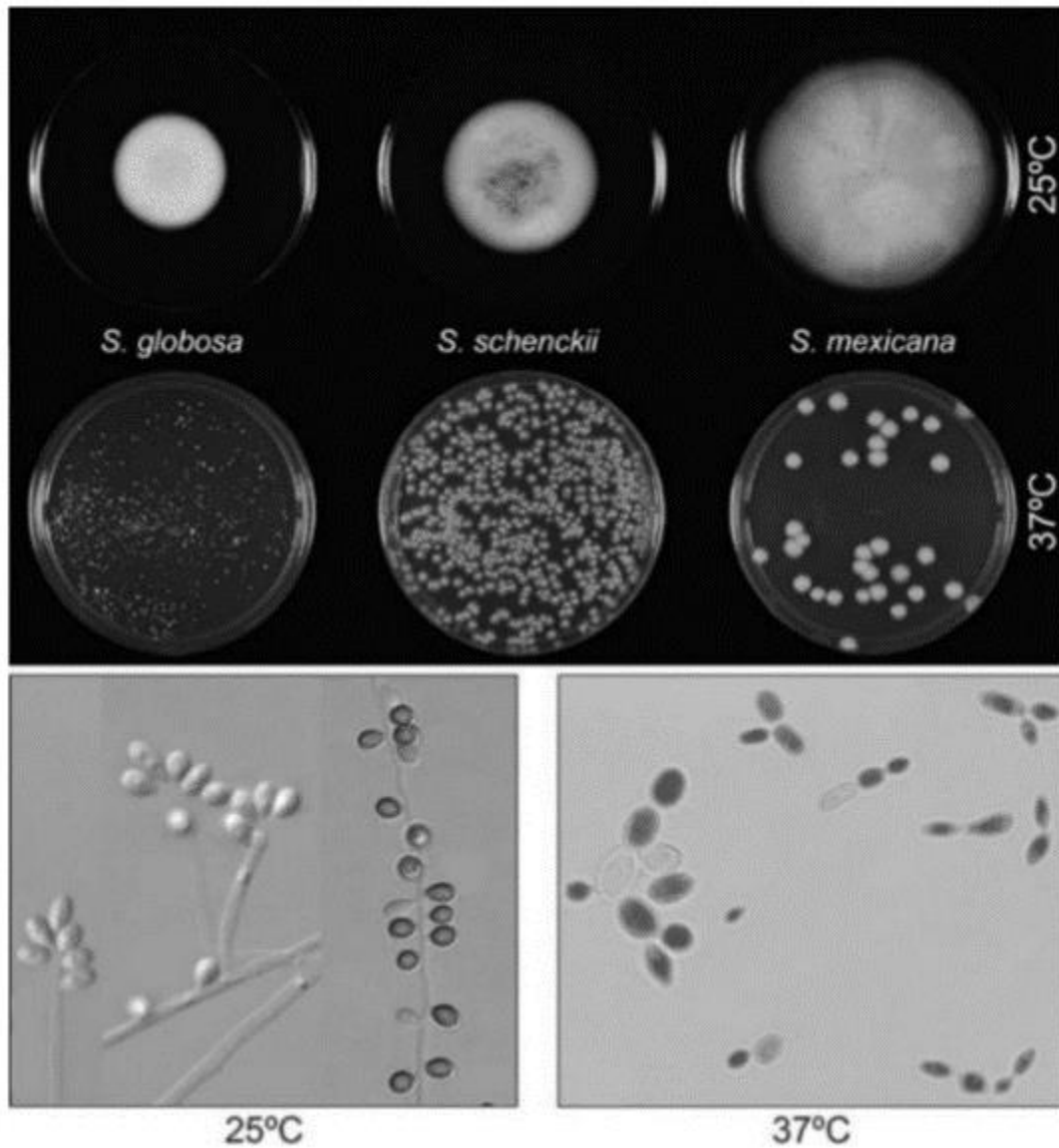
Figura 3 - Evolução dos casos de esporotricose felina no Brasil, 1950–2022.



Fonte: RODRIGUES *et al.*, 2022

*Sporothrix* sp. é um fungo termodimórfico, que apresenta diferentes formas quando presente no ambiente na forma parasitária. No ambiente, esse fungo pode ser encontrado no solo, em plantas e em materiais em decomposição na sua forma micelial, quando a temperatura se mantém em torno dos 25 °C. No hospedeiro, o fungo permanece na forma leveduriforme, podendo suportar temperaturas acima dos 40 °C (Figura 4) (ETCHECOPAZ, 2021.; CAMPOS, R. M. S., 2022).

Figura 4 - Termodimorfismo *Sporothrix* spp. visto à microscopia eletrônica

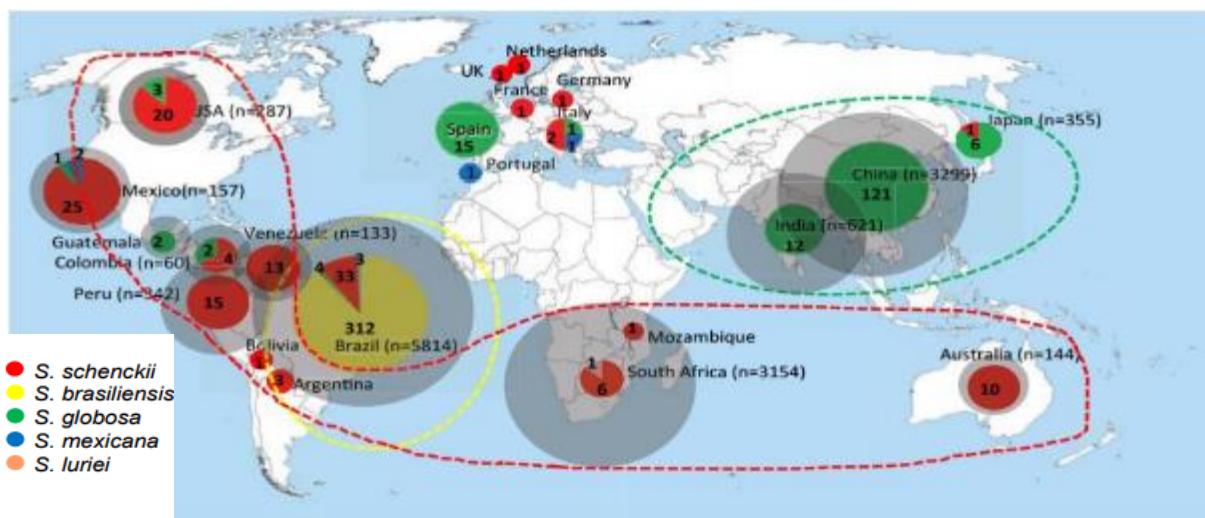


Quando crescido em meio *Sabouraud* sólido (25 °C), exibe colônias com superfície rugosa e coloração variando do branco ao creme, com bordas regulares. Ao crescer a 37 °C, surgem células leveduriformes também com coloração branca/creme. Nas microscopias à esquerda (25 °C), estão interessados como hifas, hialinas e septadas, onde os conídios com crescimento simpodial estão fixados. Na imagem à direita, observamos as leveduras (37 °C) com formato oval ou de bastão, medindo em torno de 5 μm.

Fonte: Adaptado de CAMPOS, R. M. S., 2022

Várias espécies crípticas são descritas como patogênicas (Figura 5), sendo as principais: *S. globosa*, muito comum no continente asiático; *S. mexicana*, relatada no México e em alguns países Europeus; e, especialmente, *S. brasiliensis*, que está se disseminando pela América do Sul a partir do Brasil, cursando com quadros graves da doença, principalmente nos gatos, seu principal hospedeiro, e em humanos (Figura 6) (ZHANG *et al.*, 2015).

Figura 5 - Distribuição geográfica das espécies de *Sporothrix* spp.

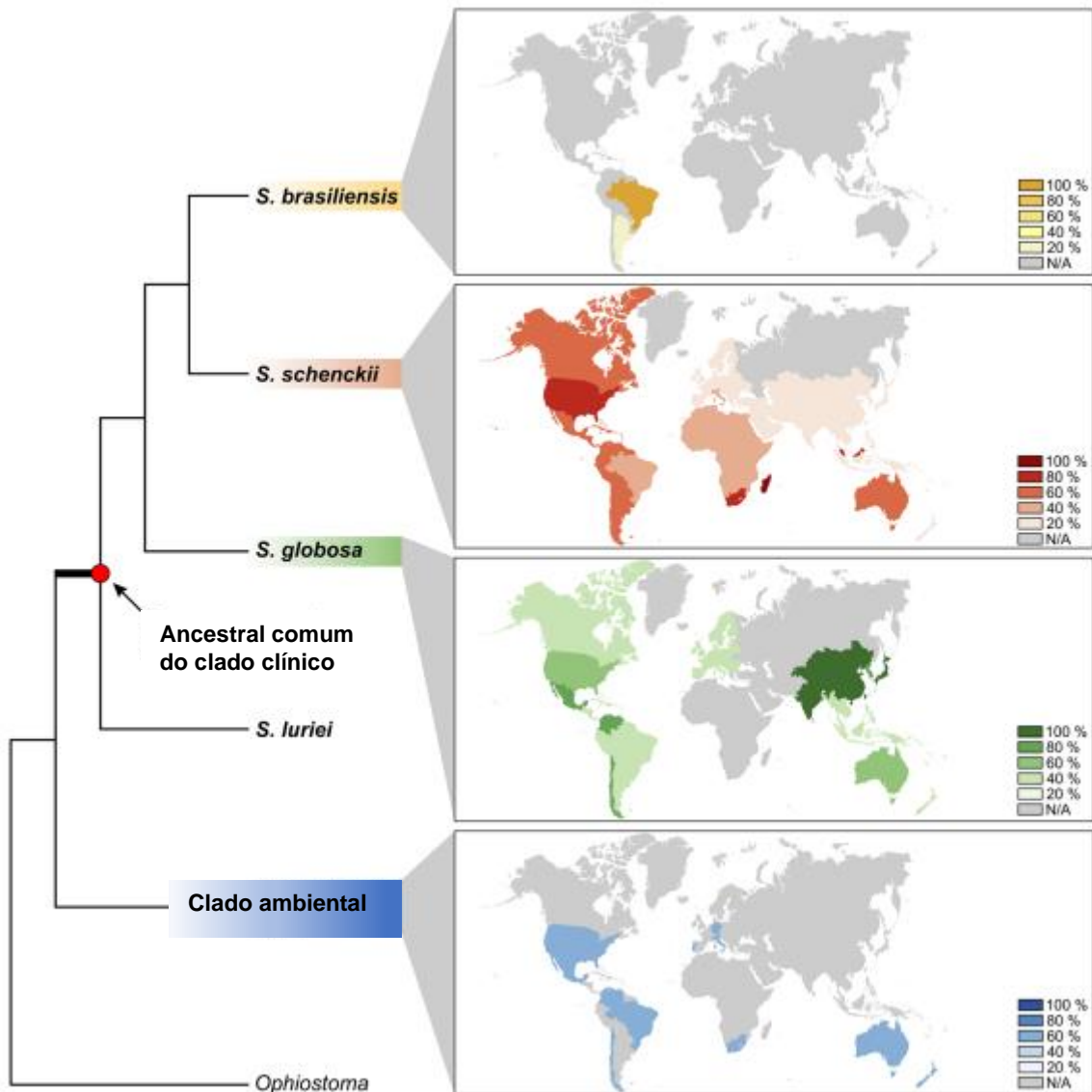


Distribuição geográfica da esporotricose causada por *S. brasiliensis*, *S. schenckii* e *S. globosa* segundo relatos de casos publicados ao longo de 70 anos, em comparação com isolados sequenciados e com expressão de probabilidades estatísticas de que a espécie endêmica prevalente relatada em publicações históricas sem dados de sequência. As amostras foram categorizadas como espécimes sequenciados e não sequenciados. Os tamanhos das circunferências são aproximadamente proporcionais ao número de casos/cepas incluídos. Os números relatados dentro das pizzas denotam o número de cepas examinadas. Principais áreas endêmicas indicadas por linhas pontilhadas.

Fonte: Adaptado de ZHANG *et al.*, 2015.

No Brasil, a partir da década de 1990, a esporotricose passou a ser uma importante zoonose, criando um grave problema de saúde pública no Rio de Janeiro (DA SILVA *et al.*, 2012; FERREIRA, 2022). A partir de então, a doença se espalhou para diversas regiões do país e até outros países da América do Sul, como Argentina e Chile (ESCOBAR, RAMOS, ROJAS., 2024; ETCHECOPAZ, 2021). Nesse cenário, a esporotricose deixou de ser uma doença ocupacional. A maioria dos casos, que eram decorrentes do trabalho com a terra (OROFINO-COSTA *et al.*, 2017; BATISTA, 2023), passaram a ser urbanos. O gato doméstico passou a atuar como o principal disseminador da doença, uma vez que o agente etiológico se adaptou muito bem a essa espécie (BISON; PARENTONI; BRASIL., 2020). Contudo, apesar da doença ganhar um caráter mais urbano, ela ainda deve ser considerada como ocupacional, pois atinge, substancialmente, médicos veterinários (COSTA, 2023).

Figura 6 - Distribuição global do *Sporothrix* spp.



A recente distribuição global de espécies de *Sporothrix* representa um risco substancial para a saúde pública. Observe que as diferentes espécies têm uma distribuição geográfica muito particular, sendo *S. brasiliensis* um fungo restrito ao Sul e Sudeste do Brasil até meados de 2010. Por outro lado, *S. globosa* é uma espécie emergente na Ásia, embora seja encontrada com menos frequência em outras partes do mundo, como nas Américas e na Europa. A pesquisa é baseada, principalmente, em uma série de dados publicados na literatura.

Fonte: Adaptado de RODRIGUES *et al.*, 2020.

Dentre as medidas de controle, existem as ações socioeducativas para a população, principalmente na conscientização da tutoria responsável, uma vez que os gatos possuem vida semidomiciliada, tendo contato com diversos outros animais e com o meio ambiente, estando susceptíveis às doenças infecciosas, como é o caso da esporotricose, que ainda é uma doença zoonótica (BISON; PARENTONI; BRASIL., 2020).

O tratamento da doença e o adequado descarte do cadáver do animal quando vem a óbito devido à esporotricose são medidas que contribuem para reduzir a propagação da doença. Quanto ao tratamento, diversas abordagens podem ser utilizadas, como a ressecção cirúrgica da lesão, a utilização dos fármacos Fluconazol, Terbinafina e Anfotericina B, associados à termoterapia local. Todavia, o fármaco de eleição para o tratamento da esporotricose felina e humana tem sido o Itraconazol, na dose de 100 mg/dia (LYRA *et al.*, 2021). Em relação ao descarte, há relatos de tutores que, após o óbito de seu gato infectado pelo *Sporothrix* spp., enterram ou abandonam seus cadáveres em terrenos baldios, o que pode favorecer a propagação do fungo no meio ambiente (DUVAL, 2019). De acordo com Silva *et al.* (2012); Santos (2018); Duval (2019), a adequada forma de descarte de material contaminado com secreções e sangue, juntamente com os cadáveres, deve ser em saco branco leitoso com símbolo de risco biológico, encaminhado, em seguida, para incineração. Essa demanda pode ser levada às clínicas veterinárias e, principalmente, ser acionado o serviço de zoonose.

#### **4.2 Compostagem e inativação microbiológica**

Segundo Pillai; Ricke (2002), as principais origens de patógenos presentes em resíduos animais advêm do trato intestinal dos animais. A quantidade e as variedades de patógenos humanos encontrados variam conforme a espécie animal, a localização geográfica da propriedade e as características físico-químicas dos resíduos.

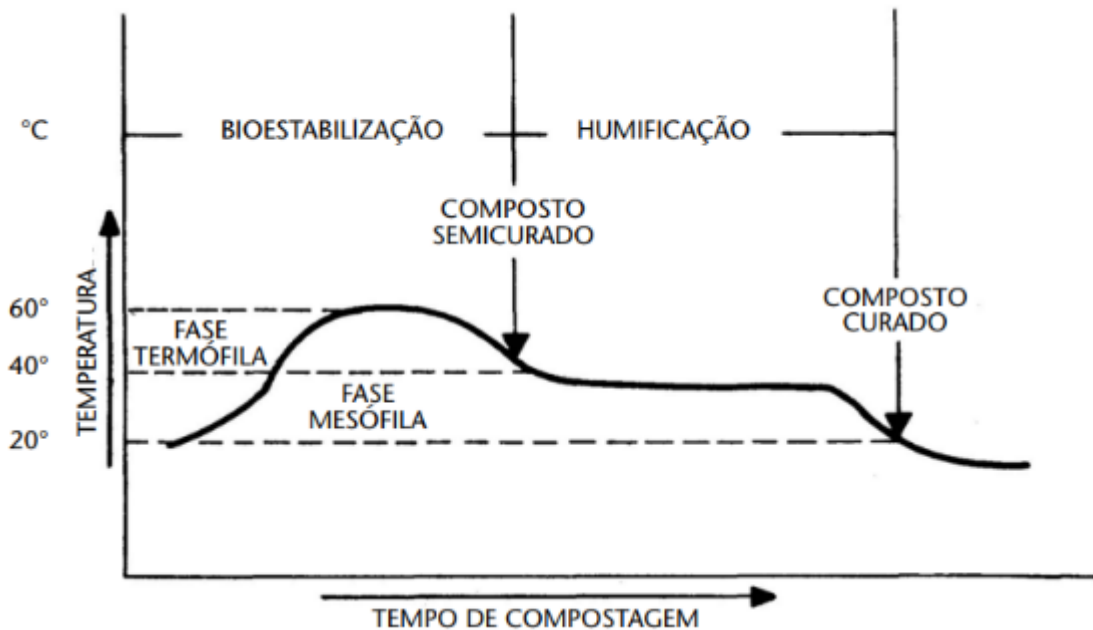
A compostagem é um processo controlado de decomposição aeróbica e estabilização da matéria orgânica. Esse processo ocorre em condições que permitem a elevação da temperatura acima de 50 °C devido à produção de calor por atividade biológica. O resultado é um produto final estável, higienizado, rico em compostos húmicos e seguro para uso no solo, sem causar danos ao meio ambiente. Esse método de sanitização satisfatório de cadáveres é uma solução já utilizada em setores como a avicultura, suinocultura e bovinocultura (ORRICO JUNIOR *et al.*, 2010; MURRAY *et al.*, 2007; OTENIO *et al.*, 2010 *apud* SOUZA *et al.*, 2019).

Conforme Heck (2013); Souza (2019), a legislação brasileira não estabelece parâmetros específicos para as características microbiológicas ou físicas no processo de compostagem de resíduos animais. Contudo, alguns estudos adotam as diretrizes estabelecidas pela Resolução 375/2006 do Conselho Nacional de Meio Ambiente (CONAMA), que diz:

“...desde que a biomassa atinja uma temperatura mínima de 40°C, durante pelo menos cinco dias, com a ocorrência de um pico de 55 °C, ao longo de quatro horas sucessivas durante este período” (BRASIL, 2006).

A compostagem passa por quatro fases distintas (Figura 7). A primeira é a fase mesofílica, em que as temperaturas são moderadas (até aproximadamente 40 °C) e dura entre dois e cinco dias. Em seguida, vem a fase termofílica, durante a qual a temperatura do material sobe acima de 40 °C, acelerando a degradação; pode durar de alguns dias a até aproximadamente quatro meses. A terceira é a de resfriamento, marcada pela redução da temperatura até níveis próximos à temperatura ambiente. Finalmente, na fase de maturação, o composto se estabiliza completamente, resultando em um material humificado e isento de toxinas (VILHENA, 2018).

Figura 7 - Fases de um processo de compostagem



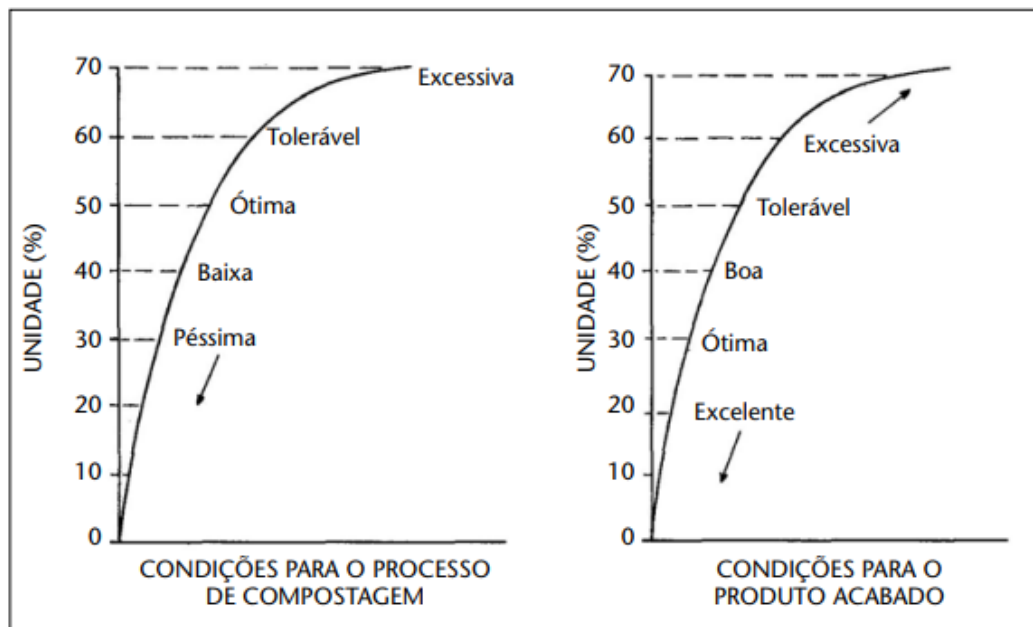
Fonte: Vilhena, 2018

Valente *et al.* (2009); Bidone (2001); de Jesus (2018) afirmam que, devido à compostagem ser um processo puramente microbiológico, a sua eficiência depende da ação e interação de microrganismos, os quais são dependentes da ocorrência de condições favoráveis, como a temperatura, a umidade, a aeração, o pH, o tipo de compostos orgânicos existentes, a relação carbono/nitrogênio (C/N), a granulometria do material e as dimensões das leiras.

### 4.2.1 Umidade

A presença de água é essencial para o adequado desenvolvimento do processo de compostagem. Sendo um processo biológico, a água é crucial para as necessidades fisiológicas dos microrganismos. Em teoria, o nível de umidade ideal para promover a decomposição dos resíduos orgânicos seria de 100%. No entanto, na prática, busca-se equilibrar e manter a umidade da massa de compostagem entre 40% e 60% (Figura 8) (MERKEL,1981; INÁCIO & MILLER, 2009 e PEREIRA NETO, 2007).

Figura 8 - Nível de umidade no processo de compostagem e no produto acabado



Fonte: Vilhena, 2018

### 4.2.2 Aeração

A compostagem aeróbica precisa de oxigênio ou ar para atender à necessidade de oxigênio dos microrganismos durante a primeira e segunda fases do processo, além de ajudar a controlar a umidade e a temperatura do material que está sendo compostado (PAIVA, 2008). Parte dessa energia é consumida no metabolismo dos microrganismos, enquanto o restante é liberado em forma de calor. A aeração também atua como um método para controlar a temperatura, reduzir a emissão de odores e, assim, aumentar a eficiência do processo (DE JESUS, 2018).

### 4.2.3 Temperatura

A temperatura desempenha um papel crucial, especialmente na velocidade de biodegradação do material e na inativação de patógenos presentes no início do processo. Manter uma temperatura elevada (entre 50 e 75 °C) no início do processo, com um tempo de exposição adequado, é essencial para eliminar certas espécies (Tabela 1) (DAL BOSCO, 2017).

Tabela 1 - Tempo de contato (minutos) e temperatura (°C) para a destruição de alguns microrganismos patogênicos

Microrganismo	Temperatura (°C)	Tempo (min.)
<i>Salmonella typhi</i>	46	30
<i>Salmonella</i> spp.	60	15 a 30
<i>Shigella</i>	55	60
<i>Escherichia coli</i>	60	15 a 20
Entamoeba <i>histolytica</i>	68	instantâneo
<i>Taenia saginata</i>	71	5
<i>Trichinella spiralis</i>	50	60
<i>Necatur americanus</i>	45	50
<i>Brucella abortus</i>	45	50
Estreptococos fecais	70	60
Coliformes fecais	70	60
<i>Ascaris</i> spp.	55	60

Fonte: Adaptado de EPA (1986 apud SILIA, 2015)

### 4.2.4 Granulometria

O tamanho das partículas dos materiais destinados à compostagem influencia significativamente o processo. Partículas menores oferecem uma maior superfície para a ação microbiana, o que acelera a decomposição e aumenta a eficiência do processo. Contudo, se as partículas forem muito pequenas, podem se compactar, prejudicando a aeração essencial para a compostagem (KIEHL, 1985).

#### **4.2.5 pH**

O pH do composto pode servir como indicador do estágio de compostagem de resíduos orgânicos. Segundo a literatura, ocorre uma queda inicial do pH para aproximadamente 5,0 nas primeiras horas do processo de compostagem. Posteriormente, à medida que o processo evolui e o composto se estabiliza, observa-se um aumento gradual do pH, alcançando valores finais entre 7 e 8 (REZENDE, 2015). A faixa de pH considerada ótima para os microrganismos responsáveis pela compostagem varia de 5,5 a 8,5. Valores extremos de pH no início do processo podem resultar em uma diminuição da eficiência e atrasar a decomposição em alguns dias. No entanto, ao final do processo, o pH tende a se estabilizar na faixa de 7,0 a 8,5, indicando condições ideais para a conclusão eficiente da compostagem (FIALHO, 2005; KIEHL, 1985).

#### **4.2.6 Relação C/N**

Esses dois elementos químicos desempenham papéis essenciais na atividade microbiana, pois o carbono é a principal fonte de energia, enquanto o nitrogênio é fundamental para a respiração celular. Essa relação é um indicador das diferentes etapas do processo de compostagem, em que, inicialmente, a absorção segue uma proporção de, aproximadamente, 30 partes de carbono para uma de nitrogênio, reduzindo-se para 10 partes de carbono para uma de nitrogênio ao final. Na fase inicial, a microbiota consome trinta partes de carbono para cada parte de nitrogênio. O carbono assimilado é utilizado como energia, com dez partes transformadas de mineral para forma orgânica e incorporadas ao protoplasma celular dos organismos, enquanto as outras vinte partes são liberadas na atmosfera como dióxido de carbono (KIEHL, 1985).

### **4.3 Parâmetros químicos gerais do solo**

A análise dos parâmetros químicos do solo, como pH, teores de cálcio (Ca), magnésio (Mg), fósforo (P) e potássio (K), é fundamental para se compreender a fertilidade e a saúde do solo, influenciando diretamente a produtividade agrícola. A importância desses nutrientes na fertilidade do solo é amplamente reconhecida. Por exemplo, o cálcio e o magnésio desempenham papéis cruciais na formação de agregados do solo, melhorando sua estrutura física e facilitando a aeração e a drenagem. Além disso, o fósforo é essencial para o

desenvolvimento radicular e a floração das plantas, enquanto o potássio atua na regulação osmótica e na ativação de enzimas (MOREIRA; HEINRICHS; FREITAS, 2008).

#### **4.3.1 pH do Solo**

A classificação química e agrônômica do pH do solo é uma ferramenta crucial para se entender a acidez ou alcalinidade de um solo, influenciando diretamente a disponibilidade de nutrientes essenciais para as plantas e, portanto, a produtividade agrícola. O pH do solo é definido como a medida da concentração de íons de hidrogênio ( $H^+$ ) presentes na solução do solo. Ele pode ser classificado em três categorias principais: ácido, neutro e alcalino, com base no valor do pH (RAIJ *et al.*, 2001).

##### **4.3.1.1 Classificação Química do pH**

A classificação do solo quanto ao pH é um fator determinante para a disponibilidade de nutrientes essenciais às plantas. Solos com pH inferior a 7 são considerados ácidos, uma condição resultante do aumento da concentração de íons de hidrogênio ( $H^+$ ) na solução do solo. Essa acidez pode comprometer a absorção de elementos essenciais, como cálcio (Ca), magnésio (Mg) e fósforo (P), influenciando negativamente o desenvolvimento vegetal. Para mitigar esse efeito, a aplicação de corretivos, como o calcário, é uma prática comum, promovendo a elevação do pH e melhorando a fertilidade do solo. Quando o solo apresenta pH igual a 7, é classificado como neutro. Essa condição favorece um equilíbrio químico adequado para a disponibilidade e absorção dos nutrientes, proporcionando um ambiente propício ao crescimento das plantas e adequado para uma ampla gama de culturas agrícolas. Por outro lado, solos com pH superior a 7 são denominados alcalinos. A alcalinidade decorre da presença de compostos que elevam a concentração de íons hidróxido ( $OH^-$ ), o que pode limitar a disponibilidade de nutrientes como ferro (Fe), manganês (Mn) e fósforo (P), afetando a nutrição vegetal. Para reduzir a alcalinidade e restabelecer a disponibilidade de nutrientes, a aplicação de agentes acidificantes, como o enxofre elementar, pode ser recomendada (SOUSA; LOBATO, 2004).

##### **4.3.1.2 Classificação Agrônômica do pH**

Do ponto de vista agrônomo, a classificação do pH do solo está diretamente relacionada à sua adequação para o cultivo vegetal, influenciando a escolha dos corretivos e as práticas de manejo agrícola. Solos com pH entre 4,0 e 5,5 são predominantemente encontrados em regiões tropicais e subtropicais, onde a elevada lixiviação favorece a acidificação. Embora algumas leguminosas sejam adaptadas a essas condições, a acidez excessiva pode limitar a disponibilidade de nutrientes essenciais, exigindo a aplicação de corretivos, como o calcário, para elevar o pH e melhorar a fertilidade. Já a faixa de pH entre 5,5 e 7,0 é considerada ideal para a maioria das culturas agrícolas, pois proporciona um equilíbrio adequado na disponibilidade de nutrientes e favorece a atividade biológica do solo, sendo mínima ou inexistente a necessidade de correção em valores próximos a 6,5. Por outro lado, solos com pH entre 7,0 e 8,5 são classificados como alcalinos, podendo apresentar restrições para diversas culturas, devido à menor solubilidade de micronutrientes como ferro (Fe), zinco (Zn) e manganês (Mn). Nesse caso, o manejo pode envolver a aplicação de acidificantes, como ácidos orgânicos ou enxofre elementar, além da seleção de espécies vegetais adaptadas a essas condições. Dessa forma, compreender a influência do pH na dinâmica do solo e no desenvolvimento vegetal é essencial para a implementação de práticas agrícolas mais eficientes e sustentáveis (SOUSA; LOBATO, 2004; NOVAK *et al.*, 2021; SCREEN AGRO, 2024).

#### **4.3.2 Cálcio (Ca) e Magnésio (Mg)**

Cálcio e magnésio são cátions básicos que contribuem para a inativação da acidez do solo e são essenciais para o crescimento das plantas. A disponibilidade desses nutrientes está associada à soma de bases (SB) e à capacidade de troca catiônica (CTC) do solo. Pesquisas indicam que áreas com diferentes usos do solo apresentam variações nos teores de Ca e Mg, refletindo as práticas de manejo adotadas (NOVAK *et al.*, 2021); (SANTOS; GONTIJO; NICOLE, 2012).

### **4.3.3 Fósforo (P)**

O fósforo é um nutriente vital para o desenvolvimento radicular e a floração das plantas. Entretanto, sua mobilidade no solo é limitada, tornando sua distribuição espacial bastante heterogênea. Estudos de variabilidade espacial mostram que os teores de P podem apresentar alta variabilidade, influenciada por fatores como adubação e características intrínsecas ao solo (SANTOS; GONTIJO; NICOLE, 2012).

### **4.3.4 Potássio (K)**

O potássio atua na regulação osmótica e na ativação de enzimas nas plantas. Assim como o fósforo, o K pode apresentar distribuição espacial variável no solo. Pesquisas demonstram que os teores de K podem ser classificados como elevados em determinadas áreas, refletindo práticas de adubação específicas e manejo do solo (SANTOS; GONTIJO; NICOLE, 2012).

## **4.4 Objetivos de Desenvolvimento Sustentável – ODS**

De acordo com a Nações Unidas – Brasil (2024), os Objetivos de Desenvolvimento Sustentável representam um chamado mundial para eliminar a pobreza, preservar o meio ambiente e o clima e assegurar que todos, em qualquer lugar, possam viver em paz e prosperidade.

Ao todo, somam-se 17 objetivos (Figura 9) arrojados e interdependentes que tratam das principais questões de desenvolvimento enfrentadas por pessoas no Brasil e ao redor do mundo.

Figura 9 - Objetivos de Desenvolvimento Sustentável da ONU



Fonte: Adaptado de Nações Unidas – Brasil, 2024.

Dentre os 17 objetivos, o de número seis trata das questões de saneamento, que têm sido um desafio na gestão nacional. Segundo o SNIS (Sistema Nacional de Informações em Saneamento Básico) (2020), 93,4% da população urbana possuem abastecimento de água, com o agravante de que 40,1% da água potável disponibilizada não são contabilizados ou são perdidos na distribuição. Apenas 63,2% possuem atendimento de coleta de esgoto sanitário, e somente 50,8% do esgoto gerado no país são tratados. Da população urbana, 98,7% têm coleta domiciliar dos resíduos sólidos, contudo, 14,6% dos resíduos sólidos urbanos coletados são dispostos em lixões, e apenas 36,3% dos municípios brasileiros possuem coleta seletiva.

Um saneamento precário está diretamente ligado ao maior risco de doenças para a população, como é o caso da esporotricose, que, de acordo com Silva *et al.* (2012), na última década, havia se tornado evidente como uma doença urbana na região metropolitana do estado do Rio de Janeiro, especialmente em áreas com infraestrutura e saneamento deficientes.

Assim, os objetivos estão interligados, ou seja, o saneamento precário está diretamente ligado a pessoas em estado de maior vulnerabilidade. Como dito por Vieira (2023), a pobreza intensifica a disseminação de zoonoses por vários fatores, resultando na ausência de saneamento básico, no difícil acesso aos serviços de saúde e na falta de acesso à informação.

O aumento no surgimento de doenças infecciosas tem sido relacionado à pressão humana sobre o meio ambiente. A destruição de habitats, a poluição, a extinção de espécies, a propagação de espécies invasoras e as mudanças climáticas são exemplos dessa pressão, que pode facilitar o aparecimento de novas doenças ou a disseminação de patógenos para fora de seus ambientes naturais. Aproximadamente dois terços das doenças infecciosas emergentes são

zoonóticas, com cerca de 70% delas originando-se de animais selvagens. Nesse contexto, o conceito de saúde única torna-se cada vez mais utilizado. Saúde única é definida como um esforço colaborativo e multidisciplinar, operando em níveis locais, nacionais e globais para garantir a saúde ideal para humanos, animais e o meio ambiente (CARVALHO; GUIMARÃES, 2021).

## 5 MATERIAL E MÉTODOS

### 5.1 Composteira-piloto e composteiras em triplicata

Neste estudo, visou-se verificar a capacidade de inativação do fungo do gênero *Sporothrix*, presente nos cadáveres de gato doméstico (*Felis silvestris catus*), por meio do processo de compostagem estática com aeração passiva e a avaliação das características químicas do composto.

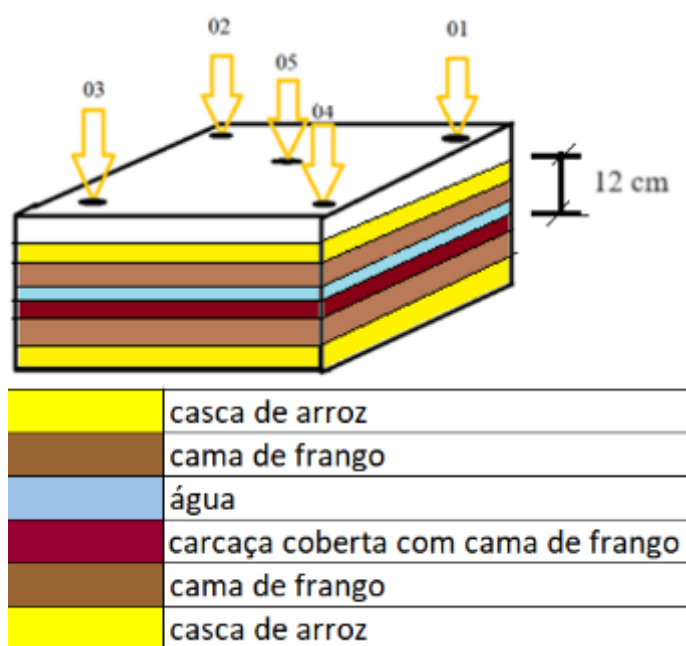
Todos os cadáveres deste experimento vieram do Centro de Controle de Zoonoses do município de Contagem. Os animais recebidos por este setor público eram previamente diagnosticados com esporotricose. Ainda assim, após período de estadia, os cadáveres congelados foram submetidos a exame citológico e de cultura fúngica para confirmação do diagnóstico antes que fossem transportados para o município de Bambuí.

A condução do experimento ocorreu em um galpão nas dependências do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Minas Gerais (IFMG) - *Campus* Bambuí. Esse galpão possuía barreira física impedindo o acesso de humanos e animais, como aves e cães que circulam pelo instituto, conferindo biossegurança ao experimento. O processo de compostagem foi realizado em estrutura de alvenaria com dimensões internas de 400x600x600 mm, seguindo dois modelos de composição estrutural da compostagem.

O primeiro modelo, que serviu como projeto-piloto, foi realizado empiricamente conforme alguns modelos utilizados em descarte de aves, em que é forrada uma base de 5 cm de altura com casca de arroz; acima desta camada, foram despejados outros 5 cm de cama de frango e, sobre essa camada, foi depositado o cadáver a ser decomposto. Em seguida, os cadáveres foram cobertos por cama de frango até uma altura de 5 cm acima deles e, por fim, outra camada de 5 cm de casca de arroz. A escolha dessas camadas baseou-se na necessidade de proporcionar uma adequada aeração e drenagem, além de criar uma barreira física que ajudasse na retenção de calor, essencial para atingir as temperaturas necessárias à inativação de patógenos (OTENIO *et al.*, 2010).

O segundo modelo foi realizado em triplicata com a composição estrutural semelhante à utilizada por Irfan *et al.* (2020): 1:10 partes em peso de casca de arroz como agente de volume, 1 parte em peso do cadáver de gato, 2 partes em peso de cama de frango, e 1/2 parte de água em peso (Figura 10). Apenas um cadáver de gato previamente diagnosticado com esporotricose foi compostado em cada uma das três composteiras.

Figura 10 - Composição estrutural das composteiras e identificação dos pontos de aferição de temperatura



Fonte: O autor

A escolha dos tempos de compostagem foi baseada em estudos anteriores, que indicam que a fase termofílica, necessária para a inativação de patógenos, pode durar de várias semanas a meses (SCHALCH *et al.*, 2015). Por isso, as composteiras foram mantidas por 205 dias, no caso do piloto, e 170 dias nas demais, para garantir que todas as fases da compostagem fossem completas. A temperatura foi monitorada duas vezes ao dia, em cinco pontos distintos, a uma profundidade de 12 cm (Figura 10), pelo período de 115 dias na composteira-piloto e 86 dias nas demais. Posteriormente a esse período, as composteiras não foram manuseadas por 60 dias. Após esses dois meses, elas foram revolvidas uma vez por semana no período de quatro semanas. Em seguida, uma fração do composto de cada uma foi coletada para que fossem realizadas as análises químicas, as quais ocorreram no Laboratório de Solos do IFMG-Bambuú.

A frequência das coletas de amostras para análise foi definida com base na literatura, que sugere que a maioria dos patógenos, incluindo fungos, pode ser inativada em temperaturas superiores a 50°C em um período contínuo de alguns dias a semanas (SOUZA *et al.*, 2019). As coletas iniciais foram planejadas para 24 horas após o início da compostagem, seguidas de coletas periódicas durante o período termofílico, para avaliar a persistência de *Sporothrix* spp. No 15º dia de compostagem do piloto, uma amostra biológica foi coletada com swab estéril sobre o local onde se encontravam as lesões no cadáver e mantida em meio Stuart até o momento de se realizar a cultura fúngica. Esta cultura foi realizada pelo Laboratório de

Biologia Molecular e Micologia (LABIOMIC) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), utilizando-se o meio Mycosel, que apresenta alta seletividade e isola *Sporothrix* spp. Com as demais composteiras, as coletas começaram após 24 horas do início da compostagem de modo idêntico, sendo que as culturas dessas amostras foram realizadas no Laboratório de Biologia Molecular do próprio IFMG-Bambuí. Após 10 dias de cultivo, as placas cultivadas foram encaminhadas para a UFMG para averiguação de possível crescimento fúngico.

Consideraram-se a média de valores de temperatura, o tempo de permanência com valores da temperatura acima de 50 °C e os parâmetros químicos do composto dos dois modelos. A análise química do composto foi realizada no Laboratório de Análise de Solos do IFMG-Bambuí. Os valores serviram apenas como parâmetros, uma vez que a metodologia utilizada pelo laboratório é específica para solos, e não para compostos orgânicos. Como não há uma padronização nacional quanto aos métodos de análise, o laboratório segue na linha da EMBRAPA, sendo certificado há vários anos pela PROFERT. Essa análise foi solicitada a fim de se avaliar o potencial desse composto para incorporação segura ao solo, dando, assim, destino adequado para o resíduo sólido gerado após a compostagem.

## 5.2 Compostagem dos fragmentos de tecido

No segundo experimento, optou-se pela compostagem dos fragmentos de tecido contendo lesões indicativas de esporotricose, em vez da compostagem integral dos cadáveres. Todos os cadáveres de felinos utilizados nesta etapa estavam sob custódia do Setor de Patologia da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). Para a realização do experimento, foram extraídos fragmentos teciduais compostos por pele e tecido muscular da região correspondente às lesões, considerando uma margem adicional de 1 cm além dos limites aparentes da ferida (Figura 11). Os cadáveres selecionados pertenciam a animais que haviam sido diagnosticados com esporotricose, independentemente da causa do óbito.

Antes da extração dos fragmentos, procedeu-se à técnica de *imprint* das lesões, permitindo sua análise microscópica para confirmação diagnóstica da esporotricose. Após essa etapa, foi realizada a coleta de material biológico com auxílio de um swab estéril, que foi imediatamente acondicionado em meio Stuart para posterior processamento. A amostra inicial, denominada "amostra zero", foi semeada em meio ágar Mycosel e incubada a 26 °C até a observação do crescimento fúngico.

A metodologia empregada possibilitou a rastreabilidade dos espécimes por meio do registro fotográfico, estabelecendo correlação entre a lesão macroscópica no cadáver, a imagem

microscópica do *imprint* e o desenvolvimento da cultura fúngica, garantindo a integridade e a confiabilidade dos dados experimentais.

Figura 11 - Aspecto dos cadáveres durante o processo de coleta das amostras dos tecidos lesionados suspeitos de esporotricose



Fonte: O autor

Foram coletadas 30 lesões, todas foram avaliadas por citologia, almejando confirmar a presença do fungo ao menos em 18 amostras.

O cultivo das amostras no dia zero complementaria os dados obtidos na primeira análise. Porém, como o crescimento fúngico pode demorar até 10 dias, as lesões foram para compostagem antes desses resultados. Essa circunstância se traduzia na possibilidade de uma amostra estar negativa antes mesmo de ser submetida ao processo de compostagem

Em seguida, os fragmentos de tecido da região lesionada foram acondicionados em frascos individuais com tampa e mantidos em um cooler para se conservarem resfriados durante o transporte entre a UFMG, em Belo horizonte, e o IFMG, localizado em Bambuí. O cadáver e os fragmentos de tecido foram compostados em estruturas de alvenaria, em um galpão, nas dependências do IFMG-Bambuí, que possuía vedação com tela e restrição de acesso, impedindo que animais vagantes e pessoas adentrassem ao acaso.

Para a compostagem, utilizou-se a estrutura de Irfan *et al.* (2020): 1:10 partes em peso de casca de arroz como agente de volume, 1 parte em peso do cadáver de gato, 2 partes em peso de cama de frango e 1/2 parte de água em peso. A compostagem das lesões foi precedida pela sua acomodação em pequenas bolsas (Figura 12), totalizando 18, produzidas artesanalmente com tela mosquiteiro de poliéster, malha 1,6 x 4,8 mm, com dimensões de 100 x 100 mm, juntamente com uma camada de cama de frango que a envolvia. Essas bolsas foram depositadas no mesmo nível do cadáver, em seu entorno, e estavam ligadas a um barbante cuja

ponta se localizava fora da composteira (Figura 13), de modo que cada bolsa pudesse ser retirada individualmente, sem grandes manipulações na composteira.

Figura 12 - Modo como os tecidos lesionados extraídos dos cadáveres de gato foram acomodados para serem submetidos à composteira



Fonte: O autor

Figura 13 - Distribuição das 18 amostras dos tecidos lesionados, extraídos dos cadáveres de gato, por toda a área da composteira

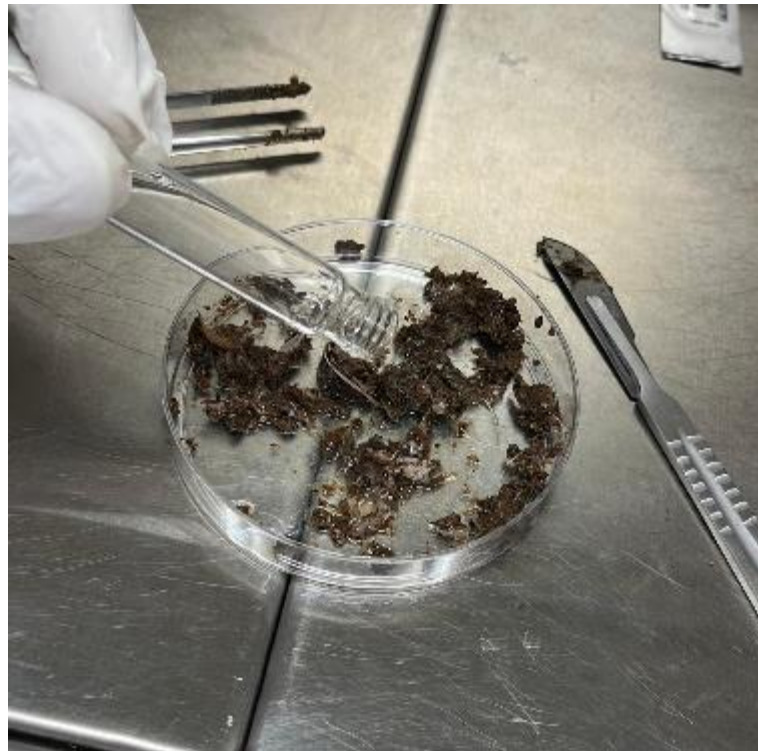


Fonte: O autor

A frequência de remoção das bolsas foi definida para permitir o monitoramento contínuo do processo de compostagem em diferentes estágios de temperatura, permitindo a avaliação da eficácia da compostagem na inativação do fungo ao longo do tempo. A temperatura foi monitorada a cada hora até que atingisse o valor mínimo de 30 °C a partir do momento em que a primeira bolsa contendo lesão fosse removida. Desse ponto de partida, a cada duas horas, uma nova bolsa era removida, resultando em 34 horas até que a última lesão fosse retirada. Essa logística se deu deste modo pois foi planejado que o tempo de monitoramento estivesse entre 24 e 48 horas.

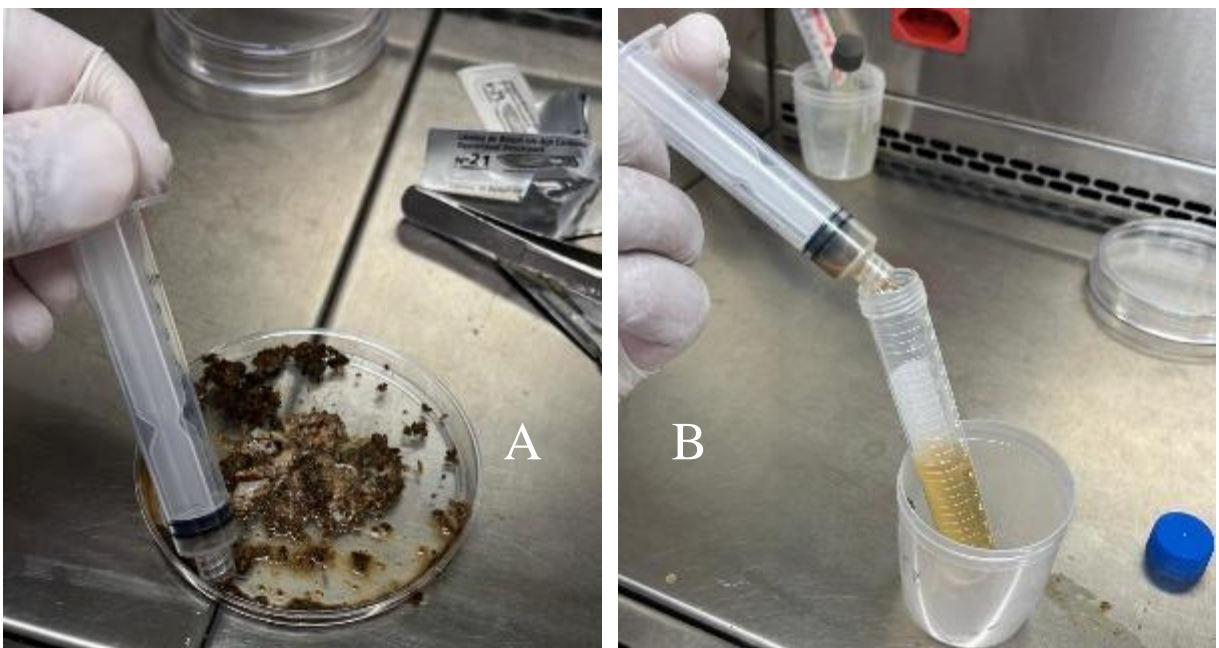
Após a retirada de cada lesão, elas eram transportadas do galpão para o laboratório, e lá depositadas em uma placa de vidro. Com uma seringa, 4 ml de solução fisiológica eram despejados sobre a lesão, e esta, fragmentada com um bisturi (Figura 14). Com outra seringa, aspirava-se toda a parte líquida remanescente e, juntamente com um fragmento da lesão, eram semeados em tubo Falcon (Figura 15) contendo caldo Saboraud com cloranfenicol.

Figura 14 - Tratamento dos tecidos lesionados após o período determinado à composteira – maceração dos tecidos umedecidos com solução salina



Fonte: O autor

Figura 15 - Tratamento da amostra após período na composteira – maceração dos tecidos umedecidos com solução salina e inoculação em caldo Saboraud



Fonte: O autor

Após o tratamento das 18 lesões, elas foram encaminhadas para a UFMG para que fosse realizado o isolamento e cultivo.

### **5.3 Análise química do biocomposto**

A análise química do composto foi realizada no Laboratório de Análise de Solos do IFMG-BambuÍ, com o intuito de avaliar seu potencial como adubo. Devido à especificidade da metodologia aplicada, que é voltada para a análise de solos, e não para compostos orgânicos, os valores obtidos serviram apenas como referência. Em razão da ausência de padronização nacional para métodos de análise de compostos orgânicos, o laboratório adota os protocolos da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), sendo certificado há vários anos pelo Programa de Desenvolvimento da Indústria de Fertilizantes (PROFERT). Os métodos utilizados em cada análise estão detalhados no ANEXO A. Destaca-se que a análise teve como objetivo principal avaliar a viabilidade do composto como adubo, proporcionando uma destinação adequada ao resíduo sólido gerado após o processo de compostagem de cadáveres de felinos.

### **5.4 Análise sensorial durante o processo de compostagem**

Durante o processo de compostagem, foram realizadas, também, análises sensorial, visual e olfativa. Para a análise olfativa, alguns alunos foram convidados a permanecerem próximo ao galpão onde o experimento se desenvolvia e relatarem se percebiam algum odor. A análise foi um tanto quanto subjetiva, mas de maior valor do que apenas a percepção do autor, pois, como ele lidava diariamente com as composteiras, poderia se acostumar com os odores. Na percepção visual, foi avaliada a presença de moscas, roedores ou quaisquer outros vetores, a formação de chorume e também o aspecto do biocomposto ao final do período de compostagem.

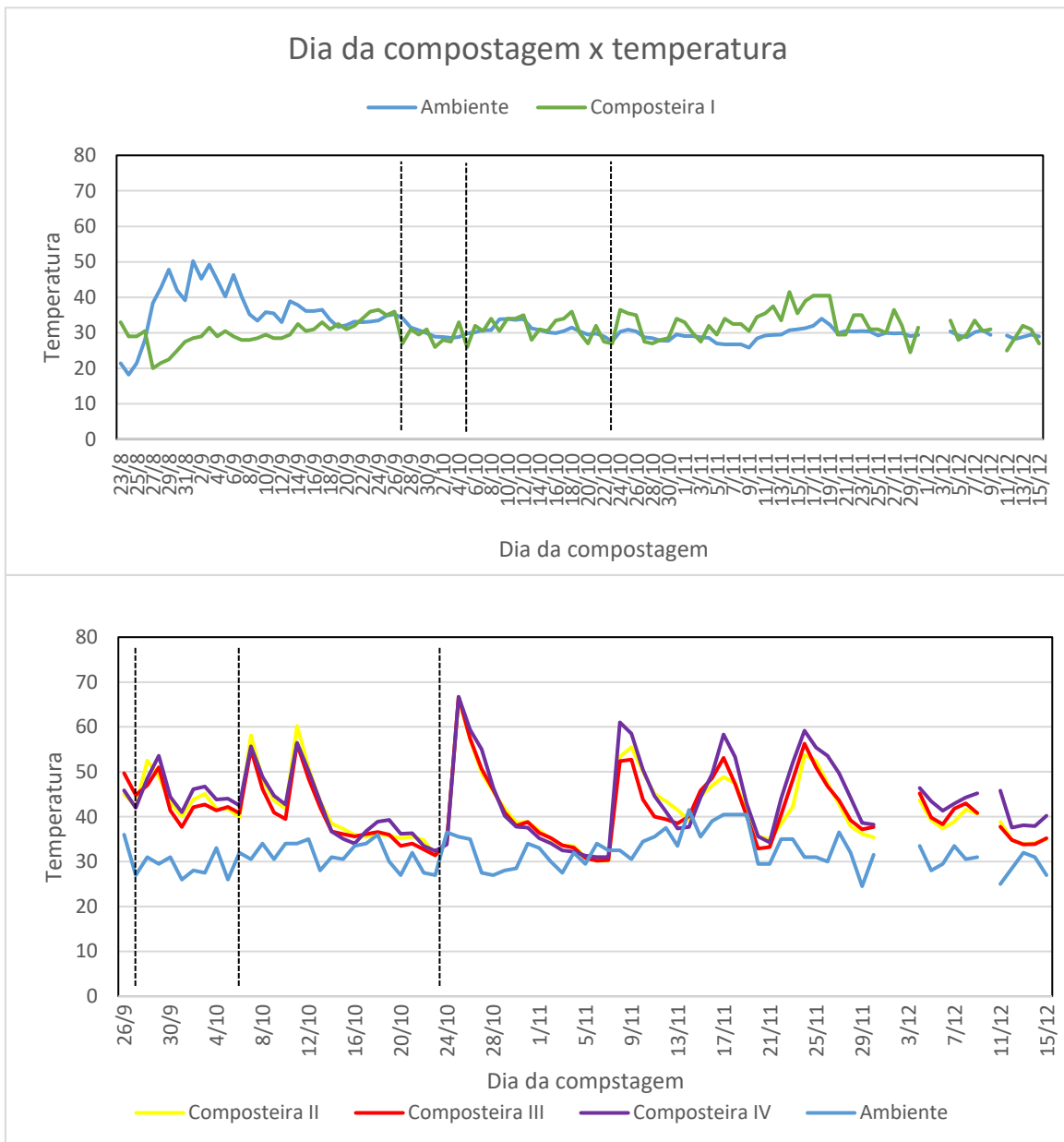
## 6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 6.1 Compostagem dos cadáveres

#### 6.1.1 Monitoramento da temperatura

As temperaturas das composteiras foram monitoradas ao longo de todo o processo de compostagem. Observou-se que todas as composteiras atingiram a fase termofílica, com temperaturas superiores a 50°C (APÊNDICE B), que são essenciais para a inativação de patógenos como *Sporothrix* spp. (SCHALCH *et al.*, 2015). As composteiras em triplicata apresentaram temperaturas máximas superiores em comparação com a composteira-piloto, mantendo-se acima de 50°C por um período mais prolongado (Figura 16). Para plotagem do gráfico, utilizaram-se as médias das temperaturas dos cinco pontos aferidos nas composteiras e também a média das duas medições diárias. O experimento em triplicata iniciou-se no 35º dia de compostagem do experimento-piloto. As falhas no final do gráfico representam os dias 101, 103 e 110 de compostagem, quando não puderam ser aferidas as temperaturas.

Figura 16 - Monitoramento da temperatura ambiental e das composteiras ao longo dos dias de compostagem



As linhas pretas tracejadas indicam alguns dias em que as composteiras foram umedecidas, destacando o abrupto aumento de temperatura consequente.

Fonte: O autor

Como a temperatura ambiente também esteve sendo monitorada, tornou-se possível identificar que, por mais que a temperatura ambiente possa influenciar a temperatura da compostagem, ambas possuem comportamento não paralelo. Essa independência das temperaturas pôde ser verificada no gráfico acima.

A composteira I demonstrou um comportamento independente da temperatura ambiente pelos primeiros 25 dias de compostagem, enquanto as composteiras II, III e IV seguiram, aparentemente, um comportamento independente da temperatura ambiental por quase todo o período monitorado.

O comportamento das temperaturas das composteiras em triplicata é visivelmente semelhante entre si e diferente do da composteira-piloto. Para que essa análise não fosse puramente subjetiva, empregou-se um método estatístico considerando-se os primeiros 75 dias de compostagem das quatro composteiras.

Para avaliar a significância dessas diferenças, foi realizada uma análise estatística utilizando-se o teste ANOVA de uma via, cujos resultados estão apresentados nas Tabelas 2 e 3. A análise revelou que, embora as temperaturas médias variem entre as composteiras, essas variações não foram estatisticamente significativas ( $p > 0,01$ ) entre as composteiras em triplicata, mas foram entre elas e a composteira-piloto, não obstante, todas as composteiras foram eficazes em alcançar temperaturas adequadas para a inativação de *Sporothrix* spp. de maneira consistente (IRFAN *et al.*, 2020; SCHALCH *et al.*, 2015).

Tabela 2 - Teste de *Tukey* para verificar se havia diferença estatística significativa entre as temperaturas das composteiras

	Composteiras			
	I	II	III	IV
Médias das temperaturas	33 a	42,08 b	41,72 b	43,66 b

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de *Tukey* (1%).

Fonte: O autor

Tabela 3 - Teste de *tukey* para verificar se havia diferença estatística significativa entre as temperaturas das composteiras e em relação à temperatura ambiental

	Composteiras				
	I	II	III	IV	Ambiente
Médias das temperaturas	33 a	42,08 b	41,72 b	43,66 b	30,35 c

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de *Tukey* (1%).

Fonte: O autor

### 6.1.2 Variabilidade dos Resultados

A análise da duração da fase termofílica revelou que, embora todas as composteiras tenham atingido essa fase, a duração variou significativamente entre elas. A composteira-piloto, por exemplo, manteve a temperatura acima de 50°C por um período mais curto do que as composteiras em triplicata. Essas diferenças na duração da fase termofílica podem ter um impacto direto na eficácia da inativação de *Sporothrix* spp., pois a inativação de patógenos está diretamente relacionada tanto à temperatura quanto ao tempo de exposição a essas temperaturas elevadas (FERNANDES *et al.*, 2020).

Para compreender melhor essa variabilidade, foram tabulados os dados que cruzam informações entre as temperaturas médias e os dias de compostagem (Tabela 4). A variabilidade observada nas condições de compostagem pode ser atribuída a fatores como a composição e a distribuição inicial dos materiais nas composteiras, aeração natural e o manuseio das composteiras durante o processo (OTENIO *et al.*, 2010). Essas variações são essenciais para a interpretação dos resultados, pois podem afetar a consistência da inativação do fungo. Portanto, as conclusões sobre a eficácia da compostagem na inativação de *Sporothrix* spp. devem ser interpretadas com cautela, e mais estudos são necessários para padronizar o processo (SCHALCH *et al.*, 2015).

Tabela 4 - Relação entre temperatura e dias de compostagem - considerando as composteiras em triplicata

	Maior medida de temperatura (°C)	Dia de compostagem em que ocorreu a maior medida (°)	Número de dias com temperatura acima de 50 °C no ponto 5	Número de medições com média entre os 5 pontos acima de 50 °C	Maior número de dias consecutivos com temperatura média acima dos 50 °C	Dia de medição inicial da maior sequência acima dos 50 °C
Composteira II	71	30	48	20	3	30
Composteira III	69	30	35	24	3	30
Composteira IV	72	30	55	32	3	30 / 44
Média	70,7	-	46,0	25,3	-	

Fonte: O autor

Na composteira-piloto (composteira I), a temperatura máxima atingida foi de 63 °C, ocorrida no ponto de medição 5 nos dias 7° e 10° de compostagem. Dentre os cinco pontos onde se aferiu a temperatura, o ponto 5 apresentou maiores valores, mantendo-se acima de 50 °C pelo período de 8 dias consecutivos, entre os dias 5° e 13°, e voltando a atingir valores acima desse limite no 15° dia apenas. Em média dos 5 pontos, a temperatura só atingiu a marca de 50 °C nos dias 10° e 12° de compostagem.

Nas compostagens em triplicata (composteiras II, III e IV), a temperatura máxima atingiu 72 °C, ocorrida no ponto 5 da composteira IV no 30° dia de compostagem. Foi possível verificar temperaturas acima de 50 °C logo nas primeiras 24 horas de compostagem - ocorrência esta no ponto 4 da composteira IV, nos pontos 2, 3 e 4 da composteira III e no ponto 5 da composteira II. Na média dos cinco pontos, a temperatura se manteve acima dos 50 °C por 20 medições na composteira II, por 24 medições na composteira III e por 32 medições na composteira IV.

Houve diversas oscilações de temperatura ao longo do período de monitoramento. Em ocasiões em que a temperatura das composteiras seguia baixando, percebeu-se um aumento abrupto devido ao fato de se ter umedecido a composteira. Esse fenômeno reforça a importância da umidade para adequação do ambiente para os microrganismos decompositores, que, de acordo com a revisão de Valente *et al.* (2009), precisa estar entre 40 e 70%. Houve momentos, por exemplo, no 45° dia geral de compostagem, em que a temperatura da composteira se elevou após seu umedecimento, ao passo que a temperatura ambiental estava em queda, o que enfraquece a ideia da influência da temperatura ambiente sobre a temperatura da composteira e reforça o pensamento de que o impacto se deu pelo fato de elas terem sido umedecidas.

As diferenças de comportamento entre o experimento-piloto e o experimento em triplicata trazem a ideia de que a composição estrutural das composteiras importa, uma vez que o comportamento entre as três composteiras do segundo experimento foi similar.

Nota-se que a temperatura média inicial, que se deu 24 horas a partir da montagem da composteira, foi muito baixa na composteira I, próxima dos 20 °C, e nas composteiras em triplicata já foram aferidas temperaturas próximas dos 50 °C. Essa ocorrência pode ter sido consequência de se ter posto o cadáver de gato congelado na composteira I, e, nas demais, descongelado. Esse fato, além de atrasar o processo de fermentação pelos microrganismos decompositores, que possuem temperatura ideal para seu metabolismo, em média, entre 50 e 60 °C, segundo Miyake e Iwabuchi (2006), forçou ainda o valor da média da temperatura para baixo, uma vez que o ponto 5 de aferição se localizava exatamente sobre o cadáver, e, estando congelado, o termômetro marcou 0 °C.

### ***6.1.3 Análise sensorial do processo de compostagem***

Além da temperatura, foi possível efetuar uma análise sensorial dos aspectos do composto e do odor ao longo do experimento. Para que o parecer não fosse influenciado pelo costume do operador do experimento, outras pessoas foram convidadas a estarem próximas ao galpão onde o experimento foi desenvolvido. Nos dias iniciais da compostagem, foi percebida a presença de moscas, mas não houve a percepção de odor fétido nem de formação de chorume.

Ao término do processo (205 dias para a composteira-piloto e 171 dias para as composteiras em triplicata), foi possível avaliar também a eficácia do processo para a decomposição do cadáver. Na compostagem I, a aparência do composto se destacou pela intensa presença de casquinhas de arroz, apesar de bem mais escuras do que antes do processo, e a presença de várias partes do esqueleto do cadáver do gato (Figura 17.). Já na Figura 18, é possível ver o aspecto do composto do experimento em triplicata. Nele, a aparência de solo é mais evidente; contudo, a eficácia da compostagem pareceu ser menor, já que, além da presença de esqueleto, havia também a presença do pelame do cadáver.

Figura 17 – Aspecto visual do composto da composteira I após 205 dias de compostagem



Fonte: O autor

Figura 18 - Aspecto do composto nas composteiras em triplicata após 171 dias de compostagem



Fonte: O autor

#### ***6.1.4 Análises microbiológicas***

Estando os locais das lesões nos cadáveres identificados, as coletas de amostras biológicas para cultivo foram coletadas com swab estéril. Na composteira I, foi instalada uma bandeira (Figura 19) como identificação do local da lesão, e a coleta foi realizada após 15 dias de compostagem. Nas composteiras em triplicata, as lesões foram identificadas por meio de

barbantes (Figura 20). As coletas começaram 24 horas após o início da compostagem e se desenvolveram por mais 8 dias, com coleta e cultivo de uma amostra diária de cada composteira (Tabela 5). Durante o processo de exposição das partes de interesse dos cadáveres, houve bastante manipulação do substrato, o que pode ter alterado a composição estrutural das camadas inicialmente propostas, afetando o comportamento ideal da composteira.

Figura 19 - Sinalização do local da lesão, na composteira I, com uma bandeira.



Sobre a alvenaria, está o termômetro utilizado para a aferição da temperatura. Nele, contém uma identificação de comprimento de acordo com a profundidade em que a temperatura deveria ser aferida.

Fonte: O autor

Figura 20 - Identificação das lesões dos cadáveres nas composteiras II, III e IV com barbantes



Fonte: O autor

Tabela 5 - Dias de cultivos das amostras diárias

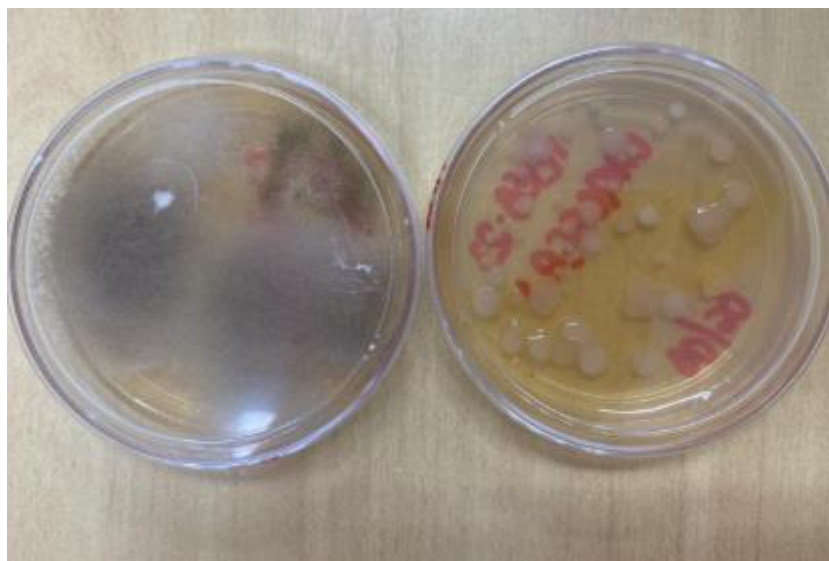
Amostr a	Dias de cultivo das amostras dos cadáveres 02, 03 e 04 nas respectivas datas														
	26/9	27/9	28/9	29/9	30/9	1/10	2/10	3/10	4/10	5/10	6/10	7/10	8/10	9/10	10/10
1 <sup>a</sup>	0	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
2 <sup>a</sup>		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
3 <sup>a</sup>			0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
4 <sup>a</sup>				0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
5 <sup>a</sup>					0	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
6 <sup>a</sup>						0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
7 <sup>a</sup>							0	1	2	3	4	5	6	7	8
8 <sup>a</sup>								0	1	2	3	4	5	6	7

O algarismo 0 (zero) representa o dia da coleta da amostra nos cadáveres com o swab estéril. Na sequência, vêm os dias de cultivo das amostras coletadas. Cada dia eram coletadas amostras dos três cadáveres separadamente.

Fonte: O autor

As análises microbiológicas das amostras coletadas no decorrer do processo de compostagem, consoante à Tabela 5, revelaram que não houve crescimento de *Sporothrix* spp. em nenhuma das culturas realizadas (Figura 21). Este resultado é encorajador, sugerindo que o processo de compostagem pode ser eficaz na inativação do fungo, especialmente considerando que as temperaturas alcançadas superaram os 50°C em todas as composteiras (ALMEIDA-PAES *et al.*, 2015).

Figura 21 - Cultura fúngica das lesões do cadáver da composteira I, após 15 dias de compostagem.



Fonte: O autor

Os resultados indicam que a compostagem pode ser uma alternativa promissora para a inativação de *Sporothrix* spp. em cadáveres de felinos contaminados. A capacidade do processo de atingir e manter temperaturas elevadas suficientes para inativar o fungo, combinada com a ausência de crescimento fúngico nas análises microbiológicas, sugere uma inativação eficaz, embora seja necessária cautela na interpretação dos resultados devido à variabilidade observada (GARCÍA-CARNERO *et al.*, 2022).

No entanto, a ausência de crescimento fúngico não deve ser interpretada como uma garantia absoluta da inativação total do patógeno, devido às dificuldades de isolamento do *Sporothrix* spp. do ambiente e às variabilidades observadas nas condições de compostagem, em composição estrutural e agentes químicos, físicos e biológicos (FERNANDES *et al.*, 2020).

#### **6.1.5 Análise química do biocomposto**

As análises químicas do composto final indicam que ele possui características adequadas para a correção de solos ácidos (Tabela 6). Esses resultados ampliam a viabilidade da compostagem como uma solução sustentável e economicamente vantajosa para o manejo de resíduos biológicos (SILVA *et al.*, 2012; BERTICELLI; PANDOLFO; KORF, 2017). Entretanto, as limitações na reprodutibilidade dos resultados e as dificuldades encontradas na análise microbiológica indicam a necessidade de estudos adicionais, com controle experimental

mais rigoroso e maior replicação, para consolidar as conclusões sobre a eficácia do processo (MENEZES, 2021).

Tabela 6 - Análise química dos compostos

Cód Lab.	Descrição Amostra	pH	P	K	Ca	Mg	Al	H <sup>+</sup> Al	M.O.	V	P(rem )	S
		H <sub>2</sub> O	mg/dm <sup>3</sup>		cmolc/dm <sup>3</sup>			dag/kg	%	mg/L	mg/dm <sup>3</sup>	
88	Composteira -piloto	6,90	546,60	1700,00	2,95	2,31	0,00	1,57	11,19	86,0	58,30	56,6
89	Composteira triplicata	7,70	1631,50	6900,00	2,43	4,01	0,00	1,09	14,81	95,7	62,60	-

Fonte: Adaptado dos resultados do Laboratório de Análise de solos do IFMG-BambuÍ

Uma vez que o material que compôs a estrutura de ambos os experimentos de compostagem foi o mesmo, a discrepância nos valores pode estar relacionada com o tempo de maturação diferente entre eles.

De acordo com a IN n° 25, de 2009, do MAPA (BRASIL, 2009), há restrição de uso para os compostos de resíduos de origem animal. Esse tipo de composto pode ser utilizado em pastagens apenas como incorporação ao solo, e o pastoreio é permitido após 40 dias da incorporação. É expressamente proibido o uso como alimentação do gado.

Muito embora a aplicação do composto fuja do escopo deste trabalho, e, portanto, não se levou em consideração uma cultura específica para utilização como adubo, alguns valores de referência puderam ser extraídos do trabalho de Ribeiro; Guimarães; Alvarez V. (1999). A acidez do solo deve ser controlada, e os valores ideais, conforme a classificação agrônômica, encontram-se entre 5,5 e 6,0, os quais seriam de acidez média, de acordo com a classificação química. Na análise dos compostos desse experimento, os valores de pH variaram entre 6,9 e 7,7, sendo o composto resultante da composteira 1 classificado quimicamente como de acidez fraca, e, agronomicamente, como alto, ou acima dos valores tidos como bons, e o composto resultante das composteiras em triplicata classificado quimicamente como de alcalinidade fraca e, agronomicamente, como muito alto (Tabela 7).

Tabela 7 - Classes de interpretação para a acidez ativa do solo (pH)<sup>1/</sup>

Classificação Química						
Ac. Muito elevada	Acidez elevada	Acidez média	Acidez fraca	Neutra	Alcalinidade e fraca	Alcalinidade e elevada
< 4,5	4,5 - 5,0	5,1 - 6,0	6,1 - 6,9	7,0	7,1 - 7,8	> 7,8
Classificação Agrônômica <sup>2/</sup>						
Muito Baixo	Baixo	Bom	Alto	Muito alto		
< 4,5	4,5 - 5,4	5,5 - 6,0	6,1 - 7,0	> 7,0		

<sup>1/</sup> pH em H<sub>2</sub>O, relação 1:2,5, TFSA: H<sub>2</sub>O. <sup>2/</sup> A qualificação utilizada indica adequado (Bom) ou inadequado (muito baixo, e baixo ou alto e muito alto).

Fonte: RIBEIRO; GUIMARÃES; ALVAREZ V. (1999)

O pH está diretamente ligado à presença de alumínio, que confere bastante acidez ao solo. Além de fornecer carga negativa, o que confere a acidez, ainda que o cálcio, tornando-o indisponível para que as plantas o absorvam do solo. Essa relação se comprova nos resultados do composto, que se apresentaram com valores entre leve acidez até levemente básicos. Deste modo, o composto utilizado sozinho como adubo não seria útil, já que apresenta valores acima do considerado bom para a maioria dos cultivos. Entretanto, seria de grande serventia no auxílio à correção de solos ácidos, provavelmente com alta composição de alumínio.

Os elementos comumente utilizados como parâmetros para adubação são o fósforo (P) e o potássio (K), pois, apesar de serem essenciais, suas concentrações no solo frequentemente representam fatores limitantes. A adubação fosfatada pode promover o incremento de outros nutrientes, como cálcio (Ca) e magnésio (Mg), conforme observado no experimento de Bataglia e Santos (1999). Além disso, a aplicação de superfosfato simples pode contribuir para o aumento dos teores de cálcio e enxofre no solo (FERNANDES, 2023). Se, no manejo, levar-se em conta a normalização de outros elementos, pode muito bem acontecer que os níveis de P e K fiquem excessivos, o que pode ser prejudicial para as plantas. No caso do excesso de fósforo, os sintomas mais nítidos são a deficiência de Fe (Ferro) e de Zn (Zinco) (MENDES, 2007). E, no caso de excesso do potássio, raramente são manifestos sintomas típicos; no entanto, afeta-se a absorção dos demais nutrientes, como Ca e Mg.

É possível notar que, segundo os parâmetros que constam na edição de Ribeiro; Guimarães; Alvarez V. (1999) (Tabela 8), os valores de P e K dos compostos deste experimento estão muito elevados, enquanto elementos como Ca e Mg encontram-se dentro de faixas ideais.

Tabela 8 - Classes de interpretação da disponibilidade para o fósforo de acordo com o teor de argila do solo ou do valor de fósforo remanescente (P-rem) e para o potássio

Características	Classificação				
	Muito baixo	Baixo	Médio	Bom	Muito bom
	"------(mg/dm <sup>3</sup> ) <sup>1/</sup> -----"				
	-----"				
Argila (%)	Fósforo disponível (P) <sup>2/</sup>				
60 - 100	≤ 2,7	2,8 - 5,4	5,5 - 8,0 <sup>3/</sup>	8,1 - 12,0	> 12,0
35 - 60	≤ 4,0	4,1 - 8,0	8,1 - 12,0	12,1 - 18,0	> 18
15- 35	≤ 6,6	6,7 - 12,0	12,1 - 20,0	20,1 - 30,0	> 30
0 - 15	≤ 10,0	10,1 - 20,0	20,1 - 30,0	30,1 - 45,0	> 45
P-rem					
<sup>4/</sup> (mg/L)					
0 - 4	≤ 3,0	3,1 - 4,3	4,4 - 6,0 <sup>3/</sup>	6,1 - 9,0	> 9,0
4 - 10	≤ 4,0	4,1 - 6,0	6,1 - 8,3	8,4 - 12,5	> 12,5
10 - 19	≤ 6,0	6,1 - 8,3	8,4 - 11,4	11,5 - 17,5	> 17,5
19 - 30	≤ 8,0	8,1 - 11,4	11,5 - 15,8	15,9 - 24,0	> 24,0
30 - 44	≤ 11,0	11,1 - 15,8	15,9 - 21,8	21,9 - 33,0	> 33,0
44 - 60	≤ 15,0	15,1 - 21,8	21,9 - 30,0	30,1 - 45,0	> 45,0
	Potássio disponível (K) <sup>2/</sup>				
	≤ 15,0	16 - 40	41 - 70 <sup>5/</sup>	71,0 - 120	> 120

<sup>1/</sup>Mg/dm = ppm (m/v). <sup>2/</sup>Método Mehlich-1. <sup>3/</sup>Nesta classe, apresentam-se os níveis críticos de acordo com o teor de argila ou com o valor do fósforo remanescente. <sup>4/</sup>P-rem = Fósforo remanescente, concentração de fósforo da solução de equilíbrio após agitar durante 1h a TFSA com solução de CaCl<sub>2</sub> 10 mmol/L, contendo 60 mg/L de P, na relação 1:10. <sup>5/</sup>O limite superior desta classe indica o nível crítico.  
ppm: parte por milhão; TFSA: terra fina seca ao ar.

Fonte: (RIBEIRO; GUIMARÃES; ALVAREZ V., 1999)

Muito embora seja notório que os compostos não serviriam de adubo utilizados sozinhos, com um bom manejo e instrução técnica, seria possível utilizá-los como enriquecimento de solo, com a vantagem de se necessitar de baixas quantidades para uma esparsa área de cultivo, o que poderia ser, a princípio, favorável financeiramente.

Na análise dos compostos, quanto aos níveis do elemento cálcio, eles foram classificados como bom e, como muito bom, quanto aos níveis de magnésio, evidenciando a riqueza do produto resultante do processo de compostagem de cadáver animal (Tabela 9).

Tabela 9 - Classes de interpretação de fertilidade do solo para a matéria orgânica

Característica	Unidade	Classificação				
		Muito baixo	Baixo	Médio	Bom	Muito Bom
Cálcio	cmol <sub>c</sub> /dm <sup>3</sup>	<= 0,40	0,41 - 1,20	1,21 - 2,40	2,41 - 4,00	> 4,00
Magnésio	cmol <sub>c</sub> /dm <sup>3</sup>	<= 0,15	0,16 - 0,45	0,46 - 0,90	0,91 - 1,50	> 1,50

Fonte: 1- Adaptado de (RIBEIRO; GUIMARÃES; ALVAREZ V.,1999)

## 6.2 Compostagem das lesões

A compostagem das lesões foi um aspecto crucial deste estudo, considerando que as lesões causadas pelo *Sporothrix* spp. representam uma fonte significativa de propagação do fungo. Este subitem descreve o processo de compostagem especificamente direcionado às lesões extraídas dos cadáveres dos felinos e como esse processo foi monitorado e avaliado para garantir a eficácia na inativação do fungo.

As lesões foram compostadas seguindo o protocolo já descrito, mas com cuidados adicionais devido à alta carga patogênica. Elas foram colocadas em pequenas bolsas de tela (Figura 12) posicionadas em camadas específicas dentro da composteira (Figura 13), para garantir uma exposição uniforme ao calor gerado durante o processo. Este posicionamento estratégico foi crucial para maximizar o contato com as temperaturas elevadas durante a fase termofílica.

Muito embora as lesões nos gatos costumem cursar com alta carga fúngica (SANTOS, 2020), o que facilitaria o isolamento, alguns cadáveres apresentavam estágio de decomposição mais avançado, haja vista que alguns estavam há pelo menos 3 semanas acondicionados sob refrigeração. Nessas condições, uma lesão qualquer podia se assemelhar à uma lesão decorrente da esporotricose. Além de outras doenças, infecciosas ou não, que poderiam concorrer com lesões semelhantes, como outras infecções fúngicas, leishmaniose ou carcinoma de células escamosas, especialmente nos animais de pele clara.

Cinco das 18 lesões foram para a composteira sem estarem, de fato, contaminadas com o *Sporothrix* spp. Essas lesões foram a L17-C7, L19-C8, L20-C8, L23-C9 e a L29-C11. Respectivamente, elas foram retiradas da composteira na seguinte ordem: 13<sup>a</sup>, 9<sup>a</sup>, 2<sup>a</sup>, 3<sup>a</sup> e 1<sup>a</sup> (Tabela 10).

Essa ocorrência poderia impactar os resultados. Uma vez que já estavam negativas, não há como inferir qualquer relação com o processo de compostagem. Todavia, a temperatura

média após a 3ª coleta ainda se apresentava no limite dos 41 °C (Tabela 11), onde se esperava que a compostagem ainda não impactasse de qualquer maneira a viabilidade fúngica.

Tabela 10 - Relação lesões selecionadas (Amostras zero) x resultado da cultura

<b>Nº Registro</b>	<b>Identificação</b>	<b>Lesões selecionadas</b>	<b>Recebimento</b>	<b>Resultado cultura</b>
<b>R087-24</b>	L1-C1	x	19/04/2024	<i>Sporothrix</i> sp.
<b>R089-24</b>	L2-C2		19/04/2024	<i>Sporothrix</i> sp.
<b>R090-24</b>	L3-C2		19/04/2024	<i>Sporothrix</i> sp.
<b>R091-24</b>	L4-C2	x	19/04/2024	<i>Sporothrix</i> sp.
<b>R092-24</b>	L5-C3	x	19/04/2024	<i>Sporothrix</i> sp.
<b>R093-24</b>	L6-C3		19/04/2024	<i>Sporothrix</i> sp.
<b>R094-24</b>	L7-C3	x	19/04/2024	<i>Sporothrix</i> sp.
<b>R095-24</b>	L8-C4		19/04/2024	Negativo
<b>R096-24</b>	L9-C5	x	19/04/2024	<i>Sporothrix</i> sp.
<b>R097-24</b>	L10-C5		19/04/2024	<i>Sporothrix</i> sp.
<b>R098-24</b>	L11-C5		19/04/2024	<i>Sporothrix</i> sp.
<b>R099-24</b>	L12-C5		19/04/2024	<i>Sporothrix</i> sp.
<b>R100-24</b>	L13-C6	x	19/04/2024	<i>Sporothrix</i> sp.
<b>R101-24</b>	L14-C7	x	19/04/2024	<i>Sporothrix</i> sp.
<b>R102-24</b>	L15-C7	x	19/04/2024	<i>Sporothrix</i> sp.
<b>R103-24</b>	L16-C7		19/04/2024	Negativo
<b>R104-24</b>	L17-C7	x13	19/04/2024	Negativo
<b>R105-24</b>	L18-C7		19/04/2024	Negativo
<b>R106-24</b>	L19-C8	x9	19/04/2024	Negativo
<b>R107-24</b>	L20-C8	x2	19/04/2024	Negativo
<b>R108-24</b>	L21-C9	x	19/04/2024	<i>Sporothrix</i> sp.
<b>R109-24</b>	L22-C9	x	19/04/2024	<i>Sporothrix</i> sp.
<b>R110-24</b>	L23-C9	x3	19/04/2024	Negativo
<b>R111-24</b>	L24-C9	x	19/04/2024	<i>Sporothrix</i> sp.
<b>R112-24</b>	L25-C9	x	19/04/2024	<i>Sporothrix</i> sp.
<b>R113-24</b>	L26-C9	x	19/04/2024	<i>Sporothrix</i> sp.
<b>R114-24</b>	L27-C9		19/04/2024	Negativo
<b>R115-24</b>	L28-C10		19/04/2024	Negativo
<b>R116-24</b>	L29-C11	x1	19/04/2024	Negativo
<b>R117-24</b>	L30-C11		19/04/2024	<i>Sporothrix</i> sp.

Na coluna Identificação Lxx-Cxx: Lxx – Indica o número da Lesão. Cxx – Indica o número dos cadáveres. A coluna Nº de Registro foi adotada pelo laboratório de Micologia da UFMG (Labiomic). O tempo de cultivo das amostras zero foi de 10 dias.

Fonte: O autor

O monitoramento da temperatura foi realizado de forma mais rigorosa para essas áreas, com medições a cada hora, ininterruptamente, após a média da temperatura atingir 30 °C, tendo a duração do processo completo, desde o término da montagem da composteira, 45 horas (Tabela 11). As temperaturas registradas nas proximidades das lesões consistentemente ultrapassaram os 50 °C.

Tabela 11 - Monitoramento da temperatura e momento da coleta das lesões

Data	Hora	Nº de horas acumuladas	Coleta das amostras	Temperaturas					
				1	2	3	4	5	A
20/04/2024	16:40	0	-	23	24	24	24	21	24
	17:40	1	-	24	24	24	23	23	24
	18:40	2	-	24	24	24	24	23	21
	19:40	3	-	24	24	24	24	23	20
	20:40	4	-	24	25	24	23	23	19
	21:40	5	-	25	25	25	24	23	18
	22:40	6	-	25	25	25	24	23	18
	23:40	7	-	26	26	25	25	24	17
	00:40	8	-	28	27	27	26	25	16
	01:40	9	-	27	27	27	27	27	15
	02:40	10	-	29	29	30	28	28	16
	03:40	11	1 <sup>a</sup>	32	31	31	31	30	16
	04:40	12		34	35	35	32	32	15
	05:40	13	2 <sup>a</sup>	36	39	37	36	34	15
	06:40	14		39	43	41	37	36	15
	07:40	15	3 <sup>a</sup>	40	44	43	39	39	16
	08:40	16		40	45	43	40	42	18
09:40	17	4 <sup>a</sup>	43	46	45	44	45	22	
10:40	18		43	45	41	43	41	25	
11:40	19	5 <sup>a</sup>	43	45	42	43	43	25	
12:40	20		43	47	44	43	43	26	
13:40	21	6 <sup>a</sup>	44	45	43	43	44	28	
14:40	22		44	45	43	44	44	28	
15:40	23	7 <sup>a</sup>	45	48	45	44	45	28	
16:40	24		46	47	46	45	46	27	
17:40	25	8 <sup>a</sup>	47	47	46	46	47	25	
18:40	26		47	48	47	47	47	21	
19:40	27	9 <sup>a</sup>	48	49	47	47	47	20	
20:40	28		48	48	47	48	47	19	
21:40	29	10 <sup>a</sup>	48	49	48	48	47	18	
22:40	30		48	49	48	49	48	17	
23:40	31	11 <sup>a</sup>	48	50	48	50	49	16	
00:40	32		49	50	48	49	48	15	
01:40	33	12 <sup>a</sup>	48	50	48	50	49	15	
02:40	34		48	50	49	50	49	14	
03:40	35	13 <sup>a</sup>	48	50	49	51	49	14	
04:40	36		48	50	49	51	48	13	
05:40	37	14 <sup>a</sup>	48	50	48	50	48	13	
06:40	38		47	50	48	50	48	14	
07:40	39	15 <sup>a</sup>	47	50	48	50	48	15	
08:40	40		47	50	48	50	47	20	
09:40	41	16 <sup>a</sup>	47	51	48	50	47	23	
10:40	42		47	51	48	50	49	25	
11:40	43	17 <sup>a</sup>	48	51	48	50	50	27	
12:40	44		47	51	48	51	50	29	
13:40	45	18 <sup>a</sup>	50	52	49	51	50	30	

Fonte: O autor

Foi necessário aguardar 11 horas desde o término da montagem da composteira até o momento da primeira coleta das amostras. Isso se deu, pois, de acordo com a metodologia adotada, a primeira amostra só seria retirada depois que a composteira atingisse a temperatura de 30 °C. Vale ressaltar que, no período do experimento, a temperatura ambiente estava bastante amena, atingindo a mínima de 15 °C nessa fase, o que pode ter retardado o aumento da temperatura na composteira. Soma-se a isso o fato de que o cadáver estava resfriado. Ainda assim, a temperatura aumentou, em média, até o final do dia 21/04/2024, cerca de 0,81 °C/hora.

Na retirada da última lesão da composteira, a temperatura média máxima que o sistema havia alcançado era de, aproximadamente, 50 °C, mostrando que houve uma boa fermentação. Entretanto, como só haviam 18 lesões, esse foi o limite para o monitoramento. Durante as 45 horas do processo, o comportamento da temperatura na composteira foi completamente díspar em relação à temperatura ambiental.

Após o processo, todas as lesões apresentaram resultado negativo ao cultivo para a presença de *Sporothrix* spp. Esse resultado faz com que a dúvida sobre a eficácia da compostagem, quanto à inativação fúngica, permaneça. Fica o conflito em relação ao fato de a compostagem ter sido eficiente ou se tudo não passou de uma ineficiência em recuperar o fungo das lesões na composteira. Ainda que a compostagem tenha sido eficiente quanto à inativação fúngica, não foi possível determinar se foi devido ao aumento da temperatura ou à combinação químico-microbiológica do composto.

Os resultados obtidos no presente estudo, apesar de promissores, destacam a complexidade e os desafios envolvidos na compostagem de cadáveres de felinos contaminados com *Sporothrix* spp. A análise das temperaturas nas composteiras, a ausência de crescimento fúngico nas culturas e as características químicas do biocomposto indicam que a compostagem pode ser uma estratégia viável para o manejo desse tipo de resíduo biológico. No entanto, as dificuldades encontradas na recuperação do fungo e a variabilidade observada nas condições de compostagem sugerem a necessidade de aprimoramento dos protocolos utilizados. Este estudo, portanto, não apenas revela o potencial da compostagem, mas também evidencia as limitações que devem ser abordadas em futuras pesquisas para assegurar a eficácia e a segurança ambiental dessa prática.

## 7 CONCLUSÕES

Embora o estudo tenha mostrado que a compostagem atinge temperaturas superiores a 50 °C, adequadas para a decomposição da matéria orgânica e, teoricamente, suficientes para a inativação do fungo *Sporothrix* spp., não foi possível comprovar, de forma conclusiva, a eficácia da compostagem na inativação do fungo. Além do mais, no ambiente de compostagem, outras grandezas químicas, físicas e biológicas atuam, como pH, umidade, aeração, relação entre carbono e nitrogênio e competição entre microrganismos decompositores, que podem atuar favorecendo, ou não, a viabilidade fúngica. Os resultados negativos nas culturas das amostras podem ser atribuídos tanto à possível inativação do fungo quanto a uma falha na recuperação deste a partir do composto. Dessa forma, a incerteza sobre a inativação de *Sporothrix* spp. permanece, e não se pode afirmar se a ausência do fungo nas amostras se deveu às altas temperaturas alcançadas durante a compostagem ou a outros fatores químicos e microbiológicos presentes no composto.

A análise química do composto final indicou que ele possui propriedades que podem beneficiar a correção de solos ácidos, fornecendo nutrientes essenciais, como cálcio e magnésio. Contudo, devido aos altos níveis de fósforo e potássio, recomenda-se que o composto seja utilizado de forma controlada e em combinação com outras práticas agronômicas para evitar a sobrecarga desses elementos no solo. Esse aspecto amplia o potencial da compostagem como uma solução sustentável e eficiente, alinhada aos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS), contribuindo para a gestão adequada de resíduos orgânicos e a mitigação de riscos à saúde pública e ambiental.

Apesar dos resultados inconclusivos sobre a inativação do fungo, a compostagem se mostrou uma alternativa potencialmente vantajosa em termos de acessibilidade, especialmente para comunidades com recursos limitados, quando comparada à incineração. A adoção de compostagem pode contribuir significativamente para a gestão adequada de resíduos orgânicos e a mitigação de riscos à saúde única, alinhando-se aos objetivos de desenvolvimento sustentável.

Recomenda-se que futuras pesquisas explorem mais profundamente os parâmetros e condições de compostagem que influenciam a inativação fúngica e que sejam realizadas análises mais detalhadas para verificar a viabilidade do fungo no composto. A implementação de compostagem em larga escala deve ser estudada como uma ferramenta valiosa para a gestão de resíduos e controle de zoonoses, beneficiando tanto a saúde pública quanto ambiental.

## REFERÊNCIAS

- Barros MBL, Schubach TP, Coll JO, Gremião ID, Wanke B, Schubach A. Esporotricose: a evolução e os desafios de uma epidemia. **Rev Panam Salud Publica**. 2010;27(6):455–60.
- BATAGLIA, O. C.; SANTOS, W. R. Efeitos da adubação NPK na fertilidade do solo, nutrição e crescimento da seringueira. **R. Bras. Ci. Solo**, 23:881-890, 1999. Disponível em <https://www.scielo.br/j/rbcs/a/cCf8QHfTXdyWgQHStmzNNRr/?format=pdf&lang=pt> Acesso em: 01 mai. 2024.
- BATISTA, T. P.; Estudo da imunidade treinada em macrófagos no desenvolvimento da esporotricose associada ao fungo *Sporothrix brasiliensis*. Monografia (Bacharelado em Ciências Biológicas) - Instituto de Microbiologia Paulo de Góes - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2023. Disponível em: <https://pantheon.ufrj.br/handle/11422/21856>. Acesso em: 08 jul. 2024.
- BERTICELLI, R.; PANDOLFO, A.; KORF, E. P. Gestão integrada de resíduos sólidos urbanos : perspectivas e desafios. **R. gest. sust. ambient.**, Florianópolis, v. 5, n. 2, p.711-744,out.2016/mar. 2017. Disponível em: [https://portaldeperiodicos.animaeducacao.com.br/index.php/gestao\\_ambiental/article/view/3624](https://portaldeperiodicos.animaeducacao.com.br/index.php/gestao_ambiental/article/view/3624). Acesso em: 12 jan. 2024.
- BIDONE, F. A. (coord.). 2001. Resíduos sólidos provenientes de coletas especiais: Eliminação e Valorização. **Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental**, ABES. Rio de Janeiro. Brasil. Disponível em: <https://livroaberto.ibict.br/handle/1/643>. Acesso em: 09 jul. 2024.
- BISON, I.; PARENTONI, R. N.; BRASIL, A. W. L. Metanalysis of feline sporotricosis: A highlight for its occurrence in brazil. **ARS VETERINARIA**, v.36, n.4, 301-315, ISSN 2175-0106. Jaboticabal, SP, 2020. Disponível em: <https://www.arsveterinaria.org.br/index.php/ars/article/view/1303/1323>. Acesso em: 08 jul. 2024.
- BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. **Instrução Normativa no 25 de 23 de julho de 2009**. Estabelece as normas sobre as especificações e 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 República Federativa do Brasil, Brasília, DF, de 28 julho de 2009. Seção 1, p. 20.
- BRASIL. Ministério Do Meio Ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente. **Resolução N° 375, de 29 de Agosto de 2006**. Disponível em: [https://conama.mma.gov.br/index.php?option=com\\_sisconama&task=documento.download&id=22347#:~:text=Esta%20Resolu%C3%A7%C3%A3o%20estabelece%20crit%C3%A9rios%20e,sa%C3%BAde%20p%C3%BAblica%20e%20ao%20ambiente..](https://conama.mma.gov.br/index.php?option=com_sisconama&task=documento.download&id=22347#:~:text=Esta%20Resolu%C3%A7%C3%A3o%20estabelece%20crit%C3%A9rios%20e,sa%C3%BAde%20p%C3%BAblica%20e%20ao%20ambiente..) Acesso em: 09 jul. 2024.

CAMPOS, R. M. S. **Estudo da influência de vesículas extracelulares na resposta imune contra a esporotricose experimental**. Dissertação (Mestrado em Análises clínicas) – Universidade de São Paulo, Sp, 2022. Disponível em: [file:///C:/Users/Samsung/Downloads/Renato\\_Massis\\_Souza\\_Campos\\_ME\\_Original.en.pt.pdf](file:///C:/Users/Samsung/Downloads/Renato_Massis_Souza_Campos_ME_Original.en.pt.pdf). Acesso em: 06 jul. 2024.

CANCELADO, S. V.; Avaliação da qualidade microbiológica de um composto produzido a partir de resíduos animais e vegetais. Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”; Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – *Campus* de Jaboticabal. Dissertação apresentada como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Microbiologia Agropecuária. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/server/api/core/bitstreams/8a08ad3c-5fe0-4a91-a3e1-e84600444c1b/content>. Acesso em: 28 fev. 2024.

CANDEIA, T. M.; DE SOUSA, A. P. Esporotricose e saúde pública: revisão de literatura. **COOPEX/FIP** (ISSN:2177-5052). 12ª ed. -vol. 12, 2021. Disponível em <https://editora.unifip.edu.br/index.php/coopex/article/view/15>. Acesso em: 15 jul. 2024.

CARVALHO, B. C.; GUIMARÃES, A. S. Saúde única: o conceito abrangente e definitivo. Biosseguridades – Anuário Leite 2021. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/226451/1/Saude-unica.pdf>. Acesso em: 13 jul. 2024.

COLOMBO, S. A. **Caracterização molecular de *sporothrix* spp. isolados de gatos em uma área epidêmica no estado de Minas Gerais – Brasil**. 2022. Dissertação apresentada à Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção de grau de Mestre em Ciência Animal. Disponível em: <https://repositorio.ufmg.br/handle/1843/44184>. Acesso em: 19 mar. 2024.

COORDENAÇÃO DE APERFEIÇOAMENTO DE PESSOAL DE NÍVEL SUPERIOR. Produção Técnica - Relatório de Grupo de Trabalho. CAPES, 2019. Disponível em: <https://www.gov.br/capes/pt-br/centrais-de-conteudo/10062019-producao-tecnica-pdf>. Acesso em: 05 jun. 2023

COSTA, T. G DE A. **ESPOROTRICOSE E MEIO AMBIENTE**: Avaliação dos Riscos Ocupacionais em trabalhadores da Saúde Animal. 2023. Dissertação (Mestrado Profissional em Sustentabilidade e tecnologia Ambiental) – Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia de Minas Gerais – *Campus* Bambuí, Minas Gerais, 2023. [Não publicado].

DA SILVA *et al.* Urban sporotrichosis: a neglected epidemic in Rio de Janeiro, Brazil. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, 28(10):1867-1880, out, 2012. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/csp/a/tBDjHq5kPXNH4kdzqJwGTcw/>. Acesso em: 08 jul. 2024.

DA SILVA, D. T.; MENEZES, R. C.; GREMIÃO, I. D. F.; PACHECO SCHUBACH, T. M. P.; SEPÚLVEDA, J. B.; SANDRO, A. P. Esporotricose zoonótica: procedimentos de biossegurança. **Acta Scientiae Veterinariae**, vol. 40, núm. 4, 2012, pp. 1-10. ISSN: 1678-0345- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil.

DAL BOSCO, T. C (org.). Compostagem e Vermicompostagem de Resíduos Sólidos - resultados de pesquisas acadêmicas. – São Paulo : **Blucher**, 2017. 266 p. (36-37). ISBN 978-85-8039-237-1 (e-book) ISBN 978-85-8039-236-4 (impresso). Disponível em:

[http://pdf.blucher.com.br.s3-sa-east-](http://pdf.blucher.com.br.s3-sa-east-1.amazonaws.com/openaccess/9788580392371/completo.pdf)

[1.amazonaws.com/openaccess/9788580392371/completo.pdf](http://pdf.blucher.com.br.s3-sa-east-1.amazonaws.com/openaccess/9788580392371/completo.pdf). Acesso em: 10 jul. 2024.

DE JESUS, S. L. A *et al.* Destinação adequada de carcaças provenientes de clínicas veterinárias. **Simpósio de Engenharia de Produção Universidade Federal de Goiás – Regional Catalão** – ISSN: 2594-410X – 28 a 30 de agosto, Catalão, Goiás, Brasil, 2018. Disponível em:

[https://files.cercomp.ufg.br/weby/up/1012/o/DESTINA%C3%87%C3%83O\\_ADEQUADA\\_DE\\_CARCA%C3%87AS\\_PROVENIENTES\\_DE\\_CL%C3%8DNICAS\\_VETERIN%C3%81RIAS.pdf?1536010829](https://files.cercomp.ufg.br/weby/up/1012/o/DESTINA%C3%87%C3%83O_ADEQUADA_DE_CARCA%C3%87AS_PROVENIENTES_DE_CL%C3%8DNICAS_VETERIN%C3%81RIAS.pdf?1536010829). Acesso em: 10 jul. 2024.

DUVAL, A. E. DE A. **educação em saúde sobre a esporotricose como estratégia para melhora do conhecimento no ensino público de Duque de Caxias, RJ**. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, 2019. Disponível em: <https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/48654>. Acesso em: 08 jul. 2024.

ESCOBAR, M. C.; RAMOS, F. C.; ROJAS, C. A. A. *Sporothrix brasiliensis* in cats from Santiago, Chile. **Medical Mycology Case Reports** **43** (2024) 100624.

<https://doi.org/10.1016/j.mmcr.2023.100624>.

ETCHECOPAZ, A.; TOSCANINI, M. A.; GISBERT, A.; MAS, J.; SCARPA, M.; IOVANNITTI, C. A.; BENDEZÚ, K.; NUSBLAT, A. D.; IACHINI, R.; CUESTAS, M. L. *Sporothrix brasiliensis*: A Review of an Emerging South American Fungal Pathogen, Its Related Disease, Presentation and Spread in Argentina. **J. Fungi** 2021, 7, 170.

<https://doi.org/10.3390/jof7030170>.

FERNANDES, D. Fósforo nas plantas: qual a importância deste nutriente. **Nutrição de safra**. 13 abril 2023. Disponível em: <https://nutricaoesafras.com.br/importancia-do-fosforo-nas-plantas>. Acesso em: 01 mai. 2024.

FERNANDES, E. A.; da SILVA, A. L. Saneamento básico e saúde: um estudo para o estado do Rio de Janeiro. **Redepp**, v. 4, n. 2, p. 96109, 2020. Disponível em:

<https://www.redepp.ufv.br/REDEPP/article/view/111>. Acesso em: 21 jun. 2024.

FERREIRA, J. da S. **Caracterização fenotípica de cepas dentro do complexo *Sporothrix Schenckii* e correlação com as formas clínicas da esporotricose**. 2018. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Farmácia) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2018.

FERREIRA, V. C. D. **Distribuição espacial e temporal da esporotricose humana e animal na região metropolitana do Rio de Janeiro de 2013 a 2020**. Dissertação (Mestrado em Ciências). Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2020. Disponível em:

[https://docs.bvsalud.org/biblioref/2022/08/1381541/dissertacao\\_victoria-catharina-dedavid-ferreira\\_29\\_07\\_2022.pdf](https://docs.bvsalud.org/biblioref/2022/08/1381541/dissertacao_victoria-catharina-dedavid-ferreira_29_07_2022.pdf). Acesso em: 08 jul. 2024.

FIALHO, L. L.; DA SILVA, W. T. L.; MILORI, D. M. B. P.; SIMÕES, M. L.; NETO, L. M. Monitoramento Químico e Físico do Processo de Compostagem de Diferentes Resíduos Orgânicos. **Embrapa Instrumentação Agropecuária**, 2005. 6 p. São Carlos, SP, 2005. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/24760>. Acesso em: 10 jul. 2024.

GARCÍA-CARNERO, L. C.; MARTÍNEZ-ÁLVAREZ, J. A. Virulence Factors of *Sporothrix schenckii*. **Journal of Fungi**. 2022; 8(3):318. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/jof8030318>. Acesso em: 03 abr. 2023.

GREMIÃO, I. D. F.; MIRANDA, H. M.; REIS, A. M. R.; RODRIGUES, A. M.; PEREIRA, S. A. Zoonotic Epidemic of Sporotrichosis: Cat to Human Transmission. **PLoS Pathog** 13(1): e1006077. doi:10.1371/journal.ppat.1006077.

HECK, K. *et al.* Temperatura de degradação de resíduos em processo de compostagem e qualidade microbiológica do composto final. **Rev. Bras. Eng. Agríc. Ambient.**, v.17, p.54-59, 2013. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbeaa/a/nVf6wF5rmXSFZKcWyppM3hp/?format=pdf&lang=pt>. Acesso em: 09 jul. 2024.

IRFAN, M. *et al.* An Assessment of Chemical and Microbiological Properties of Different Types of Poultry Waste Compost Prepared by Bin and Windrow Composting System. **Brazilian Journal of Poultry Science**. ISSN 1516-635X 2020 / v.22 / n.4 / 001-010. eRBCA-2020-1278. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1806-9061-2020-1278>. Acesso em: 12 jan. 2024.

KIEHL, E. J. **Fertilizantes orgânicos**. 1ªed. São Paulo. Ceres. 1985. 492p. Disponível em: <file:///C:/Users/Samsung/Downloads/599705858-Fertilizantes-Organominerais-Edmar-Jose-Kiehl.pdf>. Acesso em: 10 jul. 2024.

MENDES, A. M. S. **Introdução a fertilidade do solo**. Material preparado a partir de textos didáticos da disciplina SOL 671 oferecida pelo Departamento de Solos da UFV no Curso de Pós-graduação em Solos e Nutrição de Plantas. Aula ministrada no Curso de Manejo e Conservação do Solo e da Água promovido pela superintendência Federal de Agricultura, Pecuária e Abastecimento do Estado da Bahia – SFA -BA/SDC/MAPA, no auditório da UFBA, em Barreiras-BA, no período de 29/05 a 01/06/2007. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CPATSA/35800/1/OPB1291.pdf>. Acesso em: 01 mai. 2024.

KWON *et al.* Impacts of leachates from livestock carcass burial and manure heap sites on groundwater geochemistry and microbial community structure **PLoS ONE** 12(8): e0182579. 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0182579>. Acesso em: 03 mai. 2024.

LYRA, M. R. *et al.* Esporotricose refratária ao tratamento convencional: sucesso terapêutico com iodeto de potássio. **Anais Brasileiros de Dermatologia** 96 (2021) 231-233. Disponível em: <https://www.anaisdedermatologia.org.br/pt-pdf-S2666275221000175>. Acesso em: 10 set. 2024.

MENEZES, W. B. **Meu pet morreu, e agora? Uma análise acerca da destinação de animais domésticos de estimação no município de natal-rn à luz da legislação brasileira.** 2021. Monografia apresentada ao curso de graduação em Direito, da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Direito. Natal, RN. Brasil. Disponível em: <https://repositorio.ufrn.br/handle/123456789/51632>. Acesso em: 09 mar. 2024.

MIYATAKE, F.; IWABUCHI, K. Effect of compost temperature on oxygen uptake rate, specific growth rate and enzymatic activity of microorganisms in Dairy cattle manure. **Bioresour. Technol.**, v.97, p.961-965, 2006. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15975786/>. Acesso em: 20 set. 2023.

OLIVEIRA, M. M. E. **Identificação e análise filogenética de espécies do gênero *sporothrix* isoladas em área endêmica de esporotricose no estado do rio de janeiro.** 2009. Dissertação (Mestrado em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas) - Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas, Rio de Janeiro, 2009.

OROFINO-COSTA, R.; DE MACEDO, P.; RODRIGUES, A. M.; BERNARDES-ENGEMANN, A. R. 2017. "Sporotrichosis: An Update on Epidemiology, Etiopathogenesis, Laboratory and Clinical Therapeutics". **Anais Brasileiros de Dermatologia** 92 (5): 606–20. <https://doi.org/10.1590/abd1806-4841.2017279>.

OTENIO, M. H.; CUNHA, C. M.; ROCHA, B. B. Compostagem de carcaças de grandes animais. Juiz de Fora, MG. **EMBRAPA Gado de Leite**, 2010. (EMBRAPA Gado de Leite. Comunicado técnico 61). ISSN: 1678-3131. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/26420/1/COT-61-compostagem.pdf>. Acesso em: 28 fev. 2024.

PAIVA, E. C. R. **Avaliação da compostagem de carcaças de frango pelos métodos da composteira de leiras estáticas aeradas.** Dissertação ( Mestrado em Engenharia Civil) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2008. Disponível em: <https://www.locus.ufv.br/bitstream/123456789/3699/1/texto%20completo.pdf>. Acesso em: 10 jul. 2024.

PILLAI, S. D.; RICKE, S. C. 2002. Bioaerosols from municipal and animal wastes: background and contemporary issues. **Can. J. Microbiol.** 48:681–696.

REZENDE, R. R.; REZENDE, M. O. O. (orgs.). Recurso solo : propriedades e 1.ed. Capítulo 19 In (Schalch, V. Massukado, L. M.; Bianco, C. I.) – São Carlos: **Editora Cubo**, 2015. Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/291830917\\_Compostagem](https://www.researchgate.net/publication/291830917_Compostagem). Acesso em: 10 jul. 2024.

RIBEIRO, A. C.; GUIMARÃES, P.T.G.; ALVAREZ V.; V. H. **Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais – 5ª Aproximação**. Comissão de Fertilidade do Solo do Estado de Minas Gerais. Editores. – Viçosa, MG, 1999. CDD 19ª.ed. - 631.42; CDD 20ª.ed. 631.42. Disponível em: [https://tuxdoc.com/queue/5-aproximacao\\_pdf?queue\\_id=63e9945ae2b6f57507bf9e22](https://tuxdoc.com/queue/5-aproximacao_pdf?queue_id=63e9945ae2b6f57507bf9e22). Acesso em: 01 mai. 2024.

RODRIGUES A. M.; GONÇALVES S. S.; DE CARVALHO J. A.; BORBA-SANTOS, L. P.; ROZENTAL, S.; CAMARGO, Z. P. Current Progress on Epidemiology, Diagnosis, and Treatment of Sporotrichosis and Their Future Trends. **J Fungi** (Basel). 2022 Jul 26;8(8):776. doi: 10.3390/jof8080776. PMID: 35893145; PMCID: PMC9331723.

RODRIGUES, A. M.; TERRA, P. P. D.; GREMIÃO, I. D.; PEREIRA, S. A.; OROFINO-COSTA, R.; DE CAMARGO, Z. P. The threat of emerging and re-emerging pathogenic *Sporothrix* species. **Mycopathologia** **185**, 813–842 (2020). <https://doi.org/10.1007/s11046-020-00425-0>.

SANTOS *et al.* Artigo Técnico 1 - Guia Prático para enfrentamento da Esporotricose Felina em Minas Gerais. **Revista V&Z Em Minas** | - Ano XXXVIII - Número 137 - Abr/Mai/Jun 2018. Disponível em: <https://crmvmg.gov.br/arquivos/ascom/espore.pdf>. Acesso em: 09 jul. 2024.

SANTOS, Á. F. **Esporotricose felina: distribuição das lesões e caracterização anatomopatológica utilizando diversos métodos de diagnóstico**. 2020. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Escola de Veterinária – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2020.

SCHALCH, V.; MASSUKADO, L. M.; BIANCO, C. I. Compostagem. In: NUNES, R. R.; REZEDE, M. O. de O. **Recurso Solo** – propriedades e usos. São Carlos, SP: Editora Cubo, 2015. P. 633-659. ISBN: 978-85-60064-65-6. Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/291830917\\_Compostagem](https://www.researchgate.net/publication/291830917_Compostagem). Acesso em: 28 fev. 2024.

SILIA, H. DE N. **Estudos sobre compostagem com lodo de ETE com vistas à aplicação em solo agrícola**. Trabalho de Conclusão de Curso – ( Bacharelado em Engenharia Ambiental e Urbana) - Universidade Federal do ABC. Santo André, Sp. Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/306400371\\_Studies\\_about\\_SWWTP\\_sludge\\_composting\\_with\\_a\\_view\\_to\\_apply\\_in\\_agricultural\\_soil](https://www.researchgate.net/publication/306400371_Studies_about_SWWTP_sludge_composting_with_a_view_to_apply_in_agricultural_soil). Acesso em: 10 jul. 2024.

SILVA *et al.* Aspectos clínicos e terapêuticos da esporotricose felina: Revisão de literatura. **Revista Ft.** v28, ed. 139, out. 2024. DOI: DOI: 10.69849/revistaft/fa10202410061619. Disponível em [https://revistaft.com.br/aspectos-clinicos-e-terapeuticos-da-esporotricose-felina-revisao-de-literatura/?utm\\_source=chatgpt.com](https://revistaft.com.br/aspectos-clinicos-e-terapeuticos-da-esporotricose-felina-revisao-de-literatura/?utm_source=chatgpt.com). Acesso em: 31 mar. 2025.

SILVA *et al.* Urban sporotrichosis: a neglected epidemic in Rio de Janeiro, Brazil. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, 28(10):1867-1880, out, 2012. Disponível em: <https://www.scielosp.org/pdf/csp/2012.v28n10/1867-1880/pt>. Acesso em: 13 jul. 2024.

SILVA, D. T. *et al.* **Esporotricose zoonótica: procedimentos de biossegurança**. *Acta Scientiae Veterinariae*, 2012. 40(4): 1067. Disponível em: <https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/36333>. Acesso em: 19 mar. 2024.

SINGH P.; MONDAL T.; SHARMA R.; MAHALAKSHMI, N.; GUPTA, M. Gestão de resíduos de aves. **Internacional Jornal de Microbiologia Atual e Ciências Aplicadas**, 2018; 7(8):701-712. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2018.708.077>.

SISTEMA NACIONAL DE INFORMAÇÕES SOBRE SANEAMENTO – SNIS. **Painel de Informações sobre Saneamento** (SNIS 2023 - ano de referência 2022). Disponível em: <https://www.gov.br/cidades/pt-br/aceso-a-informacao/acoes-e-programas/saneamento/sinisa>. Acesso em: 13 jul. 2024.

SOUZA, H. A. *et al.* Physical and microbiological characteristics process of composting waste from animals. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.71, n.1, p.291-302, 2019. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1112708/caracteristicas-fisicas-e-microbiologicas-de-compostagem-de-residuos-animais>. Acesso em: 03 jun. 2023.

VALENTE, B.S. *et al.* Fatores que afetam o desenvolvimento da compostagem de resíduos orgânicos. **Arch. Zootec.**, v.58, p.59-85, 2009. Disponível em: <https://www.uco.es/ucopress/az/index.php/az/article/view/5074/3285>. Acesso em: 25 jun. 2023.

VIEIRA, L. DE L. **O papel da etologia clínica de cães e gatos na prevenção de zoonoses**. Trabalho de Conclusão de curso (Bacharelado em Medicina Veterinária) - Universitário do Planalto Central Aparecido dos Santos, Gama, DF, 2023. Disponível em: <https://dspace.uniceplac.edu.br/handle/123456789/2841>. Acesso em: 13 jul. 2024.

VILIHENA, A. (Coord.) Lixo municipal: manual de gerenciamento integrado – 4. ed. – São Paulo (SP): **CEMPRE**, 316 p. 2018. Disponível em: [https://cempre.org.br/wp-content/uploads/2020/11/6-Lixo\\_Municipal\\_2018.pdf](https://cempre.org.br/wp-content/uploads/2020/11/6-Lixo_Municipal_2018.pdf). Acesso em: 10 jul. 2024.

ZHANG, *et al.* Incineration experiment of medical waste of novel coronavirus pneumonia (COVID-19) in a mobile animal carcass incinerator. **Waste Disposal & Sustainable Energy** (2021) 3:177–183. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s42768-020-00067-4>. Acesso em: 03 mai. 2024.

ZHANG, *et al.* Phylogeography and evolutionary patterns in *Sporothrix* spanning more than 14 000 human and animal case reports. **Persoonia** 35, 2015: 1– 20. DOI: <https://doi.org/10.3767/003158515X687416>.

### III. CAPÍTULO 2: AVALIAÇÃO DA VIABILIDADE DO *Sporothrix brasiliensis* IN VITRO SOB CONDIÇÕES DE TEMPERATURAS VERIFICADAS DURANTE A COMPOSTAGEM DE CADÁVERES DE FELINOS INFECTADOS

#### RESUMO

O presente estudo investiga a adaptação e viabilidade do fungo *S. brasiliensis* sob diferentes condições de estresse térmico, com o objetivo de avaliar o potencial da compostagem como uma estratégia para inativação do patógeno em resíduos biológicos. As culturas de *Sporothrix* spp. foram expostas a diferentes temperaturas, incluindo < 0 °C, 22 °C, 37°C, 43 °C, 56 °C e 67 °C, e a viabilidade fúngica foi monitorada por meio de contagem celular e avaliação da integridade das células, utilizando corante azul de tripan. A análise revelou que o fungo foi incapaz de sobreviver a 67 °C, resultando em 0% de viabilidade celular nesta temperatura. No entanto, uma cultura exposta a 63 °C por cinco horas mostrou viabilidade residual, sugerindo que a temperatura máxima que o fungo suporta esteja entre 63 °C e 67 °C, pelo período de aproximadamente cinco horas. Este estudo também destaca a importância da variabilidade genética de *S. brasiliensis* para a sua adaptabilidade a diferentes ambientes e tratamentos. Embora os resultados apresentados indiquem que a compostagem possa ser uma solução viável para a inativação de *Sporothrix* spp., a interação de fatores como umidade, aeração e pH deve ser melhor investigada em estudos futuros. O controle efetivo de *S. brasiliensis* é essencial para a saúde pública, e a implementação de estratégias sustentáveis para o manejo de resíduos biológicos oferece uma abordagem promissora para o descarte seguro de animais infectados. Futuros experimentos com maior diversidade de cultivos e condições ambientais são necessários para aprimorar o entendimento da dinâmica do patógeno e sua inativação eficiente.

Palavras-chave: Estresse térmico. Viabilidade celular. Viabilidade fúngica. Variabilidade genética. Saúde única. Sustentabilidade. Controle ambiental.

## ABSTRACT

This study investigates the adaptation and viability of the fungus *S. brasiliensis* under different thermal stress conditions to evaluate the potential of composting as a strategy for pathogen elimination in biological waste. *Sporothrix* spp. cultures were exposed to various temperatures, including  $< 0^{\circ}\text{C}$ ,  $22^{\circ}\text{C}$ ,  $37^{\circ}\text{C}$ ,  $43^{\circ}\text{C}$ ,  $56^{\circ}\text{C}$ , and  $67^{\circ}\text{C}$ . Fungal viability was monitored through cell counting and cell integrity assessment using Trypan Blue staining. The analysis revealed that the fungus was unable to survive at  $67^{\circ}\text{C}$ , resulting in 0% cell viability at this temperature. However, a culture exposed to  $63^{\circ}\text{C}$  for five hours exhibited residual viability, suggesting that the maximum temperature the fungus can withstand is between  $63^{\circ}\text{C}$  and  $67^{\circ}\text{C}$  for approximately five hours. This study also highlights the importance of *S. brasiliensis* genetic variability in its adaptability to different environments and treatments. Although the findings indicate that composting may be a viable solution for the elimination of *Sporothrix* spp., factors such as moisture, aeration, and pH should be further investigated in future studies. Effective control of *S. brasiliensis* is essential for public health, and the implementation of sustainable strategies for biological waste management presents a promising approach for the safe disposal of infected animals. Future experiments with a greater diversity of cultures and environmental conditions are necessary to enhance the understanding of pathogen dynamics and its efficient elimination.

**Keywords:** Thermal stress, cell viability, fungal viability, genetic variability, One Health, sustainability, environmental control.

## 1 INTRODUÇÃO

*Sporothrix brasiliensis* é um fungo patogênico emergente de significativa relevância clínica e impacto na saúde pública, particularmente em regiões tropicais e subtropicais. Integrante do clado clínico, essa espécie distingue-se por sua elevada virulência e potencial de transmissão, especialmente entre felinos domésticos, os quais desempenham um papel central na disseminação zoonótica da infecção. A esporotricose, micose subcutânea causada por *S. brasiliensis*, pode apresentar espectro clínico variável, evoluindo para formas disseminadas, sobretudo, em indivíduos imunocomprometidos, nos quais a infecção pode assumir caráter invasivo e de difícil manejo terapêutico (ZHANG *et al.*, 2015).

O dimorfismo térmico é uma das principais características adaptativas de *Sporothrix* spp., permitindo sua transição morfológica entre as formas micelial, encontrada no ambiente, e leveduriforme, predominante em hospedeiros mamíferos. Essa transição é modulada por fatores ambientais, como temperatura e disponibilidade de nutrientes, e é essencial para a patogênese do fungo (MARIMÓN *et al.*, 2007). Estudos sugerem que o aumento da pressão parcial de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) no microambiente do hospedeiro também desempenha um papel significativo nesse processo, influenciando a regulação gênica e o desenvolvimento da forma parasitária (RODRIGUEZ-DEL VALLE *et al.*, 1983).

O controle de *S. brasiliensis* em cadáveres de felinos infectados é um desafio relevante, dada a capacidade do fungo de sobreviver em condições ambientais adversas. A compostagem é uma alternativa promissora para o descarte desses cadáveres, considerando seu potencial para inativar microrganismos por meio da elevação da temperatura durante o processo de degradação orgânica. No entanto, há uma lacuna no conhecimento sobre a resistência térmica de *S. brasiliensis* e sua capacidade de adaptação a temperaturas elevadas. Estudos preliminares indicam que certos fungos podem resistir a temperaturas extremas, mas os limites específicos para *Sporothrix* spp. ainda não foram determinados (SALOMÃO; MASSAGUER; ARAGÃO, 2008).

Ademais, a plasticidade genômica de *S. brasiliensis*, incluindo a presença de elementos transponíveis e a amplificação de genes associados à resposta ao estresse, sugere um alto potencial adaptativo que pode influenciar sua capacidade de sobreviver em ambientes desfavoráveis (GONZAGA, 2017). A compreensão dos mecanismos moleculares subjacentes a essas respostas (CUOMO *et al.*, 2014) é crucial para o desenvolvimento de estratégias eficazes de controle e erradicação.

A investigação deste estudo buscou determinar o impacto do estresse térmico no crescimento e na viabilidade do fungo, contribuindo para o entendimento dos limites de sobrevivência desse patógeno e para a validação da compostagem como uma estratégia de controle ambiental sustentável.

## 1.1 Justificativa

O aumento na incidência de esporotricose zoonótica, causada por *S. brasiliensis*, tem se tornado um desafio significativo para a saúde pública no Brasil e em outras regiões. Este fungo, altamente virulento e adaptado ao hospedeiro felino, apresenta notável capacidade de propagação em ambientes urbanos e periurbanos, gerando impactos ambientais, clínicos e epidemiológicos graves. Assim, o manejo seguro de cadáveres de felinos infectados é uma prioridade para mitigar a disseminação do patógeno e proteger a saúde humana e animal.

A compostagem de resíduos orgânicos, incluindo cadáveres de animais, destaca-se como uma solução sustentável e economicamente viável para o tratamento desses materiais. No entanto, a eficácia desse método na inativação de patógenos termotolerantes, como *S. brasiliensis*, ainda não foi completamente elucidada. Pesquisas que investiguem a resistência térmica e os mecanismos de adaptação desse fungo às temperaturas encontradas durante a compostagem são fundamentais para validar a segurança e eficiência desse processo.

Além disso, compreender a biologia e a termotolerância de *S. brasiliensis* sob condições controladas é essencial para subsidiar estratégias de manejo ambiental. A caracterização do impacto do estresse térmico sobre a viabilidade e integridade celular do fungo pode fornecer *insights* sobre pontos críticos de controle durante a compostagem.

Este trabalho, ao avaliar a resposta de *S. brasiliensis* às condições de temperatura típicas da compostagem, contribui diretamente para o avanço científico na área de controle de zoonoses fúngicas. Os resultados obtidos terão implicações práticas para a formulação de políticas públicas, auxiliando na redução do impacto da esporotricose e promovendo abordagens mais seguras e eficazes no manejo ambiental de agentes infecciosos. Portanto, a realização deste estudo justifica-se tanto pela relevância científica quanto pela necessidade de soluções práticas que atendam à crescente demanda por métodos de controle ambiental seguros e sustentáveis, especialmente em cenários de alta carga zoonótica, como o enfrentado atualmente.

## 2. PROBLEMA

A compostagem tem sido sugerida como uma alternativa para a inativação segura de cadáveres de felinos infectados pelo *S. brasiliensis*, minimizando o risco ambiental de transmissão do fungo. No entanto, ainda não há uma compreensão clara sobre as possibilidades do patógeno em diferentes temperaturas durante o processo de compostagem. Assim, o problema da presente pesquisa foi responder à pergunta:

O tempo de exposição às temperaturas observadas durante o processo de compostagem é eficaz para inativar o *S. brasiliensis*, ou o fungo mantém sua viabilidade sob determinadas temperaturas durante o processo?

### 3. HIPÓTESES

#### 3.1. Hipótese principal ( $H_0$ - Hipótese nula)

O *S. brasiliensis* mantém sua viabilidade em todas as faixas de temperatura verificadas durante a compostagem dos cadáveres de felinos infectados, indicando que o processo pode não ser suficiente para sua completa inativação.

#### 3.2. Hipótese alternativa ( $H_1$ - Hipótese de pesquisa)

O *S. brasiliensis* perde viabilidade em determinadas faixas de temperatura alcançadas durante a compostagem, sugerindo que o processo pode ser uma estratégia eficaz para a inativação do patógeno.

Como há subdivisões experimentais baseadas em faixas de temperatura, hipóteses específicas foram estabelecidas, como:

- $H_2$ : O *S. brasiliensis* mantém sua viabilidade em resposta a um estresse térmico, quando previamente exposto a um estresse mais leve, adaptando-se às condições ambientais mais hostis.
- $H_3$ : O *S. brasiliensis* é inativado quando exposto subitamente a temperaturas extremas, sem desenvolver respostas adaptativas.

## 4. OBJETIVOS

### 4.1 Objetivo geral

Avaliar o comportamento “*in vitro*” do *S. brasiliensis* sob a presença de CO<sub>2</sub> e diferentes condições de temperaturas similares às da compostagem dos cadáveres de felinos infectados.

### 4.2 Objetivos específicos

- Elaborar experimento-piloto de estresse térmico agudo ao *S. brasiliensis*;
- Verificar a capacidade do *S. brasiliensis* em se desenvolver na forma leveduriforme sob pressão de CO<sub>2</sub>;
- Comparar o dimorfismo adaptativo fúngico, antes e após os desafios térmicos;
- Quantificar as células em cada cultivo, submetidos às diferentes condições de tempo e temperaturas similares às da compostagem de cadáveres;
- Determinar a viabilidade das leveduras, a partir da integridade da membrana celular de *S. brasiliensis*, antes e após os diferentes desafios térmicos.

## 5. REFERENCIAL TEÓRICO

### 5.1 Biologia e virulência do *Sporothrix brasiliensis*

O gênero *Sporothrix* compreende fungos dimórficos amplamente distribuídos no ambiente, especialmente no solo e em material vegetal em decomposição. Entre as espécies patogênicas, destacam-se *S. schenckii*, *S. brasiliensis*, *S. globosa* e *S. luriei*, que formam o chamado clado clínico (RODRIGUES *et al.*, 2020). Esses fungos podem causar esporotricose, uma micose subcutânea que afeta humanos e animais, caracterizada por lesões cutâneas e subcutâneas resultantes da inoculação traumática do fungo nos tecidos (PRADO *et al.*, 2023; RODRIGUES, 2015).

No Brasil, *S. brasiliensis* destaca-se por estar associado a surtos de esporotricose zoonótica transmitida por gatos domésticos. Essa espécie apresenta elevada virulência, manifestada por quadros clínicos e como um patógeno emergente, especialmente em ambientes urbanos, sendo frequente de maior gravidade (FREITAS *et al.*, 2015). O número de cães associados à transmissão zoonótica da esporotricose pode demonstrar a adaptação fúngica e também seus aspectos de virulência (NETO *et al.*, 2023; RAMOS *et al.*, 2017).

Características como termotolerância, produção de enzimas extracelulares e resistência ao estresse oxidativo são fatores determinantes para sua elevada patogenicidade (FREITAS *et al.*, 2015; MARIO *et al.*, 2017). Além disso, a significativa capacidade de transmissão entre humanos e animais reforça sua relevância como um problema emergente de saúde pública (ROSSATO, 2017).

#### 5.1.1 Mecanismos de adaptação e sobrevivência

Estudos indicam que *S. brasiliensis* apresenta uma diversidade genética significativa entre suas cepas, o que pode influenciar sua capacidade de adaptação a condições ambientais variadas e sua patogenicidade. Por exemplo, a identificação de diferentes variantes genômicas em regiões distintas do Brasil sugere que essa diversidade genética pode estar relacionada à propagação geográfica e à manifestação clínica da esporotricose (LOSADA, 2023; FILHO *et al.*, 2020).

A variabilidade genética de *S. brasiliensis* é amplamente moldada pela presença de elementos transponíveis (TEs), sequências móveis de DNA que desempenham um papel crucial na plasticidade genômica do fungo. Esses elementos podem causar mutações, rearranjos

estruturais e alterações na expressão gênica, contribuindo para a diversidade intraespecífica e para sua capacidade de adaptação a diferentes ambientes. Estudos identificaram a presença de retrotransposons das ordens LTR e LINE, além de transposons de DNA pertencentes às superfamílias Tc1-Mariner, hAT e Mutator, com *S. brasiliensis* exibindo uma densidade maior de TEs em relação a *S. schenckii*. Essa maior quantidade de TEs pode estar associada à diferenciação genética, à adaptação ambiental e à virulência do patógeno. Além disso, os TEs são considerados fatores relevantes na modulação da virulência, pois sua inserção em regiões reguladoras ou codificadoras de genes relacionados à patogenicidade pode alterar a expressão gênica, resultando em fenótipos com diferentes níveis de virulência. Essa atividade transpositiva também favorece a geração de diversidade antigênica, permitindo ao fungo se adaptar ao ambiente, como evadir do sistema imunológico do hospedeiro (GONZAGA, 2017).

O genoma de *S. brasiliensis* contém ortólogos de genes conhecidos por desempenharem papéis cruciais na termotolerância em outros fungos patogênicos, como *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus* e *Cryptococcus neoformans*. Dentre eles, estão HSP60, HSP104, SSA1, SSB1, CGRA, SCH9, HSF1, BIP/KAR2, SSC70, HSP88, LHS1/ORP150, HSP90 e CCR4, os quais codificam, principalmente, proteínas de choque térmico. Essas proteínas são essenciais para a estabilidade proteica e a adaptação ao estresse térmico, características fundamentais para a sobrevivência do fungo em ambientes hostis, como no interior do hospedeiro mamífero (GÓMES-GAVIRIA, 2023).

Apesar de a função específica desses genes em *S. brasiliensis* ainda não estar completamente elucidada, estudos realizados em espécies próximas, como *S. schenckii*, fornecem evidências relevantes. Em *S. schenckii*, foi demonstrado que a Hsp90 interage com a quinase SSCMK1, sendo essencial para a termotolerância; a inibição desta proteína compromete severamente a sobrevivência em condições de altas temperaturas. Esses achados reforçam a hipótese de que os genes relacionados à Hsp90 e suas funções podem desempenhar papéis igualmente críticos na adaptação de *S. brasiliensis* ao estresse térmico, contribuindo para sua virulência e patogenicidade, embora estudos específicos na espécie ainda sejam necessários (RODRIGUEZ-CABAN, 2011).

## 5.2 Cultivo do *Sporothrix* spp.

Lesões causadas por *Sporothrix* spp. em felinos, especialmente por *S. brasiliensis*, são fontes comuns de isolamento. O processo de obtenção da levedura dessas lesões é relativamente prático devido à alta carga fúngica presente em amostras de pus ou tecidos infectados (DO PRADO *et al.*, 2023). O fungo é facilmente cultivado em meio de cultura, como Ágar Sabouraud ou Ágar Mycosel, a 28 °C, onde o crescimento ocorre predominantemente na forma filamentosa, que é a fase ambiental do fungo (ETCHECOPAZ *et al.*, 2021). O crescimento na forma leveduriforme requer cultivo a 37 °C em ágar *Brain Heart Infusion*, ágar sangue ou ágar chocolate, resultando em colônias lisas, de cor branca ou creme, compostas por células leveduriformes alongadas em forma de charuto, medindo 2–6 µm de comprimento (ETCHECOPAZ *et al.*, 2021; ROSSOW *et al.*, 2020).

Embora sejam escassos artigos científicos que investigam especificamente a influência isolada do CO<sub>2</sub> no dimorfismo do *S. brasiliensis*, em outros fungos dimórficos, como *Coccidioides* spp., estudos demonstram que a tensão elevada de CO<sub>2</sub> é necessária para a germinação de artroconídios em esférulas a 37°C, indicando que o CO<sub>2</sub> pode desempenhar um papel no dimorfismo fúngico. Embora esses achados não possam ser diretamente extrapolados para *S. brasiliensis*, eles sugerem que o CO<sub>2</sub> pode influenciar o dimorfismo em fungos patogênicos (GAUTHIER, 2017).

## 5.3 *Sporothrix*, One health e desenvolvimento sustentável

A gestão inadequada de resíduos biológicos representa um risco significativo para a contaminação ambiental e a propagação de doenças zoonóticas, como a esporotricose. Estudos têm demonstrado que práticas sustentáveis no manejo desses resíduos são essenciais para mitigar impactos ambientais e proteger a saúde pública. Tais práticas incluem a segregação dos resíduos na fonte, a utilização de tecnologias inovadoras para o tratamento de materiais contaminados e a implementação de políticas públicas efetivas (LEE; LEE, 2022).

No Brasil, o aumento da incidência de esporotricose, especialmente em regiões urbanas, tem sido associado à transmissão por gatos domésticos infectados. Dados epidemiológicos recentes destacam a relevância da abordagem de Saúde Única, que integra saúde humana, animal e ambiental, como estratégia primordial para o controle dessa zoonose. Esse modelo de atuação exige a colaboração entre setores governamentais, sociedade civil e

profissionais de saúde, garantindo a sustentabilidade e a proteção da saúde global (COGNIALLI, 2023).

A gestão correta de cadáveres de animais infectados com patógenos zoonóticos é um componente fundamental para o alcance de diversas metas dos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) da Organização das Nações Unidas (ONU). A integração de práticas de manejo sustentável de resíduos biológicos com as metas dos ODS reflete um compromisso com a saúde global e a sustentabilidade. Além de abordar desafios locais, como o controle da esporotricose no Brasil, essas ações contribuem para a promoção de uma abordagem holística, com impactos positivos na saúde humana, animal e ambiental. Os ODS promovem a erradicação da pobreza, a proteção ambiental e a prosperidade global, com vistas à Agenda 2030. Entre os 17 objetivos, destacam-se, a seguir, aqueles diretamente relacionados ao manejo de resíduos biológicos e ao controle da esporotricose.

### **5.3.1 ODS 3 - Saúde e Bem-Estar**

*Sporothrix* spp. é um fungo zoonótico transmitido por gatos infectados (RODRIGUES, A. M; DE HOOG, G. S., DE CAMARGO, Z. P., 2013) cuja disseminação pode ser prevenida por meio do manejo adequado de cadáveres. Protocolos de coleta e descarte seguro, como incineração controlada ou tratamento em unidades especializadas, são medidas imprescindíveis para proteger a saúde pública e o bem-estar animal (SBD, 2023).

### **5.3.2 ODS 6 - Água Potável e Saneamento**

O descarte inadequado de cadáveres em rios ou próximo a corpos d'água representa um risco de contaminação por fungos zoonóticos, comprometendo a qualidade da água e a saúde das comunidades. A regulamentação rigorosa para evitar tais práticas é fundamental para a conservação dos recursos hídricos e a manutenção de sistemas de saneamento eficazes (FIGUEIREDO FILHO; PACHECO; MANFREDINI, 2010).

### ***5.3.3 ODS 11 - Cidades e Comunidades Sustentáveis***

O manejo inadequado de cadáveres em áreas urbanas pode perpetuar a presença de microrganismos patogênicos no ambiente, impactando negativamente a qualidade de vida. A criação de infraestruturas específicas, como pontos de coleta e serviços especializados no descarte de animais infectados, é essencial para reduzir esses impactos (FERREIRA, 2022).

### ***5.3.4 ODS 12 - Consumo e Produção Responsáveis***

Práticas responsáveis no descarte de resíduos biológicos, incluindo a compostagem controlada, podem eliminar microrganismos patogênicos e transformar a matéria orgânica em insumos úteis para a agricultura. Esse enfoque está alinhado com a promoção do consumo sustentável e a economia circular (NICOLOSO, R. da S.; LOURENZI, C. R.; BRUNETTO, G.; 2024).

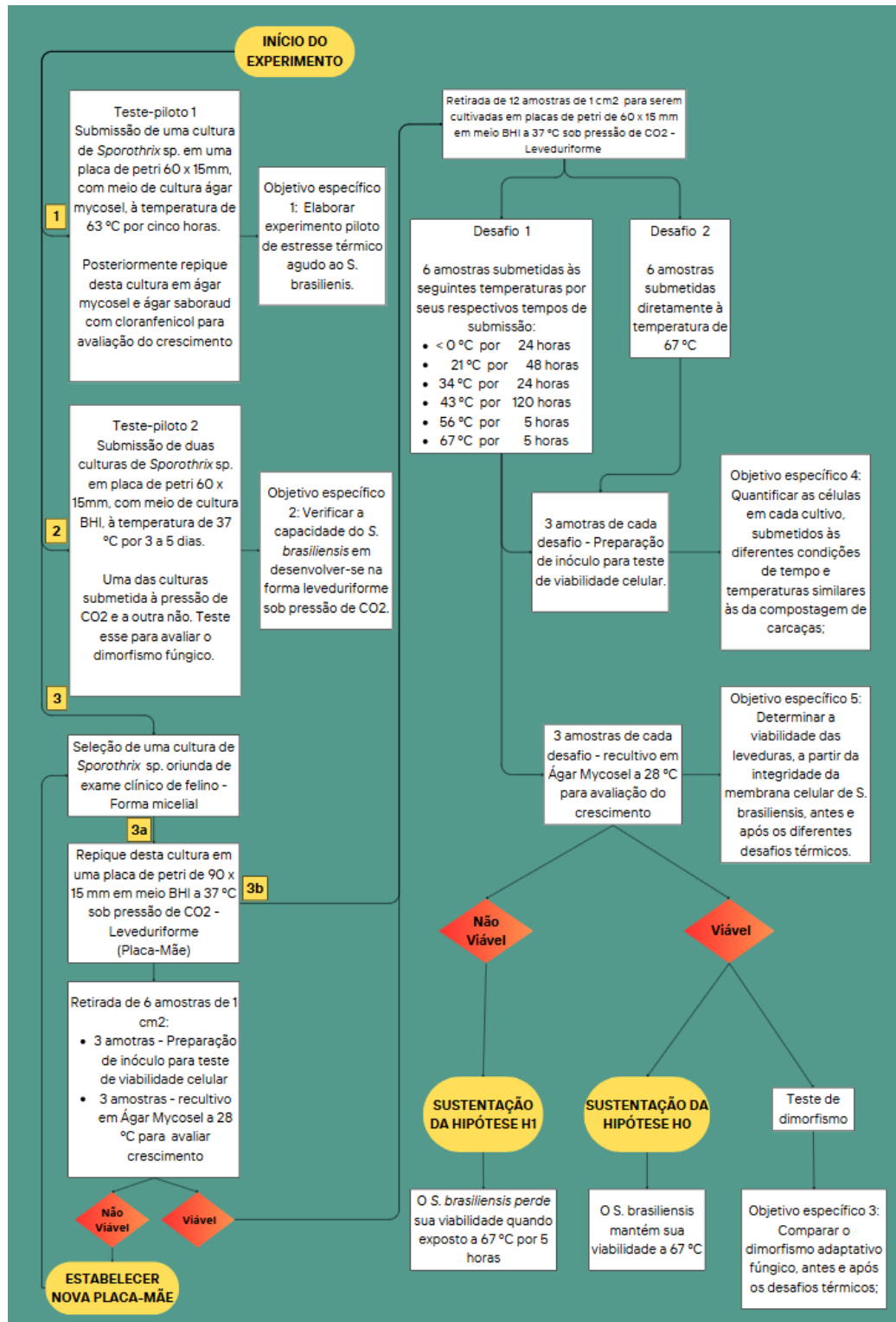
### ***5.3.5 ODS 15 - Vida Terrestre***

O descarte indevido de cadáveres pode comprometer ecossistemas terrestres, facilitando a transmissão do fungo para espécies selvagens e impactando a biodiversidade. Políticas de proteção ambiental, que garantam a segurança de habitats em áreas periurbanas, são cruciais para mitigar esses efeitos (BRASIL, 2016).

## 6 MATERIAL E MÉTODOS

As etapas experimentais obedeceram ao ordenamento apresentado no fluxograma (Figura 22) que se segue.

Figura 22 - Fluxograma das etapas metodológicas seguidas pelos experimentos realizados



### 6.1 Teste de estresse térmico agudo ao *S. brasiliensis*

A partir de uma amostra clínica de *S. brasiliensis* cultivada no Laboratório de Biologia Molecular e Micologia (Labiomic) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) – todas as amostras e cultivos dos experimentos deste trabalho se deram por meio da parceria com esse laboratório – quatro repiques foram realizados, sendo dois em Ágar Mycosel e dois em Ágar Saboraud com cloranfenicol. Um repique de cada meio foi submetido à temperatura de 63 °C pelo período de cinco horas, enquanto os outros dois repiques foram mantidos à temperatura ideal de crescimento deste fungo, ou seja, 28 °C.

Essa temperatura foi escolhida pelo fato de haver um relato da equipe do laboratório em que o fungo havia se mantido viável após uma exposição à temperatura de 60 °C durante quatro horas. Desta maneira, esse estudo (preliminar) proporciona um estresse maior do que aquele relatado e menor do que seria aplicado ao desafio II, descrito *a posteriori*.

Após o estresse térmico, a cultura foi novamente replicada em ambos os meios já descritos, para que se pudesse efetuar a comparação entre os repiques que sofreram o estresse e aqueles que não sofreram.

### 6.2 Verificação da capacidade do *S. brasiliensis* em se desenvolver na forma leveduriforme sob pressão de CO<sub>2</sub>

A capacidade de um fungo se desenvolver na forma leveduriforme, sob pressão de CO<sub>2</sub>, é fundamental para sua adaptação ao ambiente do hospedeiro e sua patogenicidade. Na prática, isso tem implicações em diversas áreas, incluindo a microbiologia médica, a saúde animal e o controle ambiental (GAUTHIER, 2017).

Duas réplicas de uma mesma cultura foram submetidas às mesmas condições de cultivo (meio de cultura Ágar BHI e temperatura de 37 °C). A diferença experimental estava na pressão de CO<sub>2</sub>, à qual apenas uma das réplicas foi submetida.

Para potencializar a conversão para o estado leveduriforme, a placa foi mantida em um frasco de vidro vedado com tampa, juntamente com uma vela acesa (Figura 23). Durante a combustão da parafina, o oxigênio é consumido, produzindo água (H<sub>2</sub>O) e dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) como subprodutos (LEAL *et al.*, 2014). A elevação na pressão parcial de CO<sub>2</sub>, combinada com a temperatura e a oferta de nutrientes, desempenha um papel crucial na regulação do dimorfismo fúngico (DROUHET; MARIAT, 1952 apud RODRIGUEZ-DEL VALLE; ROSARIO; TORRES-BLASINI, 1983).

Figura 23 - Simulação para aumento da pressão de CO<sub>2</sub> para cultivo de leveduras de *Sporothrix brasiliensis*



Fonte: O autor

### 6.3 Desafios para análise do comportamento sob diferentes condições de temperatura

A partir do cultivo de uma amostra clínica, um novo cultivo deu origem à Placa-mãe, da qual se retiraram 18 fragmentos (1 cm<sup>2</sup>) para serem replicados (18 réplicas), avaliando-se o comportamento fúngico sob as variadas temperaturas, determinadas com base naquelas observadas durante o processo de compostagem dos cadáveres de gatos contaminados (Experimento - Capítulo 1 da presente dissertação). Todas as colônias de *S. brasiliensis*, incluindo a Placa-mãe, foram realizadas em ágar Infusão Cérebro-Coração (BHI).

Para o presente estudo, calculou-se a mediana das mensurações destas temperaturas considerando-se os seguintes intervalos: de 20 a 29 °C, de 30 a 39 °C, de 40 a 49 °C, de 50 a 59 °C e de 60 a 70 °C. O tempo que cada réplica permaneceu sob determinada temperatura correspondeu ao menor período de duração dessa temperatura observado nas composteiras. Segundo Marimom *et al.* (2007), que avaliaram o crescimento fúngico, há variações nas respostas fúngicas, dependendo da temperatura a que é submetido.

Antes da submissão das réplicas aos desafios experimentais, a viabilidade do cultivo fúngico foi avaliada para assegurar que as células estavam metabolicamente ativas,

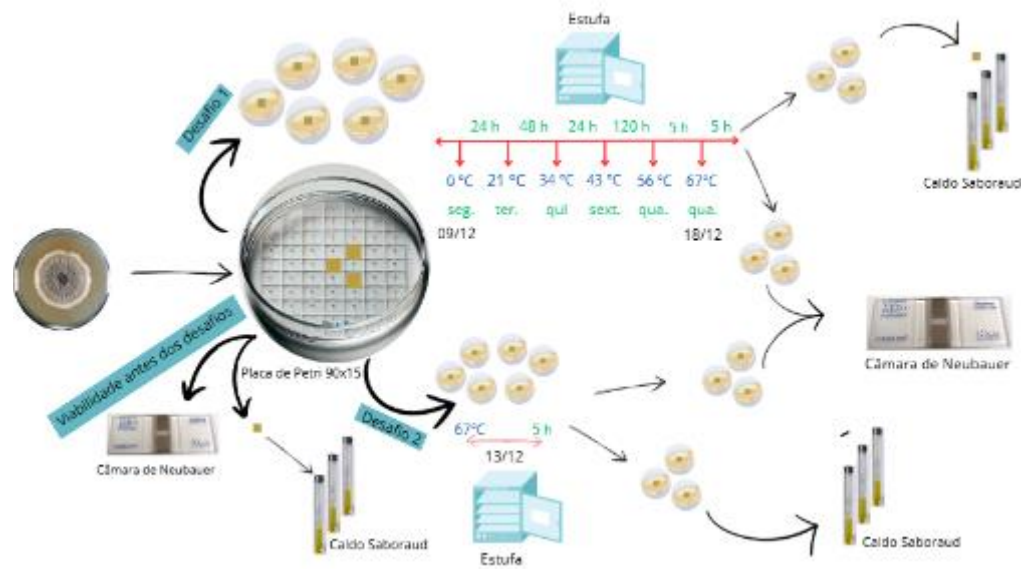
garantindo, assim, a comparabilidade entre os resultados obtidos antes e após a exposição aos desafios.

Para análise da resposta fúngica frente ao estresse térmico, foram simulados dois desafios diferentes:

- **Desafio 1:** as seis amostras de *Sporothrix* spp. foram submetidas à elevação gradual da temperatura até atingir 67 °C (Figura 24). Esse processo visou simular as condições extremas encontradas durante a compostagem, testando a capacidade dos fungos de resistirem a temperaturas que se aproximam do limite letal para a maioria dos microrganismos. Ao monitorar a viabilidade celular em diferentes alcances de temperatura, almejava-se obter dados valiosos sobre a adaptabilidade e a resistência térmica desse fungo.

- **Hipótese balizadora:** a capacidade de um organismo melhorar sua performance em resposta a um estresse severo, após ter sido previamente exposto a um estresse mais leve, é conhecida como *priming* (RILLIG *et al.*, 2015; HILKER *et al.*, 2015). Na literatura, esse fenômeno também é descrito por outros termos, como "proteção cruzada" ou "resposta adquirida ao estresse" (BERRY E GASCH, 2008; GUAN *et al.*, 2012; ANDRADE-LINARES; VERESOGLOU; RILLIG, 2016).

Figura 24 - Esquema do passo a passo metodológico para realização do experimento



Fonte: O autor

- **Desafio 2:** seis placas foram expostas unicamente ao limite de temperatura, simulando condições de estresse térmico agudo (MARIMOM, 2007). Cada placa mantida em temperatura ambiente foi submetida à temperatura específica de 67 °C por um período determinado, sem passar por uma progressão gradual (Figura 24). Esse procedimento visou avaliar a viabilidade dos fungos diante de choques térmicos repentinos, simulando cenários mais severos de compostagem. O objetivo foi verificar se os fungos apresentariam capacidade de adaptação imediata ou se seriam rapidamente inativados frente a variações bruscas e extremas de temperatura.

- **Hipótese balizadora:** a exposição súbita a temperaturas extremas pode forçar o fungo a enfrentar condições hostis antes de desenvolver respostas adaptativas, potencialmente interrompendo mecanismos de resistência ao calor que são ativados com o tempo (HARISH; OSHEROV, 2022) .

Das seis réplicas submetidas a cada um dos desafios, três de cada grupo foram inicialmente cultivadas em caldo *Sabouraud* com cloranfenicol por um período de 48 horas e, em seguida, transferidas para placas contendo ágar Mycosel. Essas amostras foram incubadas a 28 °C, com o propósito de analisar o crescimento fúngico sob condições controladas. As outras três réplicas foram reservadas para a preparação de inóculos, sendo utilizadas na contagem celular e na avaliação da viabilidade celular por meio da câmara de *Neubauer* ao microscópio, com o auxílio de corante vital para discriminação entre células viáveis e inviáveis.

Considerando-se o potencial patogênico e zoonótico do fungo manipulado, todas as etapas do procedimento foram realizadas em uma capela de fluxo laminar. Para evitar contaminação das amostras, a capela foi previamente higienizada utilizando-se amônia quaternária e álcool 70%, sendo posteriormente submetida à incidência de luz ultravioleta (UV) por pelo menos 15 minutos.

### ***6.3.1 Comparação do dimorfismo fúngico adaptativo antes e após os desafios térmicos***

Para validar o dimorfismo de *Sporothrix* spp., realizar-se-ia o repique das culturas em meio *Brain Heart Infusion* (BHI), seguido de incubação a 37 °C por um período de 3 a 5 dias, em um frasco de vidro vedado com tampa, juntamente com uma vela acesa. Nessas condições, ocorre o desenvolvimento da forma leveduriforme, correspondente ao estágio parasitário do fungo. Esse protocolo visa induzir a transição morfológica característica do patógeno, evidenciando sua capacidade de alternar entre as formas micelial e leveduriforme (FERREIRA, 2018; MARIMÓN, 2007).

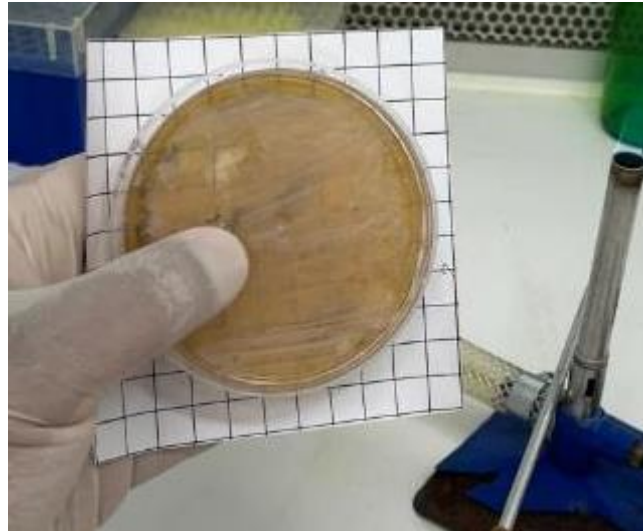
### ***6.3.2 Quantificação das células em cultivo, submetidas às diferentes condições de tempo e temperaturas similares às da compostagem de cadáveres***

Inicialmente, visando padronizar, em uma diluição específica, a contagem das leveduras, utilizou-se uma alça de repique, com o auxílio de um gabarito (Figura 25), para a colheita de amostra correspondente a 1 cm<sup>2</sup> de cultura leveduriforme (Placa-mãe). O material coletado foi diluído em 60 µL de solução salina estéril, acondicionados em um microtubo tipo *Eppendorf*, gerando uma solução-padrão que foi submetida a mais duas diluições sequenciadas:

- (i) 20 µL desta solução inicial foram diluídos em 20 µL de solução salina;
- (ii) Antes da contagem na câmara de *Neubauer*, 20 µL desta primeira solução foram misturados a 180 µL de azul de tripan a 0,3%, permitindo a distinção entre células viáveis e não viáveis (SALDANHA, 2022; STROBER, 2015).

Para garantir a homogeneidade, em cada etapa de diluição, o pipetador foi acionado 10 vezes, sendo as ponteiros substituídas a cada troca de solução.

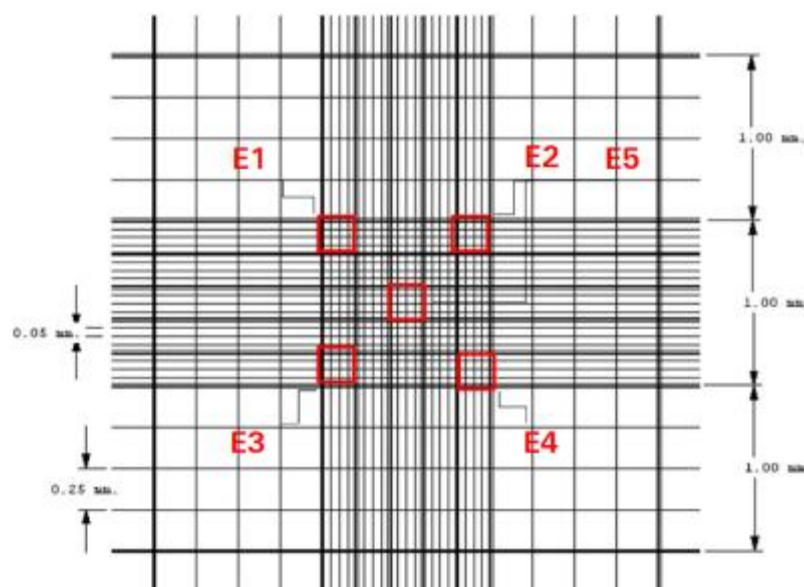
Figura 25 - Gabarito de 1 cm<sup>2</sup> para coleta das amostras fúngicas (18 réplicas)



Fonte: O autor

Para calcular o número total de células por mililitro da alíquota analisada, foi realizada a soma do número de células contadas em cinco quadrados da câmara de Neubauer (Figura 26).

Figura 26 - Demonstração das áreas consideradas para contagem de células na câmara de Neubauer



Fonte: 1 EMBRAPA, 2012

Esse valor foi extrapolado para os 25 quadrados totais por meio de multiplicação por cinco. Em seguida, o resultado foi multiplicado por 20, correspondente ao fator de diluição aplicado. Por fim, o produto foi multiplicado por 10.000, fator utilizado para converter o volume contado em mililitros, conforme exposto na fórmula a seguir:

$$\text{Total de células} = \text{Número de células}^* \times 5 \times 20 \times 10.000$$

\*O número de células corresponde à soma dos cinco quadrados contabilizados na câmara de Neubauer (E1 + E2 + E3 + E4 + E5), considerando células vivas e mortas, conforme imagem x.

### ***6.3.3 Verificação da viabilidade “in vitro” de *Sporothrix brasiliensis*, segundo variações térmicas similares à compostagem do cadáver felino***

A viabilidade do cultivo se deu pela divisão do número de células vivas pelo número de células. Multiplicou-se esse resultado por 100 para que a viabilidade fosse mostrada em percentual, de acordo com a fórmula:

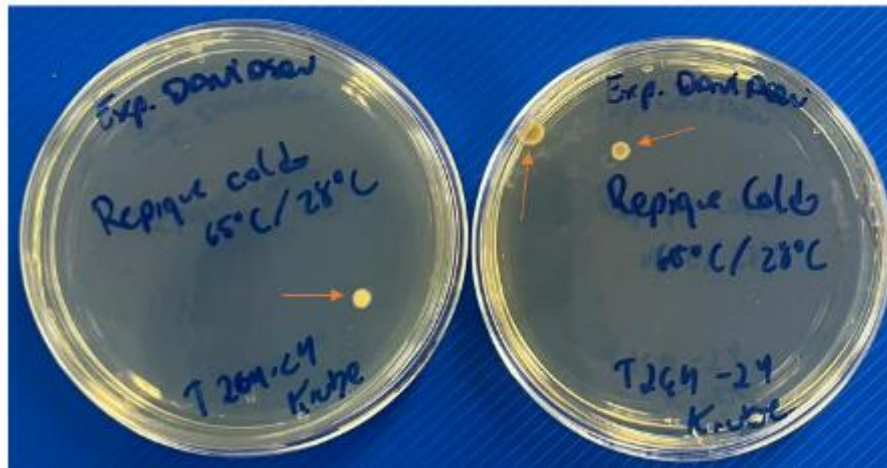
$$\text{Viabilidade celular} = \frac{\text{número de células vivas}}{\text{Número de células}} \times 100$$

## 7 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 7.1 Comparação entre os repiques do experimento-piloto

Embora este estudo não tenha confrontado diretamente os resultados com outros achados na literatura acerca da temperatura de inativação de *Sporothrix* spp., um experimento-piloto realizado com uma cultura fúngica submetida a 63 °C, por cinco horas, demonstrou viabilidade residual, evidenciada pelo crescimento fúngico após repique (Figura 27).

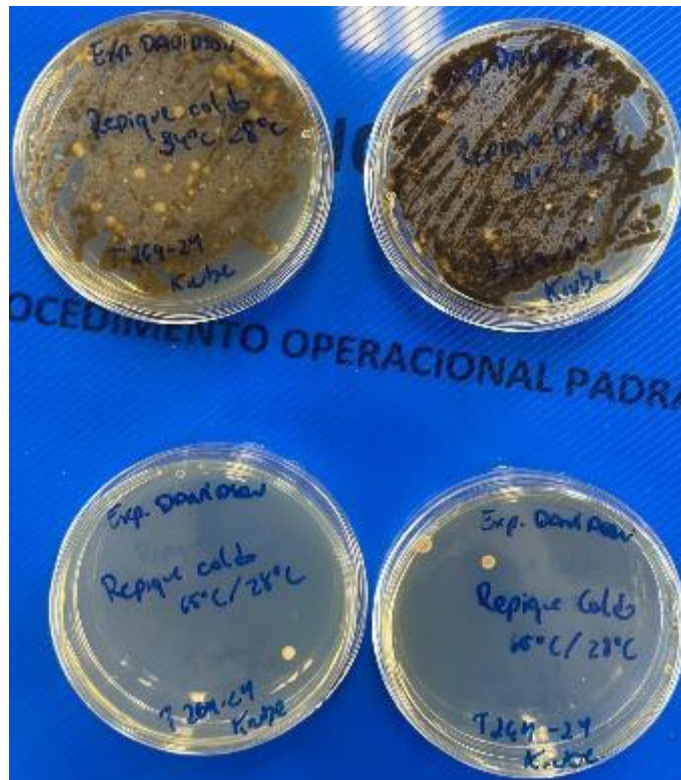
Figura 27 - 12º dia de cultivo a 63 °C pelo período de cinco horas do repique das amostras de *Sporothrix* spp.



Fonte: O autor

Ao comparar com as réplicas do mesmo cultivo que não foram submetidas ao desafio (Figura 28), observam-se uma redução destas no número de colônias e uma diminuição na pigmentação, um marcador importante de virulência fúngica. Esses resultados indicam que, embora a exposição a 63 °C não seja suficiente para neutralizar completamente o fungo, ela exerce um impacto significativo sobre sua capacidade de multiplicação.

Figura 28 - Comparação entre cultivos da mesma amostra, sujeitos ou não ao desafio de 63 °C

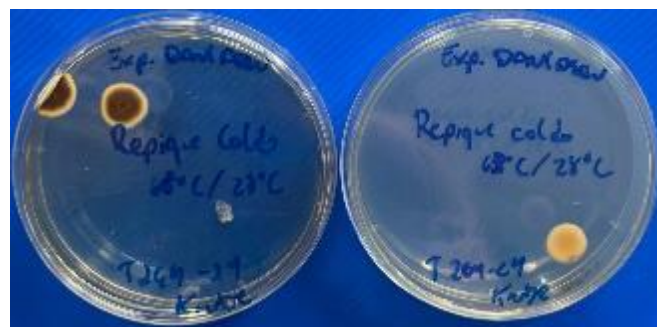


As placas inferiores foram sujeitas ao desafio de 63 °C.  
Fonte: O autor

É importante destacar a necessidade de realizar novos experimentos que incluam uma maior variedade de cultivos, a fim de ampliar a compreensão sobre os fatores que influenciam a virulência de *Sporothrix* spp. sob diferentes condições ambientais.

Com o passar dos dias, houve razoável crescimento da colônia e pigmentação na placa contendo o meio Sabouraud com cloranfenicol (Figura 29).

Figura 29 - 20º dia de cultivo a 63 °C pelo período de cinco horas do repique das amostras de *Sporothrix* spp.



Fonte: O autor

## 7.2 Dimorfismo da réplica submetida à pressão de CO<sub>2</sub>

A Figura 30 apresenta a diferença quanto ao desenvolvimento fúngico de réplicas provenientes de um mesmo cultivo mantido em condições idênticas de temperatura e nutrição. Entretanto, nota-se uma clara distinção entre elas. A amostra à direita foi submetida a um ambiente com pressão elevada de CO<sub>2</sub>, enquanto a da esquerda foi mantida sob condições normóxicas, sem restrição de oxigênio. Essa diferença reflete o impacto da pressão parcial de CO<sub>2</sub> como fator modulador no dimorfismo e no desenvolvimento do fungo.

Figura 30 - Comparação entre colônias submetidas, ou não, à simulação de pressão de CO<sub>2</sub>



Fonte: O autor

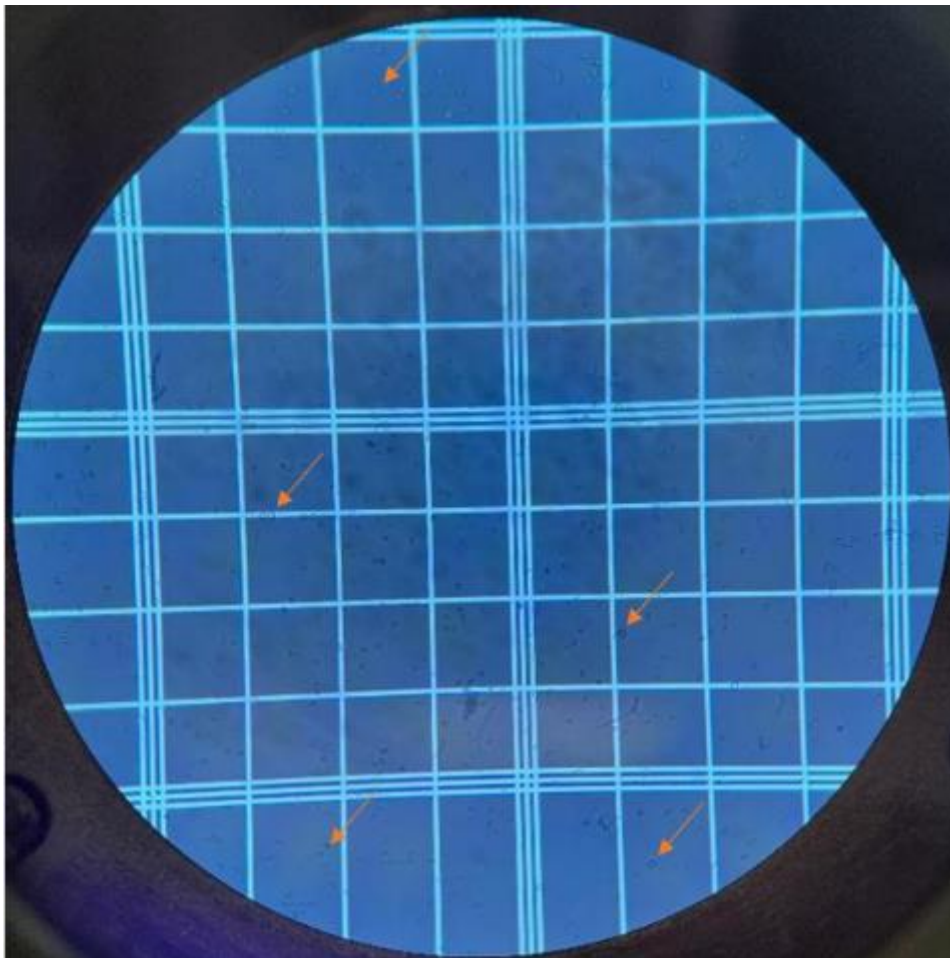
É importante destacar que estudos sobre as adaptações de *Sporothrix* spp. a diferentes temperaturas, incluindo algumas extremamente elevadas, estão revelando aspectos críticos de sua biologia que podem indicar pontos de vulnerabilidade.

Essas adaptações poderiam, futuramente, servir como base para o desenvolvimento de novas estratégias de controle do patógeno, especialmente no contexto de compostagem e tratamento ambiental. Por exemplo, a sensibilidade de *Sporothrix* spp. a estresses térmicos elevados e contínuos pode ser um fator-chave a ser explorado para aprimorar a erradicação desse fungo em processos de compostagem (BROWN *et al.*, 2014).

### 7.3 – Quantificação e viabilidade das leveduras constantes na Placa-Mãe

A contagem celular revelou uma concentração de  $4,81 \times 10^8$  células leveduriformes por mililitro (APÊNDICE A). A análise realizada por meio de hemacitômetro, utilizando microscopia óptica, indicou uma viabilidade de 100%. Essa conclusão baseou-se na ausência de células coradas em azul, evidenciando que nenhuma célula havia perdido a integridade da membrana plasmática após a adição do corante azul de tripan (Figura 31).

Figura 31 - Visualização microscópica das leveduras da cultura-mãe antes dos estresses térmicos - Contagem e viabilidade



As setas laranjas apontam alguns exemplares de estruturas em formato circular, que são as leveduras. O fato de a membrana estar corada de azul, e o interior não, demonstra que as membranas estão íntegras e, portanto, as células se encontram viáveis.

Fonte: O autor

Dado que a cultura de *S. brasiliensis* utilizada era de um repique recente e apresentava um crescimento rápido, como evidenciado pelas observações iniciais, era razoável esperar que a viabilidade das células fúngicas fosse alta. Culturas recém-estabelecidas, especialmente aquelas com um desenvolvimento vigoroso e contínuo, tendem a manter um nível elevado de atividade metabólica, o que facilita a integridade das células e contribui para uma taxa de viabilidade superior (SOLA *et al.*, 2012). Além disso, o rápido crescimento da cultura (Figura 32) sugere que as condições iniciais de cultivo favoreciam a multiplicação celular eficiente, proporcionando um ambiente ideal para a manutenção da saúde das células durante os primeiros estágios do experimento. Isso reforça a expectativa de que, antes da exposição aos desafios experimentais, o fungo estivesse em um estado fisiológico favorável, o que, por sua vez, influenciaria positivamente os resultados relativos à viabilidade celular.

Figura 32 - Crescimento de *Sporothrix* spp. nas réplicas sete dias após os repiques da cultura-mãe - antes dos desafios



Os meios utilizados para cultivo das réplicas foram Ágar Mycosel (à esquerda) e Ágar Saboraud com cloranfenicol (à direita)

Fonte: O autor

Embora esteja descrito na literatura que temperaturas em torno de 41 °C limitam o crescimento de *Sporothrix* spp. (FERREIRA, 2018), o limite superior de temperatura que ainda permite sua viabilidade permanece incerto. Em termos gerais, a inativação de microrganismos é frequentemente associada ao processo de pasteurização, que consiste em manter a temperatura de 60 °C por 30 minutos. Contudo, certos fungos filamentosos termorresistentes, como *Neosartorya fischeri* e *Byssochlamys fulva*, demonstraram capacidade de sobrevivência mesmo sob tratamento térmico de 95 °C por 20 minutos (SALOMÃO; MASSAGUER; ARAGÃO, 2008).

Adicionalmente, é importante considerar que isolados de uma mesma espécie podem apresentar respostas distintas a condições ambientais. Estudos baseados em sequenciamento de genes como calmodulina,  $\beta$ -tubulina e ITS (*Internal Transcribed Spacer*) evidenciam variações genéticas entre isolados da mesma espécie, as quais podem influenciar características fenotípicas, como morfologia e virulência (RODRIGUES; DE HOIG; CAMARGO, 2016). Ainda, análises de diversidade genética identificaram diferenças entre isolados de populações geograficamente próximas, destacando a influência da variabilidade intraespecífica em características adaptativas (ZHANG *et al.*, 2015).

O genoma de *Sporothrix* sp., de acordo com Cuomo *et al.* (2014), apresenta amplificação de genes relacionados à resposta ao estresse ambiental, incluindo aqueles envolvidos na biossíntese de melanina. Este pigmento desempenha um papel crucial na proteção contra fatores adversos, como radiação UV e agentes oxidativos. Além disso, a plasticidade genômica observada nesses fungos, caracterizada pela variação no número de cópias de genes, sugere que *S. brasiliensis* utiliza a amplificação gênica como um mecanismo adaptativo para explorar ambientes diversos e aumentar sua sobrevivência (RODRIGUES; DE HOIG; CAMARGO, 2016). Outro fator relevante é a presença de um número significativo de elementos genéticos móveis em seu genoma, como elementos transponíveis, que promovem reorganizações genômicas e novas combinações gênicas. Isso aumenta a variabilidade genética em populações clonais, conferindo maior capacidade adaptativa (GONZAGA, 2017).

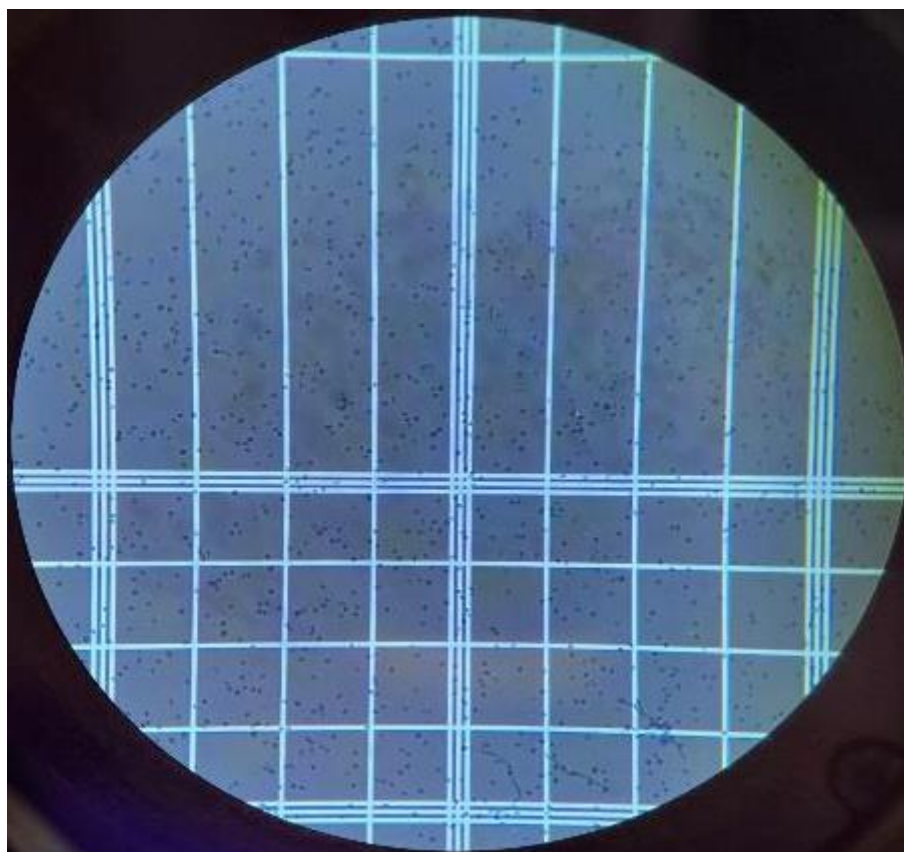
No contexto deste estudo, é importante destacar a limitação de ter sido utilizado um único cultivo para os testes experimentais, o que restringe a generalização dos resultados. Estudos futuros deverão incluir populações mais diversificadas para elucidar as respostas do fungo a diferentes condições ambientais.

## 7.4 Quantificação celular e viabilidade celular após desafios I e II

### 7.4.1 – Desafio I

Ao término do desafio experimental 1, as amostras foram submetidas à contagem celular e ao cálculo de viabilidade (APÊNDICE A). A média de células foi de  $4,29 \times 10^8$  leveduras/ml, um valor próximo ao encontrado na contagem inicial. Contudo, nenhuma célula viável foi detectada após o desafio térmico, uma vez que todas as células foram coradas com azul de tripan, indicando perda total de viabilidade (Figura 33).

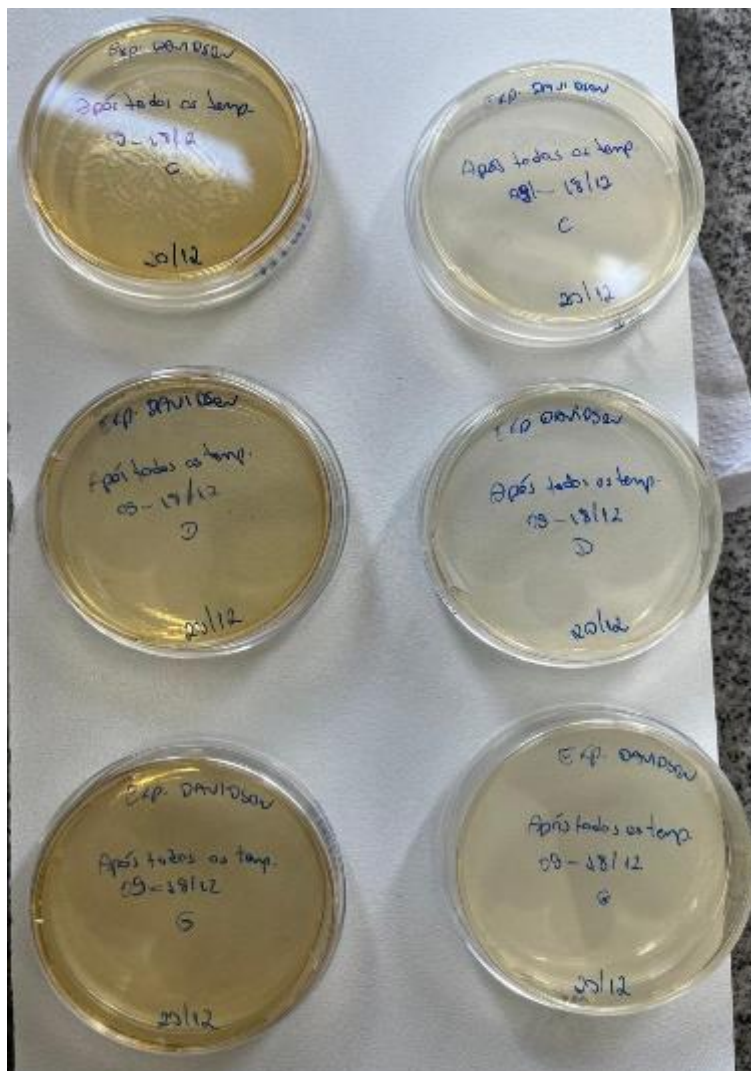
Figura 33 - Visualização microscópica das leveduras da cultura após o desafio 1 - Contagem e viabilidade



Fonte: O autor

A viabilidade de 0% foi corroborada pela ausência de crescimento das réplicas cultivadas a partir das amostras que permaneceram em caldo Saboraud pelo período de 48 horas. As réplicas foram cultivadas por 17 dias (Figura 34).

Figura 34 - 17º dia de cultivo do repique das amostras de *Sporothrix* spp. após o Desafio 1



Os meios utilizados para cultivo das réplicas foram Ágar Mycosel (à esquerda) e Ágar Sabouraud com cloranfenicol (à direita)

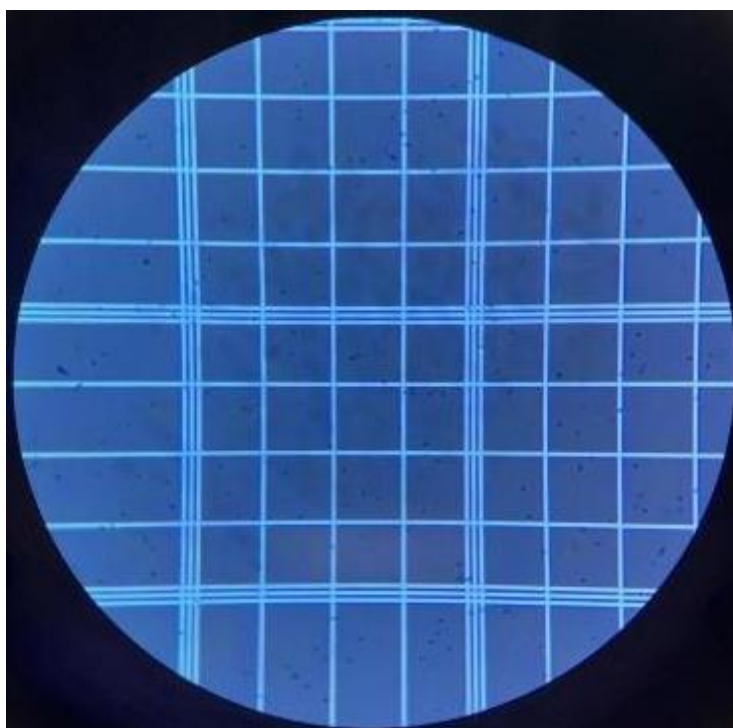
Fonte: O autor

O Desafio I foi concebido com o objetivo de explorar o conceito de *priming* fúngico. O *priming* é definido como uma pré-exposição limitada no tempo de um organismo a um fator estressante, induzindo uma resposta adaptativa aumentada a exposições subsequentes (HARISH; OSHEROV, 2022; ANDRADE-LINARES; LEHMAN; RILLIG, 2016). Contudo, diante do resultado negativo obtido nos cultivos testados, não foi possível determinar se a resposta observada foi consequência de uma superação da capacidade adaptativa do fungo ou se o período de exposição às temperaturas elevadas foi insuficiente para induzir a memória adaptativa no microrganismo.

### 7.4.2 - Desafio II

Os dados sugerem que, considerando o fungo incapaz de se adaptar a mudanças graduais de temperatura, seria improvável que ele demonstrasse adaptação à transição abrupta de temperatura de 37 °C para 67 °C, conforme proposto no Desafio II. Essa hipótese foi corroborada pelos resultados do teste de viabilidade celular (Figura 35) e pela ausência de crescimento nos cultivos realizados após o estresse térmico imposto no Desafio II (Figura 36).

Figura 35 - Visualização microscópica das leveduras da cultura após o Desafio 2 - Contagem e viabilidade



Fonte: o autor

A contagem celular média correspondente foi de  $9,9 \times 10^7$  leveduras/ml. Entretanto, a totalidade das células foi corada pelo azul de tripan, indicando uma viabilidade de 0%. Esse achado reforça a conclusão de que o estresse térmico excedeu a capacidade de sobrevivência do fungo, inviabilizando a adaptação e o crescimento subsequente.

Figura 36 - 24º dia de cultivo do repique das amostras de *Sporothrix* spp. após o Desafio II



Os meios utilizados para cultivo das réplicas foram Ágar Mycosel (à esquerda) e Ágar *Sabouraud* com cloranfenicol (à direita)

Fonte: O autor

Uma vez que não houve crescimento fúngico após os desafios, a verificação da capacidade dimórfica do fungo após o estresse térmico se fez impossível e também desnecessária.

Um aspecto distinto entre o experimento que submeteu a cultura à temperatura de 63 °C e aquele que limitou a 67 °C foi a presença de pressão parcial de CO<sub>2</sub> no segundo experimento, o que sugere a influência de variáveis adicionais além da temperatura.

## 8 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste estudo forneceram uma compreensão aprofundada sobre a capacidade de sobrevivência e adaptação do *Sporothrix brasiliensis* a condições ambientais extremas, contribuindo significativamente para a ampliação do conhecimento sobre os limites térmicos e fisiológicos desta espécie fúngica.

Os dados demonstraram que a exposição a uma pressão parcial elevada de CO<sub>2</sub> modulou o dimorfismo do fungo, evidenciado pela diferença morfológica observada entre os cultivos sob condição normóxica e aqueles submetidos às condições hipercárbicas. Tal achado sugere que a concentração de CO<sub>2</sub> no ambiente pode atuar como um fator regulador do fenótipo do fungo, alterando seu padrão de crescimento e, potencialmente, sua virulência.

A análise do dimorfismo adaptativo fúngico, antes e após desafios térmicos, revelou que *S. brasiliensis* possui uma capacidade limitada de resistência a estresses térmicos elevados. Apesar da sobrevivência residual detectada após a exposição a 63 °C por cinco horas, a completa inviabilidade celular foi observada quando a temperatura foi elevada para 67 °C também pelo período de cinco horas. Este resultado sugere que há um limiar térmico crítico acima do qual *S. brasiliensis* não consegue manter a integridade celular, corroborando a hipótese de que estresses térmicos extremos podem ser explorados como estratégias potenciais de controle ambiental para este patógeno.

A quantificação celular realizada nas diferentes condições experimentais indicou que o fungo apresentou um crescimento expressivo antes da exposição ao estresse térmico, com uma concentração inicial de  $4,81 \times 10^8$  leveduras/mL e viabilidade de 100%, confirmando sua robustez em condições ideais de cultivo. Contudo, após os desafios térmicos, as análises microscópicas e os testes de viabilidade revelaram uma redução drástica na sobrevivência celular, culminando em viabilidade nula após a exposição a 67 °C pelo período de cinco horas.

A determinação da viabilidade celular a partir da integridade da membrana plasmática confirmou que a perda da capacidade de crescimento de *S. brasiliensis* está diretamente relacionada à destruição estrutural das células fúngicas. A coloração pelo azul de tripan indicou que todas as células haviam perdido a integridade da membrana após a exposição aos desafios térmicos mais severos, reforçando a ideia de que a temperatura elevada representa um fator crítico na inativação deste fungo.

Os achados deste estudo fornecem evidências experimentais sólidas para a compreensão dos limites adaptativos de *S. brasiliensis*, demonstrando que, embora o fungo possa resistir a certos estresses térmicos moderados, ele se torna inviável quando exposto a

temperaturas em torno de 67 °C por períodos prolongados. Esses resultados possuem implicações diretas para estratégias de controle ambiental do fungo, especialmente no contexto de compostagem de carcaças e tratamento de resíduos orgânicos potencialmente contaminados.

No entanto, deve-se destacar que este estudo utilizou um único cultivo fúngico para os experimentos, o que representa uma limitação na generalização dos resultados. Estudos futuros devem considerar uma abordagem mais abrangente, incorporando diferentes isolados de *S. brasiliensis* e explorando a influência de fatores adicionais, como variação genética intraespecífica, interação com outros microrganismos do ambiente e demais fatores químicos e físicos presentes no ambiente de compostagem, como pH, aeração, umidade, granulometria do substrato e relação entre carbono e nitrogênio.

Por fim, a relevância deste estudo reside não apenas na caracterização dos limites fisiológicos de *S. brasiliensis*, mas também na aplicação de estresses térmicos como uma ferramenta potencialmente viável para mitigar sua disseminação em ambientes naturais e antropogênicos. A exploração desses achados poderá contribuir para o desenvolvimento de novas abordagens de controle biotecnológico contra este patógeno emergente.

## REFERÊNCIAS

- ANDRADE-LINARES, D. R.; VERESOGLOU, S. D.; RILLIG, M. C. Temperature *priming* and memory in soil filamentous fungi. **Fungal Ecology** 21 (2016) 10 – 15. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1754504816000192>. Acesso em: 23 out. 2024.
- BERRY, D.B.; GASCH, A.P. Stress-activated genomic expression changes serve a preparative role for impending stress in yeast. **Mol. Biol. Cell** 19, 4580e4587. 2008. Disponível em: <https://europepmc.org/backend/ptpmcrender.fcgi?accid=PMC2575158&blobtype=pdf>. Acesso em: 22 out. 2024.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. **Manual de vigilância, prevenção e controle de zoonoses: normas técnicas e operacionais** [recurso eletrônico]. Brasília: Ministério da Saúde, 2016. 121 p. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/svsa/zoonose/manual-zoonoses-normas-2v-7julho16-site.pdf/view>. Acesso em: 27 jan. 2025.
- BROWN, A. J. P. *et al.* Stress adaptation in a pathogenic fungus. **The Journal of Experimental Biology** (2014) doi:10.1242/jeb.088930. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3867497/>. Acesso em: 23 out. 2024.
- COGNIALLI *et al.* Rising incidence of *Sporothrix brasiliensis* infections, Curitiba, Brazil, 2011–2022. **Emerging Infectious Diseases**, v. 29, n. 7, p. 1330-1339, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3201/eid2907.230155>. Acesso em: 13 jan. 2025.
- CUOMO *et al.* Genome sequence of the pathogenic fungus *Sporothrix schenckii*. **mBio**, v. 5, n. 3, p. e02011-14, 2014.
- DO PRADO, C. M. *et al.* First cases of feline sporotrichosis caused by *Sporothrix brasiliensis* in Paraguay. **Journal of Fungi**, v. 9, n. 10, p. 972, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/jof9100972>. Acesso em: 11 nov. 2024.
- EMBRAPA (Meio Ambiente). **Curso de Avaliação da qualidade de produtos à base de Trichoderma**. 18 a 20 de setembro de 2012 – Jaguariúna, SP. Disponível em: [https://www.cnpma.embrapa.br/download\\_site/forum/2012/trichoderma/Apostila\\_Trichoderma\\_2012.pdf](https://www.cnpma.embrapa.br/download_site/forum/2012/trichoderma/Apostila_Trichoderma_2012.pdf). Acesso em: 20 out. 2024.
- ETCHECOPAZ, A. *et al.* *Sporothrix brasiliensis*: A review of an emerging South American fungal pathogen, its related disease, presentation and spread in Argentina. **J. of Fungi**, v. 7, p. 170, 2021. DOI: 10.3390/jof7030170. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/jof7030170>. Acesso em: 10 jan. 2024.

FERREIRA, J. da S. **Caracterização fenotípica de cepas dentro do complexo *sporothrix schenckii* e correlação com as formas clínicas da esporotricose**. 2018.

Trabalho de Conclusão de Curso (Curso de Graduação em Farmácia) - Centro de Ciências da Saúde – Universidade Federal da Paraíba, 2018. Disponível em:

<https://repositorio.ufpb.br/jspui/bitstream/123456789/17651/1/JSF11092018.pdf>. Acesso em: 20 out. 2024.

FERREIRA, M. S.; RUIZ, R. DE C.; MATTARAIA, V. G. DE M. **Fundamentos para gestão de resíduos de serviços de saúde**. São Paulo: MKX Editorial, 2022. Disponível em:

<https://repositorio.butantan.gov.br/handle/butantan/4336>. Acesso em: 27 jan. 2025

FIGUEIREDO FILHO, Y. A.; PACHECO, A.; MANFREDINI, S. Contaminação do solo e das águas subterrâneas por sepultamentos de cadáveres e partes de animais no solo. **Águas subterrâneas** : (São Paulo). [São Paulo: ABAS]. Disponível em:

<https://aguassubterraneas.abas.org/asubterraneas/article/view/22942>. Acesso em: 27 jan. 2025. , 2010

FILHO, J. E. *et al.* A novel *Sporothrix brasiliensis* genomic variant in Midwestern Brazil: evidence for an older and wider sporotrichosis epidemic. **Emerging Microbes & Infections**, v. 9, n. 1, p. 2515-2525, 2020. Disponível em:

<https://doi.org/10.1080/22221751.2020.1847001>. Acesso em: 11 fev. 2024.

FREITAS, D. F. S. *et al.* Increase in virulence of *Sporothrix brasiliensis* over five years in a patient with chronic disseminated sporotrichosis. **Virulence**, v. 6, n. 2, p. 112-120, 2015.

Disponível em:

[https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4601271/?utm\\_source=chatgpt.com](https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4601271/?utm_source=chatgpt.com). Acesso em: 20 dez. 2024.

GAUTHIER, G. M. Fungal dimorphism and virulence: molecular mechanisms for temperature adaptation, immune evasion, and in vivo survival. **Mediators of Inflammation**, v. 2017, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2017/8491383>. Acesso em: 13 jul. 2024

GÓMEZ-GAVIRIA, M.; MARTÍNEZ-ÁLVAREZ, J. A.; MORA-MONTES, H. M. Current progress in *Sporothrix brasiliensis* basic aspects. **Journal of Fungi**, Basel, v. 9, n. 5, p. 533, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/jof9050533>. Acesso em: 11 dez. 2023.

GONZAGA, F. L. A. **Identificação e caracterização de elementos transponíveis em *Sporothrix schenckii* e *S. brasiliensis***. 2017. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2022. Disponível em:

[https://repositorio.ufmg.br/bitstream/1843/41818/1/Tese\\_FernandaLourenco.pdf](https://repositorio.ufmg.br/bitstream/1843/41818/1/Tese_FernandaLourenco.pdf). Acesso em: 5 jan. 2025.

GUAN, Q.; HAROON, S.; BRAVO, D.G.; WILL, J.L.; GASCH, A.P.; 20. Cellular memory of acquired stress resistance in *Saccharomyces cerevisiae*. 2012 **Genetics** 192, 495e505.

<http://dx.doi.org/10.1534/genetics.112.143016>.

HARISH, E.; OSHEROV, N. Fungal *Priming*: Prepare or Perish. **J. Fungi** 2022, 8, 448.

<https://doi.org/10.3390/jof8050448>.

HILKER, M. *et al.* Priming and memory of stress responses in organisms lacking a nervous system. **Biol. Rev.** (2015). doi: 10.1111/brv.12215. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/brv.12215>. Acesso em: 23 out. 2024.

LEAL, R. C.; MONTEIRO, E. A. de S.; NASCIMENTO, T. L. de A. B.; MOITA NETO, J. M. Explorando a cinética química através da queima de uma vela. **Educación Química**, v. 25, n. 2, p. 93-96, 2014. Disponível em: [https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0187-893X2014000200002&script=sci\\_arttext](https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0187-893X2014000200002&script=sci_arttext). Acesso em: 3 jan. 2025.

LEE, S. M.; LEE, D. Effective medical waste management for sustainable green healthcare. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 19, n. 22, p. 14820, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijerph192214820>. Acesso em: 13 dez. 2024.

LOSADA, L. C. de M. L. **Análise da diversidade genética em agentes da esporotricose utilizando marcadores microssatélites**. 2023. Tese (Doutorado em Ciências) – Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, 2023. Disponível em: <https://repositorio.unifesp.br/handle/11600/68580>. Acesso em: 05 mar. 2024.

MARIMOM *et al.* *Sporothrix brasiliensis*, *S. globosa*, and *S. mexicana*, Three New *Sporothrix* Species of Clinical Interest. **Journal Of Clinical Microbiology**, Oct. 2007, v 45, n° 10, p. 3198–3206. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/jcm.00808-07>. Acesso em: 14 out. 2024

MARIO, D. N., *et al.* "*Sporothrix brasiliensis* produces the highest levels of oxidative stress in a murine model among the species of the *Sporothrix schenckii* complex." **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, vol. 50, no. 4, 2017, pp. 554-557. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28954081/>. Acesso em: 23 dez. 2024.

NETO, S. *et al.* Dog-transmitted ocular sporotrichosis. **Journal de Mycologie Médicale**, v. 33, n. 1, p. 101335, mar. 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.mycmed.2022.101335>. Acesso em: 27 nov. 2024.

NICOLOSO, R. da S.; LOURENZI, C. R.; BRUNETTO, G. (editores técnicos). **Gestão dos resíduos da produção animal: reciclagem como fertilizante e qualidade do solo**. Brasília, DF: Embrapa; Concórdia: Sbera, 2024. 283 p. ISBN 978-65-88155-08-0. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1167457/gestao-dos-residuos-da-producao-animal-reciclagem-como-fertilizante-e-qualidade-do-solo>. Acesso em: 02 jan. 2025.

RAMOS, A. C. M. O. *et al.* Zoonotic transmission of canine sporotrichosis in northeastern Brazil. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 11, n. 1, p. 79-84, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.21708/avb.2017.11.1.6574>. Acesso em: 13 nov. 2024.

RILLIG, M. C. *et al.* Community priming—effects of sequential stressors on microbial assemblages. **FEMS Microbiology Ecology**, 91, 2015, fiv040. Doi:10.1093/femsec/fiv040. Disponível em: <https://academic.oup.com/femsec/article/91/5/fiv040/549076>. Acesso em: 23 out. 2024.

RODRIGUES, A. M.; DE HOOG, G. S.; CAMARGO, Z. P. *Sporothrix* species causing outbreaks in animals and humans driven by animal-animal transmission. **PLoS Pathogens**, v. 12, n. 1, p. e1005638, 2016. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4945023/pdf/ppat.1005638.pdf>. Acesso em: 07 jan. 2025.

RODRIGUES, A. M. **Patógenos emergentes no gênero *Sporothrix* e a evolução global da patogenicidade**. 2015. Tese (Doutorado em Microbiologia e Imunologia) – Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, 2015. Disponível em: <https://repositorio.unifesp.br/handle/11600/47738>. Acesso em: 2 jan. 2025.

RODRIGUEZ-CABAN, J. Calcium/calmodulin kinase I and its relation to thermotolerance and HSP90 in *Sporothrix schenckii*: an RNAi and yeast two-hybrid study. **BMC Microbiology**, v. 11, n. 162, p. 1-11, 2011. Disponível em: <https://bmcmicrobiol.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2180-11-162>. Acesso em: 12 dez. 2023.

Rodrigues, A. M., de Hoog, G. S., & de Camargo, Z. P. (2013). Emergence of pathogenicity in the *Sporothrix schenckii* complex. *Medical Mycology*, 51(4), 405-418.

RODRIGUEZ-DEL VALLE, N.; ROSARIO, M.; TORRES-BLASINI, G. Effects of pH, temperature, aeration and carbon source on the development of the mycelial or yeast forms of *Sporothrix schenckii* from conidia. **Journal of General Microbiology**, v. 129, n. 10, p. 3195-3199, 1983. Disponível em <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6888501/>. Acesso em: 06 jan. 2025

ROSSATO, L. ***Sporothrix brasiliensis*: aspectos imunológicos e virulência**. 2017. 123 f. Tese (Doutorado em Fisiopatologia) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2017. Disponível em: [https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/9/9142/tde-22012018-111625/publico/Luana\\_Rossato\\_DO\\_Corrigida.pdf?utm\\_source=chatgpt.com](https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/9/9142/tde-22012018-111625/publico/Luana_Rossato_DO_Corrigida.pdf?utm_source=chatgpt.com). Acesso em: 04 jul. 2024.

ROSSOW, J. A. *et al.* A One Health Approach to Combatting *Sporothrix brasiliensis*: Narrative Review of an Emerging Zoonotic Fungal Pathogen in South America. **Journal of Fungi**, v. 6, n. 4, p. 247, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/jof6040247>. Acesso em: 10 jan. 2024.

SALDANHA *et al.* Caracterização morfofisiológica de fungos entomopatogênicos para o controle biológico de *Oncideres impluviata*. **Ciência florestal – UFSM - Ci. Fl.**, Santa Maria, v. 32, n. 2, p. 776-792, abr./jun. 2022. <https://doi.org/10.5902/1980509849227>. Disponível em: <https://periodicos.ufsm.br/cienciaflorestal/article/view/49227/48359>. Acesso em: 20 out. 2024.

SALOMÃO, B. de C. M.; MASSAGUER, P. R.; ARAGÃO, G. M. F. Isolamento e seleção de fungos filamentosos termorresistentes em etapas do processo produtivo de néctar de maçã. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 1, p. 231-240, 2008. DOI: 10.1590/S0101-20612008000100033. Disponível em:

<https://www.scielo.br/j/cta/a/xc5NMhwsMp47VLVH6P7VyJQ/>. Acesso em: 7 jan. 2025.

SBD (SOCIEDADE BRASILEIRA DE DERMATOLOGIA). **Esporotricose**. Disponível em: [https://www.sbd.org.br/doencas/esporotricose/?utm\\_source=chatgpt.com](https://www.sbd.org.br/doencas/esporotricose/?utm_source=chatgpt.com). Acesso em: 27 out. 2023.

SOLA, M. C. *et al.* Manutenção de microrganismos: conservação e viabilidade. **Enciclopédia Biosfera**, v. 8, n. 14, 2012. Disponível em:

<https://www.conhecer.org.br/enciclop/2012a/biologicas/manutencao.pdf>. Acesso em: 14 mar. 2023

STROBER, W. Trypan blue exclusion test of cell viability. **Curr. Protoc. Immunol.**

111:A3.B.1-A3.B.3. 2015. doi: 10.1002/0471142735.ima03bs111. Disponível em: <https://sci-hub.se/10.1002/0471142735.ima03bs111>. Acesso em: 23 out. 2024.

ZHANG *et al.* Phylogeography and evolutionary patterns in *Sporothrix* spanning more than 14,000 human and animal cases worldwide. **Emerging Microbes & Infections**, v. 4, n. 9, p. e68, 2015. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4713101/pdf/per-35-1.pdf>. Acesso em: 07 jan. 2025.

## **IV CAPÍTULO 3 - PTT (PPRODUTO TÉCNICO-TECNOLÓGICO): PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO (POP) PARA MANUSEIO DE CADÁVER FELINO CONTAMINADO COM ESPOROTRICOSE DURANTE PROCESSO DE COMPOSTAGEM**

### **1 INTRODUÇÃO**

O presente documento constitui uma Produção Técnica e Tecnológica derivada da dissertação de Mestrado em Sustentabilidade e Tecnologia Ambiental, defendida no Instituto Federal de Minas Gerais – *Campus* Bambuí, intitulada “COMPOSTAGEM COMO ALTERNATIVA SUSTENTÁVEL PARA O DESCARTE DE CADÁVERES DE FELINOS COM ESPOROTRICOSE: Avaliação da Inativação de *Sporothrix brasiliensis* e Condições Térmicas do Processo”. Este trabalho foi desenvolvido pelo mestrando Davidson Sandes Christão, sob a orientação da Dra. Simone Magela Moreira. A concepção do projeto emergiu das atividades experimentais que fundamentaram a dissertação.

## 1.1 Apresentação

O desenvolvimento deste produto técnico foi impulsionado pela necessidade de trabalhar de maneira segura e eficaz com cadáveres de animais contaminados por um fungo zoonótico. A manipulação dos cadáveres contaminados mostrou-se inevitável durante o experimento. Ademais, essa situação é frequentemente enfrentada por tutores de animais de estimação, médicos veterinários e demais profissionais de zoonoses.

Nos casos de acometimento animal, a infecção, geralmente, ocorre por meio de mordidas, arranhões ou lesões pré-existentes. Gatos infectados com esporotricose apresentam uma alta carga parasitária em suas lesões. Após a inoculação do fungo, ele penetra nas camadas mais profundas do tecido e assume a fase parasitária. Os seres humanos podem ser contaminados diretamente por leveduras, com o fungo permanecendo no tecido subcutâneo ou se disseminando através da corrente sanguínea e/ou sistema linfático (CANDEIA, 2021).

Embora exista tratamento para a doença causada por fungos do gênero *Sporothrix*, os prejuízos financeiros, bem como os impactos na saúde física e psicológica, tornam a prevenção a medida mais eficaz.

O protocolo, assim como o POP (Procedimento Operacional Padrão), podem ser considerados um guia de instruções destinado ao uso de um dispositivo, à correção de problemas ou ao estabelecimento de procedimentos de trabalho. Deve funcionar como uma diretriz que define como se deve proceder em determinadas situações ou operações (CAPES, 2019, p. 54).

O POP apresenta medidas preventivas para que o processo de compostagem de cadáveres de gato contaminados com *Sporothrix* spp. possa ser realizado de maneira segura pelos operadores, desde a deposição do cadáver até sua retirada, levando em consideração as necessidades de monitoramento do processo.

Desta maneira, evidencia o público-alvo desta produção técnica, que são: médicos veterinários de modo geral, acadêmicos, funcionários de zoonose, empresas que lidam com resíduos sólidos urbanos e quem mais tenha interesse e condições de realizar o processo de compostagem de cadáveres de gatos contaminados com o fungo do gênero *Sporothrix*.

## 1.2 Critérios de qualificação do Produto Técnico-Tecnológico (PTT)

A Capes (2019) conta com cinco critérios de validação de um PTT. A aderência, que é um critério obrigatório, torna-se indispensável para a aceitação de uma produção no programa de pós-graduação em análise, considerando que os trabalhos precisam derivar das atividades resultantes das linhas de pesquisa/atuação e dos projetos associados a essas linhas. O POP possui tal aderência com a linha de pesquisa de Tecnologias Ambientais, uma vez que se atrela à pesquisa desenvolvida, que buscou validar o descarte de cadáveres contaminados com esporotricose por meio da compostagem, e tal procedimento carece de medidas de segurança que preservem a saúde do operador.

Quanto ao impacto, a análise deste critério está vinculada às alterações provocadas pelo produto técnico e tecnológico no contexto em que ele se encontra. Para avaliar este critério, é fundamental compreender a razão de sua criação. Além disso, deve-se esclarecer o objetivo de aplicação do produto, permitindo, assim, a identificação das áreas em que as mudanças serão notadas (CAPES, 2019). A demanda do POP surgiu pela necessidade de se realizar um experimento com cadáveres felinos contaminados com fungo zoonótico. A iniciativa para desenvolvimento do POP se deu pelo conhecimento prévio da doença, pela facilidade de contágio, gravidade e impacto desta e tratamento caro e moroso. O POP criado surgiu como uma medida preventiva que permitiu ao aluno executor do experimento realizar as atividades de forma segura.

Outro critério avaliado pela Capes (2019) é a aplicabilidade do PTT. Refere-se à facilidade de uso do produto para alcançar os objetivos específicos para os quais foi criado. Uma produção com alta aplicabilidade deve demonstrar uma grande abrangência ou a possibilidade de uma ampla aplicação, incluindo a capacidade de ser replicada como uma produção técnica. No caso do experimento, o POP foi utilizado para manter a segurança do responsável pelas composteiras no interior do Galpão nas dependências do IFMG - Bambuí. Sua eficiência foi comprovada, uma vez que houve o acompanhamento, por vários meses, na realização de compostagem, e não houve contágio por parte do aluno que efetuou o experimento. Esse POP possui abrangência potencial para realização dessas atividades em outros locais, como Centros de Controle de Zoonoses, Institutos de Pesquisa e empresas que deem destinação final a resíduos sólidos com características similares. Sua replicabilidade consistiria apenas em entender a realidade dos ambientes de aplicação e sofrer as adequações necessárias, especialmente quanto ao uso de equipamentos de proteção e, se necessário, coletivos.

A inovação é mais um dos critérios avaliados. O conceito de inovação, conforme a Capes (2019), é bastante abrangente e, em termos gerais, pode ser definido como a ação de inovar, seja por meio da modificação de algo já existente ou pela criação de algo completamente novo. O presente PTT, por se tratar de uma adaptação de conhecimentos já consolidados, é considerado uma produção de baixo teor inovativo. A noção de que Equipamentos de Proteção Individual (EPIs) são essenciais diante do risco de transmissão de zoonoses, bem como os tipos adequados de EPIs para cada situação, já é amplamente estabelecida. O compilado dessas informações permitiu o desenvolvimento de uma nova aplicabilidade que, embora funcional e relevante, não se enquadra nos critérios de inovação estabelecidos pela avaliação.

Por fim, o quinto critério apreciado é a Complexidade. Ela pode ser entendida como uma característica ligada à variedade de participantes, interações e conhecimentos exigidos para a criação e o desenvolvimento de produtos técnico-tecnológicos. Nesse caso, o POP apresentado pode ser considerado de média complexidade. Embora não seja complicado replicar esse material para outras demandas, as informações sobre a doença e sobre o processo de compostagem dão ao PTT um caráter multidisciplinar.

## **2 PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO**

### **2.1 Objetivo**

Permitir a utilização do galpão para experimento de compostagem de cadáveres de gatos contaminados com esporotricose, de forma segura.

### **2.2 Material**

- Luva de procedimento;
- Máscara N95;
- Óculos de proteção;
- Avental;
- Hipoclorito 4%;
- Saco plástico branco leitoso com símbolo de risco biológico;
- Detergente neutro;
- Álcool 70%.

### **2.3 Descrição dos procedimentos**

- Ao adentrar o galpão, paramentar-se com os EPIs na seguinte ordem: luva de procedimento, óculos, máscara e, por fim, o avental; Somente entrar no galpão de sapato fechado;
- No término das atividades, a sequência de retirada dos EPIs deve seguir a ordem: avental, luva, máscara e óculos;
- O avental deve ser dependurado em local específico predeterminado;
- As luvas e máscara devem ser descartadas imediatamente após a retirada, em sacos de lixo na cor branca leitosa, identificados como material infectante;

- Os óculos devem ser submersos em um recipiente contendo hipoclorito de sódio a 4% e permanecer assim pelo período mínimo de 20 minutos;
- Após tempo mínimo, eles devem ser enxaguados e lavados com água e detergente neutro;
- Lavar as mãos com detergente neutro e, em seguida, aspergir sobre elas álcool 70%;
- Antes de sair do galpão, é imprescindível que se utilize o pedilúvio, composto também por hipoclorito de sódio a 4%. Imergir toda a sola do calçado no pedilúvio.

## **2.4 Siglas**

- N/A: Não Aplicável;
- EPI: Equipamento de proteção individual.

## **2.5 Possibilidades de erro**

- Alterar a ordem de retirada dos EPIs;
- Levar a mão à região do rosto mesmo que paramentado;
- Não preparar e/ou não utilizar o pedilúvio.

## **2.6 Fatores complicadores**

- Acesso por pessoa não autorizada.

## 2.7 Histórico de revisões

VERSÃO	DATA	DESCRIÇÃO DA ALTERAÇÃO
01	17/07/2024	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Acréscimo de materiais;</li> <li>• Acréscimo do item “possibilidades de erro”;</li> <li>• Acréscimo de “fatores complicadores”.</li> </ul>

<b>Elaboração:</b> Davidson Sandes Christão	Data: <u>01/10/2023</u>
<b>Revisão:</b> Davidson Sandes Christão	Data: <u>17/07/2024</u>
<b>Validação:</b> Professora Dra. Simone Magela Moreira	Data: ____/____/____
<b>Aprovação</b> (Nome, Função, Assinatura)	Data: ____/____/____

## REFERÊNCIAS

- CANDEIA, T. M.; DE SOUSA, A. P. Esportricose e saúde pública: revisão de literatura. **COOPEX/FIP** (ISSN:2177-5052). 12<sup>a</sup> ed. -vol. 12, 2021. Disponível em <https://editora.unifip.edu.br/index.php/coopex/article/view/15>. Acesso em: 15 jul. 2024.
- COORDENAÇÃO DE APERFEIÇOAMENTO DE PESSOAL DE NÍVEL SUPERIOR. Produção Técnica - Relatório de Grupo de Trabalho. CAPES, 2019. Disponível em: <https://www.gov.br/capes/pt-br/centrais-de-conteudo/10062019-producao-tecnica-pdf>. Acesso em: 05 jun. 2023

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este estudo apresenta contribuições significativas para o entendimento da viabilidade de *S. brasiliensis* em condições térmicas representativas da compostagem, fornecendo informações fundamentais sobre a eficácia deste método na inativação do fungo presente em cadáveres felinos infectados. Os resultados evidenciaram que a resposta do fungo ao estresse térmico varia conforme a intensidade e duração da exposição, destacando a necessidade de protocolos bem definidos para garantir a inativação completa do patógeno.

A avaliação da integridade celular do fungo evidenciou alterações estruturais expressivas, conforme demonstrado pela coloração intracelular pelo azul de tripan após a exposição das leveduras à temperatura de 67 °C por um período de cinco horas. Esses resultados ressaltam a relevância de parâmetros críticos, como temperatura e tempo de exposição, na eficiência do processo de compostagem. Os achados desta pesquisa fornecem embasamento para o desenvolvimento de diretrizes técnicas que visem aprimorar a compostagem como uma estratégia sustentável e eficaz para a inativação segura de cadáveres de animais infectados.

Dada a preocupação crescente com o descarte adequado de resíduos biológicos e sua relação com a saúde pública, este trabalho reforça a importância de alternativas sustentáveis e eficientes. A compostagem, quando incluída sob parâmetros rigorosos de controle, surge como uma solução ambientalmente viável para a inativação de patógenos zoonóticos, minimizando os impactos negativos tanto para os profissionais envolvidos no manejo desses resíduos quanto para o meio ambiente. A integração entre microbiologia, saneamento e gestão de resíduos sólidos evidencia a necessidade de abordagens interdisciplinares para o enfrentamento de desafios sanitários emergentes.

Apesar das contribuições científicas e práticas, algumas limitações devem ser consideradas. A utilização de um único cultivo para os experimentos, no Capítulo 2, restringe a possibilidade de generalização dos resultados, tornando imprescindível que futuros estudos considerem populações fúngicas geneticamente diversas para ampliar o entendimento sobre a resistência do patógeno e sua resposta ao ambiente de compostagem. Ademais, fatores adicionais, como pH, umidade e aeração, devem ser explorados para se compreender melhor os mecanismos envolvidos na inativação do fungo.

O desenvolvimento do Procedimento Operacional Padrão (POP) como produto técnico-tecnológico derivado desta pesquisa representa um avanço na segurança do manejo de cadáveres contaminados, garantindo condições adequadas para a execução do processo de compostagem. Sua aplicação é de grande relevância para profissionais de saúde animal,

gestores públicos e instituições de pesquisa, proporcionando uma abordagem segura e eficiente para a disposição de resíduos biológicos contaminados.

Dessa forma, este estudo contribui tanto para o avanço científico na área de biodegradação de agentes patogênicos quanto para a formulação de diretrizes práticas para o manejo de resíduos contaminados. As descobertas reforçam a necessidade de estudos interdisciplinares e políticas públicas baseadas em evidências científicas, garantindo a segurança sanitária e ambiental no controle da esporotricose zoonótica. O fortalecimento de iniciativas de pesquisa e desenvolvimento nesta área é essencial para mitigar o impacto da doença e promover soluções sustentáveis para o descarte de cadáveres animais contaminados.

**APÊNDICE A: REGISTRO DAS TEMPERATURAS AFERIDAS NAS COMPOSTEIRAS DURANTE O PERÍODO DE MONITORAMENTO DA COMPOSTAGEM**

**1 COMPOSTEIRA-PILOTO**

Dias de compost.	n° medição	Data (2023)	Hora	Temperatura (°C)					Temp. média (°C)	Temp. ambiente (°C)
				Ponto 1	Ponto 2	Ponto 3	Ponto 4	Ponto 5		
01	01	23/8	16:00	28	27	26	26	0	21,40	33
02	02	24/8	9:00	18	18	18	18	08	16,00	23
02	03	24/8	16:00	25	23	21	23	10	20,40	35
03	04	25/8	9:45	21	20	19	20	15	19,00	25
03	05	25/8	16:15	26	25	24	25	19	23,80	33
04	06	26/8	10:00	24	24	24	24	25	24,20	28
04	07	26/8	16:00	33	32	33	31	30	31,80	33
05	08	27/8	9:40	29	37	34	33	49	36,40	18
05	09	27/8	15:40	31	39	39	41	52	40,40	22
06	10	28/8	9:40	35	41	36	39	60	42,20	17
06	11	28/8	15:00	36	40	40	41	58	43,00	26
07	12	29/8	9:50	43	43	41	50	63	48,00	24
07	13	29/8	16:20	42	43	44	48	61	47,60	21
08	14	30/8	10:10	35	37	39	39	58	41,60	22
08	15	30/8	16:00	36	40	40	40	56	42,40	28
09	16	31/8	9:15	33	36	36	36	51	38,40	25
09	17	31/8	15:00	35	37	39	38	50	39,80	30
10	18	1/9	10:10	43	43	48	51	63	49,60	26
10	19	1/9	15:00	45	45	49	52	63	50,80	31
11	20	2/9	9:00	42	43	44	44	55	45,60	26
11	21	2/9	16:00	41	42	45	44	52	44,80	32
12	22	3/9	10:00	44	42	47	51	57	48,20	29
12	23	3/9	16:00	46	44	51	51	59	50,20	34
13	24	4/9	9:40	42	41	45	45	52	45	30
13	25	4/9	16:00	41	41	45	45	51	45	28
14	26	5/9	9:50	39	37	38	38	46	40	28
14	27	5/9	15:50	40	37	38	43	46	41	33
15	28	6/9	9:00	47	43	45	50	54	48	26
15	29	6/9	15:00	44	42	42	43	53	45	32
16	30	7/9	10:00	41	39	39	37	49	41	26
16	31	7/9	15:00	40	37	37	36	48	40	30
17	32	8/9	9:10	37	34	32	30	41	35	25

17	33	8/9	15:10	37	34	33	34	40	36	31
18	34	9/9	9:10	33	31	29	30	39	32	24
18	35	9/9	15:11	33	32	33	33	41	34	33
19	36	10/9	9:10	32	34	32	31	46	35	26
19	37	10/9	15:18	32	36	35	34	46	37	33
20	38	11/9	9:16	32	34	33	31	43	35	25
20	39	11/9	15:00	33	34	35	37	43	36	32
21	40	12/9	9:00	30	31	31	31	40	33	27
21	41	12/9	15:00	31	32	32	32	40	33	30
22	42	13/9	9:00	39	32	35	39	46	38	25
22	43	13/9	15:00	39	34	36	41	48	40	34
23	44	14/9	10:10	38	34	36	36	42	37	33
23	45	14/9	16:00	38	35	37	39	43	38	32
24	46	15/9	10:00	35	32	34	36	41	36	28
24	47	15/9	16:00	35	33	35	37	43	37	33
25	48	16/9	9:30	35	36	37	34	41	37	28
25	49	16/9	14:50	34	35	34	33	42	36	34
26	50	17/9	10:30	33	35	37	38	41	37	31
26	51	17/9	15:00	35	34	36	35	41	36	35
27	52	18/9	9:00	31	31	33	31	40	33	27
27	53	18/9	15:00	32	32	33	33	40	34	35
28	54	19/9	9:50	29	30	30	30	36	31	30
28	55	19/9	16:15	31	31	31	31	37	32	35
29	56	20/9	9:32	31	31	31	30	36	32	29
29	57	20/9	15:00	31	32	31	31	37	32	33
30	58	21/9	9:00	31	31	31	31	36	32	30
30	59	21/9	15:30	34	32	33	35	37	34	34
31	60	22/9	10:00	31	30	31	31	35	32	33
31	61	22/9	16:00	34	33	33	35	37	34	35
32	62	23/9	10:30	31	30	31	32	35	32	35
32	63	23/9	15:00	35	33	34	34	36	34	37
33	64	24/9	9:00	33	31	32	32	35	33	34
33	65	24/9	15:00	35	33	34	34	36	34	39
34	66	25/9	9:30	35	33	34	34	36	34	31
34	67	25/9	15:00	35	34	35	35	37	35	39
35	68	26/9	10:00	34	34	35	35	37	35	34
35	69	26/9	15:00	35	34	35	35	38	35	38
36	70	27/9	9:00	33	33	33	34	36	34	26
36	71	27/9	15:00	34	34	34	34	36	34	28
37	72	28/9	9:30	30	30	30	30	32	30	27
37	73	28/9	15:10	33	32	32	32	34	33	35
38	74	29/9	9:40	30	30	30	30	32	30	27
38	75	29/9	14:55	33	30	30	30	32	31	32

39	76	30/9	10:55	30	28	28	28	31	29	29
39	77	30/9	17:00	32	30	30	30	32	31	33
40	78	1/10	11:38	29	27	27	28	30	28	27
40	79	1/10	15:40	30	29	29	30	30	30	25
41	80	2/10	11:30	29	28	28	28	29	28	28
41	81	2/10	15:00	31	29	29	28	29	29	28
42	82	3/10	10:20	29	28	28	28	29	28	29
42	83	3/10	16:25	29	29	28	29	29	29	26
43	84	4/10	10:30	30	28	27	27	28	28	31
43	85	4/10	14:30	31	30	29	29	29	30	35
44	86	5/10								
44	87	5/10	16:20	30	30	29	30	30	30	26
45	88	6/10	10:00	31	29	29	30	30	30	31
45	89	6/10	15:00	32	30	29	30	31	30	33
46	90	7/10	10:00	30	31	30	29	31	30	31
46	91	7/10	17:50	32	31	30	32	31	31	30
47	92	8/10	11:20	31	30	29	30	31	30	32
47	93	8/10	16:15	33	31	30	31	31	31	36
48	94	9/10	11:10	32	35	30	36	33	33	31
48	95	9/10	16:15	34	36	31	37	34	34	30
49	96	10/10	11:40	34	34	31	35	34	34	33
49	97	10/10	16:50	35	36	31	35	34	34	35
50	98	11/10	11:00	34	34	31	34	34	33	33
50	99	11/10	16:20	34	35	32	34	34	34	35
51	100	12/10	10:30	34	34	32	34	34	34	33
51	101	12/10	16:00	35	35	33	34	34	34	37
52	102	13/10	11:00	31	31	30	31	32	31	27
52	103	13/10	15:25	31	32	30	32	32	31	29
53	104	14/10	10:00	31	31	30	30	31	31	29
53	105	14/10	15:00	32	32	30	30	31	31	33
54	106	15/10	9:40	30	30	29	29	30	30	28
54	107	15/10	15:20	31	31	30	30	31	31	33
55	108	16/10	10:00	31	30	29	29	30	30	32
55	109	16/10	16:00	31	30	29	29	31	30	35
56	110	17/10	11:00	32	30	28	29	30	30	33
56	111	17/10	16:20	33	31	30	31	31	31	35
57	112	18/10	11:00	33	31	30	31	31	31	35
57	113	18/10	15:00	34	32	30	32	31	32	37
58	114	19/10	11:20	31	30	29	31	30	30	31
58	115	19/10	17:00	31	30	29	32	31	31	29
59	116	20/10	9:00	31	29	28	30	29	29	26
59	117	20/10	16:45	31	29	28	31	29	30	28
60	118	21/10	9:20	31	29	28	30	29	29	30

60	119	21/10	15:10	31	30	29	31	30	30	34
61	120	22/10	8:30	30	29	28	29	29	29	27
61	121	22/10	17:50	30	29	28	29	29	29	28
62	122	23/10	9:00	29	27	27	27	27	27	26
62	123	23/10	15:00	30	27	27	27	28	28	28
63	124	24/10	11:00	30	29	28	28	29	29	35
63	125	24/10	16:30	34	31	30	34	30	32	38
64	126	25/10	11:20	31	30	30	30	30	30	34
64	127	25/10	17:00	33	31	31	31	32	32	37
65	128	26/10	11:00	33	30	29	30	30	30	34
65	129	26/10	16:00	33	30	29	30	30	30	36
66	130	27/10	11:00	30	29	28	28	28	29	28
66	131	27/10	15:00	31	29	28	28	28	29	27
67	132	28/10	10:00	29	29	28	28	28	28	26
67	133	28/10	15:00	30	29	28	28	28	29	28
68	134	29/10	9:30	28	28	27	27	27	27	26
68	135	29/10	16:30	29	29	28	27	28	28	30
69	136	30/10	9:30	28	28	27	27	27	27	26
69	137	30/10	15:20	28	28	28	28	28	28	31
70	138	31/10	12:00	30	30	29	29	30	30	34
70	139	31/10								
71	140	1/11	9:00	29	29	29	28	29	29	32
71	141	1/11	15:50	30	29	29	29	30	29	34
72	142	2/11	10:20	29	29	29	29	29	29	31
72	143	2/11	15:40	29	29	29	29	30	29	29
73	144	3/11	9:40	29	29	29	28	29	29	29
73	145	3/11	17:20	29	29	28	28	29	29	26
74	146	4/11	9:20	29	29	28	28	29	29	30
74	147	4/11	15:00	29	29	28	28	29	29	34
75	148	5/11	8:00	28	27	26	26	27	27	29
75	149	5/11	18:00	29	28	26	26	27	27	30
76	150	6/11	11:00	27	26	25	25	26	26	33
76	151	6/11	15:00	29	28	27	27	27	28	35
77	152	7/11	10:50	27	26	25	25	26	26	31
77	153	7/11	16:40	29	28	27	27	27	28	34
78	154	8/11	10:30	27	27	25	25	26	26	30
78	155	8/11	15:00	28	28	27	27	27	27	35
79	156	9/11	9:00	26	26	25	25	25	25	27
79	157	9/11	14:00	27	26	26	26	26	26	34
80	158	10/11	11:00	27	27	27	27	27	27	33
80	159	10/11	16:10	31	29	29	30	30	30	36
81	160	11/11	9:00	31	28	28	28	29	29	34
81	161	11/11	15:00	32	29	28	29	30	30	37

82	162	12/11	9:30	30	29	28	29	29	29	35
82	163	12/11	16:00	31	30	28	30	30	30	40
83	164	13/11	9:00	30	29	28	28	30	29	32
83	165	13/11	16:00	31	30	30	29	30	30	35
84	166	14/11	11:30	32	31	30	30	31	31	40
84	167	14/11	16:20	31	31	30	30	31	31	43
85	168	15/11	9:30	31	31	30	31	32	31	34
85	169	15/11	15:50	31	31	30	31	32	31	37
86	170	16/11	11:40	32	31	31	31	33	32	37
86	171	16/11	16:10	31	31	30	31	32	31	41
87	172	17/11	11:30	32	32	31	32	33	32	39
87	173	17/11	16:40	32	32	31	32	33	32	42
88	174	18/11	11:30	34	33	32	32	34	33	39
88	175	18/11	15:00	36	35	34	34	36	35	42
89	176	19/11	9:00	32	32	31	32	32	32	39
89	177	19/11	16:00	33	33	32	33	33	33	42
90	178	20/11	10:30	30	30	29	31	30	30	31
90	179	20/11	16:00	30	30	29	30	30	30	28
91	180	21/11	10:20	29	29	29	30	30	29	28
91	181	21/11	16:40	33	32	31	31	31	32	31
92	182	22/11	11:00	30	30	29	30	30	30	35
92	183	22/11	16:20	32	31	30	31	31	31	35
93	184	23/11	11:30	31	30	29	30	30	30	37
93	185	23/11	17:20	32	31	30	31	31	31	33
94	186	24/11	10:10	30	30	29	30	31	30	30
94	187	24/11	15:00	31	31	30	31	31	31	32
95	188	25/11	11:20	30	29	28	28	31	29	31
95	189	25/11								
96	190	26/11	11:14	30	30	29	30	31	30	30
96	191	26/11								
97	192	27/11	9:30	29	30	29	29	31	30	36
97	193	27/11	15:00	30	30	29	30	31	30	37
98	194	28/11	10:15	30	30	29	29	30	30	31
98	195	28/11	16:20	30	30	30	30	31	30	33
99	196	29/11	8:00	29	29	29	29	29	29	24
99	197	29/11	15:40	29	29	29	29	30	29	25
100	198	30/11	11:40	30	29	29	29	30	29	31
100	199	30/11	15:00	30	29	29	29	30	29	32
101	200	1/12								
101	201	1/12								
102	202	2/12	9:20	29	28	28	29	30	29	28
102	203	2/12	17:00	30	29	29	29	30	29	28
103	204	3/12								

103	205	3/12								
104	206	4/12	11:40	31	30	30	30	31	30	34
104	207	4/12	16:00	31	30	30	30	31	30	33
105	208	5/12	11:30	29	29	29	29	30	29	28
105	209	5/12	15:00	29	29	29	29	30	29	28
106	210	6/12	11:30	29	29	28	28	29	29	29
106	211	6/12	15:00	29	29	28	28	30	29	30
107	212	7/12	11:50	30	30	29	29	30	30	33
107	213	7/12	15:20	31	31	30	30	31	31	34
108	214	8/12	11:00	31	30	30	30	31	30	31
108	215	8/12	15:50	31	31	31	31	31	31	30
109	216	9/12	11:20	30	29	29	29	30	29	32
109	217	9/12	16:00	30	29	29	29	30	29	30
110	218	10/12								
110	219	10/12								
111	220	11/12	9:00	29	29	29	29	30	29	25
111	221	11/12	14:30	29	29	29	29	30	29	25
112	222	12/12	9:00	28	28	28	28	29	28	27
112	223	12/12	15:00	28	28	28	28	29	28	30
113	224	13/12	11:00	29	29	28	28	29	29	31
113	225	13/12	15:00	29	29	29	29	29	29	33
114	226	14/12	9:00	29	29	29	29	29	29	28
114	227	14/12	17:00	30	30	30	30	30	30	34
115	228	15/12	8:20	29	29	29	29	29	29	27

## 2 COMPOSTEIRAS EM TRIPLICATA

### 2.1 Composteira II

Dias de compost.	n° medição	Data	Hora	Temperatura (°C)					Temp. média	Temp. ambiente (°C)
				Ponto1	Ponto2	Ponto 3	Ponto 4	Ponto 5		
01	01	26/9	10:00	44	39	44	48	50	45,00	34
01	02	26/9	16:00	45	43	43	47	48	45,20	38
02	03	27/9	9:00	39	40	42	43	44	41,60	26
02	04	27/9	15:00	40	41	43	44	45	42,60	28
03	05	28/9	9:30	51	45	46	50	52	48,80	27
03	06	28/9	15:10	57	55	56	54	59	56,20	35
04	07	29/9	9:40	51	45	46	50	52	48,80	27
04	08	29/9	14:55	49	44	46	52	55	49,20	32
05	09	30/9	10:55	42	37	41	42	48	42,00	29
05	10	30/9	17:00	45	39	42	45	50	44,20	33
06	11	1/10	11:38	39	35	37	39	46	39,20	27
06	12	1/10	15:40	42	38	38	43	43	40,80	25
07	13	2/10	11:30	40	41	42	44	48	43,00	28
07	14	2/10	15:00	43	42	43	45	50	44,60	28
08	15	3/10	10:20	43	42	43	46	51	45,00	29
08	16	3/10	16:25	44	43	43	46	50	45,20	26
09	17	4/10	10:30	40	40	40	43	47	42,00	31
09	18	4/10	14:30	40	39	40	43	46	41,60	35
10	19	5/10								
10	20	5/10	16:20	41	40	40	43	45	41,80	26
11	21	6/10	10:00	39	38	38	41	44	40,00	31
11	22	6/10	15:00	39	38	38	40	44	39,80	33
12	23	7/10	10:00	63	57	58	57	63	59,60	31
12	24	7/10	17:50	53	58	55	56	61	56,60	30
13	25	8/10	11:20	44	51	45	49	53	48,40	32
13	26	8/10	16:15	46	50	45	49	51	48,20	36
14	27	9/10	11:10	42	45	41	45	46	43,80	31
14	28	9/10	16:15	42	44	41	45	45	43,40	30
15	29	10/10	11:40	38	40	38	41	42	39,80	33
15	30	10/10	16:50	43	44	43	44	45	43,80	35
16	31	11/10	11:00	52	55	60	66	63	59,20	33
16	32	11/10	16:20	54	57	61	68	66	61,20	35
17	33	12/10	10:30	47	48	51	50	58	50,80	33
17	34	12/10	16:00	47	48	52	50	58	51,00	37
18	35	13/10	11:00	42	43	45	45	52	45,40	27
18	36	13/10	15:25	41	41	39	38	48	41,40	29
19	37	14/10	10:00	36	37	36	39	42	38,00	29
19	38	14/10	15:00	37	38	37	40	43	39,00	33
20	39	15/10	9:40	35	35	35	38	41	36,80	28

20	40	15/10	15:20	36	36	36	39	42	37,80	33
21	41	16/10	10:00	34	35	35	35	40	35,80	35
21	42	16/10	16:00	34	35	35	35	41	36,00	35
22	43	17/10	11:00	33	34	34	35	40	35,20	33
22	44	17/10	16:20	34	35	35	35	40	35,80	35
23	45	18/10	11:00	34	35	35	35	40	35,80	35
23	46	18/10	15:00	34	35	36	36	41	36,40	37
24	47	19/10	11:20	33	34	34	35	41	35,40	31
24	48	19/10	17:00	34	35	35	36	41	36,20	29
25	49	20/10	9:00	34	34	34	34	40	35,20	26
25	50	20/10	16:45	34	34	34	34	40	35,20	28
26	51	21/10	9:20	34	34	34	34	40	35,20	30
26	52	21/10	15:10	34	35	34	35	41	35,80	34
27	53	22/10	8:30	34	34	34	34	40	35,20	27
27	54	22/10	17:50	34	33	33	33	39	34,40	28
28	55	23/10	9:00	29	30	31	31	35	31,20	26
28	56	23/10	15:00	29	31	31	31	36	31,60	28
29	57	24/10	11:00	31	31	31	32	36	32,20	35
29	58	24/10	16:30	34	33	35	37	42	36,20	38
30	59	25/10	11:20	64	62	67	66	70	65,80	34
30	60	25/10	17:00	65	63	68	67	71	66,80	37
31	61	26/10	11:00	58	53	54	58	63	57,20	34
31	62	26/10	16:00	58	53	54	58	63	57,20	36
32	63	27/10	11:00	51	45	46	52	56	50,00	28
32	64	27/10	15:00	51	45	46	51	55	49,60	27
33	65	28/10	10:00	46	42	42	46	50	45,20	26
33	66	28/10	15:00	47	42	42	47	52	46,00	28
34	67	29/10	9:30	42	39	39	42	45	41,40	26
34	68	29/10	16:30	43	40	39	42	47	42,20	30
35	69	30/10	9:30	40	37	37	37	41	38,40	26
35	70	30/10	15:20	41	38	37	37	42	39,00	31
36	71	31/10	12:00	40	37	37	38	42	38,80	34
36	72	31/10								
37	73	1/11	9:00	37	35	35	36	40	36,60	32
37	74	1/11	15:50	38	35	35	37	41	37,20	34
38	75	2/11	10:20	36	34	34	35	38	35,40	31
38	76	2/11	15:40	35	34	34	34	37	34,80	29
39	77	3/11	9:40	33	33	33	33	36	33,60	29
39	78	3/11	17:20	33	33	33	33	36	33,60	26
40	79	4/11	9:20	32	32	32	32	34	32,40	30
40	80	4/11	15:00	34	34	34	34	36	34,40	34
41	81	5/11	8:00	30	30	30	30	33	30,60	29
41	82	5/11	18:00	31	30	31	30	34	31,20	30
42	83	6/11	11:00	28	28	29	29	32	29,20	33
42	84	6/11	15:00	30	30	31	31	34	31,20	35
43	85	7/11	10:50	28	28	29	29	32	29,20	31
43	86	7/11	16:40	30	30	31	31	34	31,20	34
44	87	8/11	10:30	51	42	59	53	57	52,40	30

44	88	8/11	15:00	53	45	59	55	60	54,40	35
45	89	9/11	9:00	54	50	55	56	65	56,00	27
45	90	9/11	14:00	54	49	54	54	64	55,00	34
46	91	10/11	11:00	49	43	48	50	58	49,60	33
46	92	10/11	16:10	50	44	49	51	59	50,60	36
47	93	11/11	9:00	42	40	41	44	55	44,40	34
47	94	11/11	15:00	44	40	43	46	56	45,80	37
48	95	12/11	9:30	41	37	40	46	50	42,80	35
48	96	12/11	16:00	42	38	41	47	52	44,00	40
49	97	13/11	9:00	37	36	38	49	46	41,20	32
49	98	13/11	16:00	38	37	39	49	46	41,80	35
50	99	14/11	11:30	37	36	37	38	44	38,40	40
50	100	14/11	16:20	38	38	38	40	46	40,00	43
51	101	15/11	9:30	39	40	48	42	50	43,80	34
51	102	15/11	15:50	40	42	49	44	52	45,40	37
52	103	16/11	11:40	41	43	49	45	54	46,40	37
52	104	16/11	16:10	43	44	49	46	55	47,40	41
53	105	17/11	11:30	45	46	50	47	55	48,60	39
53	106	17/11	16:40	46	46	50	48	55	49,00	42
54	107	18/11	11:30	42	44	49	46	53	46,80	39
54	108	18/11	15:00	43	46	51	47	54	48,20	42
55	109	19/11	9:00	38	38	43	40	45	40,80	39
55	110	19/11	16:00	40	40	45	41	45	42,20	42
56	111	20/11	10:30	34	34	37	34	39	35,60	31
56	112	20/11	16:00	34	34	37	34	39	35,60	28
57	113	21/11	10:20	32	33	36	34	37	34,40	28
57	114	21/11	16:40	34	34	37	35	38	35,60	31
58	115	22/11	11:00	35	36	39	37	42	37,80	35
58	116	22/11	16:20	37	37	40	38	43	39,00	35
59	117	23/11	11:30	40	42	43	40	46	42,20	37
59	118	23/11	17:20	40	42	43	40	46	42,20	33
60	119	24/11	10:10	50	53	54	55	55	53,40	30
60	120	24/11	15:00	51	53	55	55	57	54,20	32
61	121	25/11	11:20	50	50	50	52	60	52,40	31
61	122	25/11								
62	123	26/11	11:14	45	47	45	47	53	47,40	30
62	124	26/11								
63	125	27/11	9:30	42	41	41	43	47	42,80	36
63	126	27/11	15:00	42	41	41	43	47	42,80	37
64	127	28/11	10:15	37	36	36	38	42	37,80	31
64	128	28/11	16:20	37	37	36	38	42	38,00	33
65	129	29/11	8:00	35	35	35	35	42	36,40	24
65	130	29/11	15:40	35	35	35	36	39	36,00	25
66	131	30/11	11:40	35	34	36	35	37	35,40	31
66	132	30/11	15:00	35	34	36	35	37	35,40	32
67	133	1/12								
67	134	1/12								
68	135	2/12	9:20	35	35	37	36	40	36,60	28

68	136	2/12	17:00	36	37	38	36	40	37,40	28
69	137	3/12								
69	138	3/12								
70	139	4/12	11:40	40	44	44	42	48	43,60	34
70	140	4/12	16:00	40	44	44	42	48	43,60	33
71	141	5/12	11:30	37	39	39	38	43	39,20	28
71	142	5/12	15:00	37	39	39	38	43	39,20	28
72	143	6/12	11:30	34	38	37	36	41	37,20	29
72	144	6/12	15:00	35	39	37	36	41	37,60	30
73	145	7/12	11:50	37	41	39	38	42	39,40	33
73	146	7/12	15:20	38	42	40	29	43	38,40	34
74	147	8/12	11:00	39	42	41	41	45	41,60	31
74	148	8/12	15:50	39	42	41	41	45	41,60	30
75	149	9/12	11:20	41	39	38	42	44	40,80	32
75	150	9/12	16:00	41	39	38	41	44	40,60	30
76	151	10/12								
76	152	10/12								
77	153	11/12	9:00	38	38	37	39	42	38,80	25
77	154	11/12	14:30	38	38	37	39	42	38,80	25
78	155	12/12	9:00	34	33	33	35	38	34,60	27
78	156	12/12	15:00	34	34	33	35	39	35,00	30
79	157	13/12	11:00	32	33	33	34	36	33,60	31
79	158	13/12	15:00	33	34	33	34	36	34,00	33
80	159	14/12	9:00	33	34	33	34	36	34,00	28
80	160	14/12	17:00	33	35	34	34	36	34,40	34
81	161	15/12	8:20	35	35	34	34	37	35,00	27

## 2.2 Composteira III

Dias de compost.	n° medição	Data	Hora	Temperatura (°C)					Temp. média	Temp. ambiente (°C)
				Ponto1	Ponto2	Ponto 3	Ponto 4	Ponto 5		
01	01	26/9	10:00	44	54	52	51	49	50,00	34
01	02	26/9	16:00	45	50	52	50	50	49,40	38
02	03	27/9	9:00	41	46	44	45	45	44,20	26
02	04	27/9	15:00	41	49	44	45	48	45,40	28
03	05	28/9	9:30	56	55	48	45	55	51,80	27
03	06	28/9	15:10	42	42	41	43	43	42,20	35
04	07	29/9	9:40	56	55	48	45	55	51,80	27
04	08	29/9	14:55	54	53	46	45	53	50,20	32
05	09	30/9	10:55	44	40	35	35	47	40,20	29
05	10	30/9	17:00	43	42	39	39	50	42,60	33
06	11	1/10	11:38	34	35	32	33	44	35,60	27
06	12	1/10	15:40	40	39	36	35	49	39,80	25
07	13	2/10	11:30	42	42	40	39	46	41,80	28
07	14	2/10	15:00	42	42	40	39	49	42,40	28
08	15	3/10	10:20	44	42	40	39	48	42,60	29

08	16	3/10	16:25	44	43	41	40	46	42,80	26
09	17	4/10	10:30	42	41	39	38	46	41,20	31
09	18	4/10	14:30	43	41	40	39	45	41,60	35
10	19	5/10								
10	20	5/10	16:20	43	42	40	40	46	42,20	26
11	21	6/10	10:00	42	41	39	39	44	41,00	31
11	22	6/10	15:00	41	41	39	39	43	40,60	33
12	23	7/10	10:00	57	51	56	51	64	55,80	31
12	24	7/10	17:50	51	51	51	55	63	54,20	30
13	25	8/10	11:20	42	45	44	46	55	46,40	32
13	26	8/10	16:15	43	45	43	45	54	46,00	36
14	27	9/10	11:10	39	40	39	40	47	41,00	31
14	28	9/10	16:15	39	41	39	40	45	40,80	30
15	29	10/10	11:40	37	37	36	36	43	37,80	33
15	30	10/10	16:50	43	42	40	38	43	41,20	35
16	31	11/10	11:00	57	57	52	50	62	55,60	33
16	32	11/10	16:20	59	58	53	51	64	57,00	35
17	33	12/10	10:30	48	49	44	43	55	47,80	33
17	34	12/10	16:00	49	50	46	45	56	49,20	37
18	35	13/10	11:00	42	43	40	39	50	42,80	27
18	36	13/10	15:25	41	41	39	38	48	41,40	29
19	37	14/10	10:00	36	36	35	33	41	36,20	29
19	38	14/10	15:00	37	37	36	34	42	37,20	33
20	39	15/10	9:40	35	35	34	34	41	35,80	28
20	40	15/10	15:20	36	36	34	34	42	36,40	33
21	41	16/10	10:00	35	35	34	33	41	35,60	35
21	42	16/10	16:00	35	35	34	33	41	35,60	35
22	43	17/10	11:00	36	35	34	33	41	35,80	33
22	44	17/10	16:20	37	35	35	35	40	36,40	35
23	45	18/10	11:00	37	35	35	35	40	36,40	35
23	46	18/10	15:00	37	36	35	35	41	36,80	37
24	47	19/10	11:20	36	35	34	34	39	35,60	31
24	48	19/10	17:00	37	36	35	35	39	36,40	29
25	49	20/10	9:00	34	32	32	32	37	33,40	26
25	50	20/10	16:45	34	33	32	32	37	33,60	28
26	51	21/10	9:20	34	32	32	32	37	33,40	30
26	52	21/10	15:10	35	33	34	33	38	34,60	34
27	53	22/10	8:30	33	32	32	32	36	33,00	27
27	54	22/10	17:50	33	32	31	31	35	32,40	28
28	55	23/10	9:00	32	31	30	30	33	31,20	26
28	56	23/10	15:00	32	31	31	30	34	31,60	28
29	57	24/10	11:00	33	31	31	31	33	31,80	35
29	58	24/10	16:30	39	39	37	34	36	37,00	38
30	59	25/10	11:20	68	66	64	66	67	66,20	34
30	60	25/10	17:00	69	67	65	66	69	67,20	37
31	61	26/10	11:00	59	56	57	57	58	57,40	34
31	62	26/10	16:00	59	56	57	57	58	57,40	36
32	63	27/10	11:00	52	49	48	50	51	50,00	28

32	64	27/10	15:00	51	48	57	50	50	51,20	27
33	65	28/10	10:00	45	43	49	45	46	45,60	26
33	66	28/10	15:00	46	44	50	45	47	46,40	28
34	67	29/10	9:30	40	39	43	39	41	40,40	26
34	68	29/10	16:30	41	40	43	40	43	41,40	30
35	69	30/10	9:30	38	37	36	36	40	37,40	26
35	70	30/10	15:20	40	38	36	37	42	38,60	31
36	71	31/10	12:00	40	38	38	38	40	38,80	34
36	72	31/10								
37	73	1/11	9:00	37	35	35	36	37	36,00	32
37	74	1/11	15:50	38	36	35	37	38	36,80	34
38	75	2/11	10:20	35	35	35	36	37	35,60	31
38	76	2/11	15:40	35	34	35	35	36	35,00	29
39	77	3/11	9:40	34	34	34	33	34	33,80	29
39	78	3/11	17:20	34	33	34	33	33	33,40	26
40	79	4/11	9:20	33	33	32	32	33	32,60	30
40	80	4/11	15:00	34	34	33	33	34	33,60	34
41	81	5/11	8:00	31	30	30	29	30	30,00	29
41	82	5/11	18:00	33	32	31	31	31	31,60	30
42	83	6/11	11:00	30	29	28	28	29	28,80	33
42	84	6/11	15:00	33	32	31	31	31	31,60	35
43	85	7/11	10:50	30	29	28	29	29	29,00	31
43	86	7/11	16:40	33	32	31	31	31	31,60	34
44	87	8/11	10:30	57	44	58	52	47	51,60	30
44	88	8/11	15:00	58	47	58	53	50	53,20	35
45	89	9/11	9:00	58	50	53	52	54	53,40	27
45	90	9/11	14:00	56	49	52	51	52	52,00	34
46	91	10/11	11:00	46	41	45	45	41	43,60	33
46	92	10/11	16:10	47	41	45	45	42	44,00	36
47	93	11/11	9:00	42	37	41	39	38	39,40	34
47	94	11/11	15:00	44	38	42	40	39	40,60	37
48	95	12/11	9:30	41	36	39	39	37	38,40	35
48	96	12/11	16:00	43	38	41	41	39	40,40	40
49	97	13/11	9:00	40	38	38	38	37	38,20	32
49	98	13/11	16:00	41	39	38	38	38	38,80	35
50	99	14/11	11:30	41	39	38	37	38	38,60	40
50	100	14/11	16:20	42	42	42	41	41	41,60	43
51	101	15/11	9:30	43	44	47	45	46	45,00	34
51	102	15/11	15:50	45	45	49	46	48	46,60	37
52	103	16/11	11:40	45	43	49	45	54	47,20	37
52	104	16/11	16:10	48	46	51	49	56	50,00	41
53	105	17/11	11:30	50	48	53	55	57	52,60	39
53	106	17/11	16:40	51	49	54	56	58	53,60	42
54	107	18/11	11:30	46	44	47	47	50	46,80	39
54	108	18/11	15:00	47	45	48	48	51	47,80	42
55	109	19/11	9:00	38	39	40	40	41	39,60	39
55	110	19/11	16:00	40	40	41	41	42	40,80	42
56	111	20/11	10:30	32	31	33	32	34	32,40	31

56	112	20/11	16:00	33	32	34	33	35	33,40	28
57	113	21/11	10:20	33	32	33	32	33	32,60	28
57	114	21/11	16:40	34	33	34	33	35	33,80	31
58	115	22/11	11:00	39	38	40	41	43	40,20	35
58	116	22/11	16:20	40	38	41	42	43	40,80	35
59	117	23/11	11:30	47	44	48	51	51	48,20	37
59	118	23/11	17:20	47	44	48	51	51	48,20	33
60	119	24/11	10:10	56	50	54	59	62	56,20	30
60	120	24/11	15:00	56	51	54	59	62	56,40	32
61	121	25/11	11:20	52	47	48	52	56	51,00	31
61	122	25/11								
62	123	26/11	11:14	46	44	44	49	51	46,80	30
62	124	26/11								
63	125	27/11	9:30	43	40	42	45	48	43,60	36
63	126	27/11	15:00	43	40	42	45	48	43,60	37
64	127	28/11	10:15	40	37	37	40	42	39,20	31
64	128	28/11	16:20	40	37	37	40	42	39,20	33
65	129	29/11	8:00	37	36	36	37	39	37,00	24
65	130	29/11	15:40	38	36	36	38	39	37,40	25
66	131	30/11	11:40	37	37	37	39	38	37,60	31
66	132	30/11	15:00	37	37	37	39	39	37,80	32
67	133	1/12								
67	134	1/12								
68	135	2/12	9:20	37	38	37	40	40	38,40	28
68	136	2/12	17:00	38	38	37	41	41	39,00	28
69	137	3/12								
69	138	3/12								
70	139	4/12	11:40	43	43	43	48	49	45,20	34
70	140	4/12	16:00	43	43	43	48	49	45,20	33
71	141	5/12	11:30	39	38	37	42	43	39,80	28
71	142	5/12	15:00	39	38	37	42	43	39,80	28
72	143	6/12	11:30	36	36	35	40	41	37,60	29
72	144	6/12	15:00	37	37	37	41	43	39,00	30
73	145	7/12	11:50	39	39	39	44	46	41,40	33
73	146	7/12	15:20	41	40	40	44	46	42,20	34
74	147	8/12	11:00	42	41	41	43	47	42,80	31
74	148	8/12	15:50	43	41	41	44	47	43,20	30
75	149	9/12	11:20	40	37	38	43	47	41,00	32
75	150	9/12	16:00	40	37	38	42	46	40,60	30
76	151	10/12								
76	152	10/12								
77	153	11/12	9:00	37	36	36	39	41	37,80	25
77	154	11/12	14:30	37	36	36	39	41	37,80	25
78	155	12/12	9:00	34	33	33	35	38	34,60	27
78	156	12/12	15:00	35	33	33	35	39	35,00	30
79	157	13/12	11:00	34	32	33	34	36	33,80	31
79	158	13/12	15:00	34	32	33	34	36	33,80	33
80	159	14/12	9:00	33	32	32	34	36	33,40	28

80	160	14/12	17:00	34	33	33	36	36	34,40	34
81	161	15/12	8:20	34	33	32	39	38	35,20	27

### 2.3 Composteira IV

Dias de compost.	n° medição	Data	Hora	Temperatura (°C)					Temp. média	Temp. ambiente (°C)
				Ponto1	Ponto2	Ponto 3	Ponto 4	Ponto 5		
01	01	26/9	10:00	43	46	46	50	45	46,00	34
01	02	26/9	16:00	44	49	44	43	49	45,80	38
02	03	27/9	9:00	38	42	44	43	44	42,20	26
02	04	27/9	15:00	38	43	43	42	43	41,80	28
03	05	28/9	9:30	50	50	53	56	60	53,80	27
03	06	28/9	15:10	41	43	43	42	47	43,20	35
04	07	29/9	9:40	50	50	53	56	60	53,80	27
04	08	29/9	14:55	50	50	52	54	61	53,40	32
05	09	30/9	10:55	41	41	44	44	51	44,20	29
05	10	30/9	17:00	43	42	46	42	50	44,60	33
06	11	1/10	11:38	34	37	40	37	55	40,60	27
06	12	1/10	15:40	38	39	42	40	48	41,40	25
07	13	2/10	11:30	38	42	43	44	52	43,80	28
07	14	2/10	15:00	42	47	46	45	62	48,40	28
08	15	3/10	10:20	42	44	44	44	59	46,60	29
08	16	3/10	16:25	43	44	45	44	58	46,80	26
09	17	4/10	10:30	41	41	42	42	53	43,80	31
09	18	4/10	14:30	41	42	42	41	53	43,80	35
10	19	5/10								
10	20	5/10	16:20	42	43	43	42	50	44,00	26
11	21	6/10	10:00	41	41	42	41	48	42,60	31
11	22	6/10	15:00	41	41	42	41	47	42,40	33
12	23	7/10	10:00	58	56	49	57	68	57,60	31
12	24	7/10	17:50	50	56	52	46	65	53,80	30
13	25	8/10	11:20	46	46	47	43	62	48,80	32
13	26	8/10	16:15	47	46	46	44	62	49,00	36
14	27	9/10	11:10	43	43	43	41	55	45,00	31
14	28	9/10	16:15	43	41	42	42	54	44,40	30
15	29	10/10	11:40	40	38	40	39	48	41,00	33
15	30	10/10	16:50	41	47	44	40	50	44,40	35
16	31	11/10	11:00	50	58	58	48	65	55,80	33
16	32	11/10	16:20	52	60	59	49	66	57,20	35
17	33	12/10	10:30	45	50	50	44	59	49,60	33
17	34	12/10	16:00	46	52	51	45	60	50,80	37
18	35	13/10	11:00	40	44	44	40	51	43,80	27
18	36	13/10	15:25	40	43	43	39	50	43,00	29
19	37	14/10	10:00	35	35	36	33	42	36,20	29
19	38	14/10	15:00	36	36	37	35	42	37,20	33
20	39	15/10	9:40	33	34	35	34	38	34,80	28

20	40	15/10	15:20	33	35	36	34	39	35,40	33
21	41	16/10	10:00	33	33	34	32	37	33,80	32
21	42	16/10	16:00	34	33	34	33	37	34,20	35
22	43	17/10	11:00	36	34	35	33	42	36,00	33
22	44	17/10	16:20	37	36	36	35	44	37,60	35
23	45	18/10	11:00	37	36	36	35	44	37,60	35
23	46	18/10	15:00	39	38	39	38	47	40,20	37
24	47	19/10	11:20	37	37	38	36	45	38,60	31
24	48	19/10	17:00	39	38	39	38	46	40,00	29
25	49	20/10	9:00	36	34	35	34	41	36,00	26
25	50	20/10	16:45	36	35	36	34	41	36,40	28
26	51	21/10	9:20	36	35	35	34	41	36,20	30
26	52	21/10	15:10	36	35	36	34	41	36,40	34
27	53	22/10	8:30	33	33	32	32	38	33,60	27
27	54	22/10	17:50	33	32	32	32	38	33,40	28
28	55	23/10	9:00	32	31	31	31	36	32,20	26
28	56	23/10	15:00	32	32	31	31	37	32,60	28
29	57	24/10	11:00	33	32	32	31	35	32,60	35
29	58	24/10	16:30	35	35	35	34	36	35,00	38
30	59	25/10	11:20	65	61	67	67	71	66,20	34
30	60	25/10	17:00	66	63	68	67	72	67,20	37
31	61	26/10	11:00	59	52	55	64	67	59,40	34
31	62	26/10	16:00	59	52	55	64	67	59,40	36
32	63	27/10	11:00	53	57	58	57	63	57,60	28
32	64	27/10	15:00	52	47	47	54	62	52,40	27
33	65	28/10	10:00	47	43	42	48	51	46,20	26
33	66	28/10	15:00	48	43	42	49	52	46,80	28
34	67	29/10	9:30	39	38	38	41	43	39,80	26
34	68	29/10	16:30	40	38	38	42	45	40,60	30
35	69	30/10	9:30	37	35	35	38	42	37,40	26
35	70	30/10	15:20	38	36	36	38	43	38,20	31
36	71	31/10	12:00	39	36	36	37	40	37,60	34
36	72	31/10								
37	73	1/11	9:00	36	34	33	34	37	34,80	32
37	74	1/11	15:50	37	35	34	34	38	35,60	34
38	75	2/11	10:20	35	34	33	33	36	34,20	31
38	76	2/11	15:40	34	34	33	33	36	34,00	29
39	77	3/11	9:40	32	32	32	32	35	32,60	29
39	78	3/11	17:20	32	32	32	31	35	32,40	26
40	79	4/11	9:20	31	31	31	31	35	31,80	30
40	80	4/11	15:00	32	32	32	32	35	32,60	34
41	81	5/11	8:00	30	30	30	30	33	30,60	29
41	82	5/11	18:00	32	31	31	31	35	32,00	30
42	83	6/11	11:00	30	29	29	29	33	30,00	33
42	84	6/11	15:00	32	31	31	31	35	32,00	35
43	85	7/11	10:50	30	29	29	29	33	30,00	31
43	86	7/11	16:40	32	31	31	31	35	32,00	34
44	87	8/11	10:30	63	63	60	58	58	60,40	30

44	88	8/11	15:00	64	63	61	59	61	61,60	35
45	89	9/11	9:00	63	55	57	57	63	59,00	27
45	90	9/11	14:00	62	54	55	56	63	58,00	34
46	91	10/11	11:00	55	46	48	55	x	51,00	33
46	92	10/11	16:10	55	46	49	56	44	50,00	36
47	93	11/11	9:00	48	40	41	43	47	43,80	34
47	94	11/11	15:00	50	42	43	44	48	45,40	37
48	95	12/11	9:30	45	37	38	39	41	40,00	35
48	96	12/11	16:00	47	39	40	41	44	42,20	40
49	97	13/11	9:00	39	36	36	36	37	36,80	32
49	98	13/11	16:00	40	38	37	37	38	38,00	35
50	99	14/11	11:30	38	36	36	36	36	36,40	40
50	100	14/11	16:20	40	39	39	39	38	39,00	43
51	101	15/11	9:30	42	46	46	41	41	43,20	34
51	102	15/11	15:50	45	47	48	43	44	45,40	37
52	103	16/11	11:40	47	49	50	48	49	48,60	37
52	104	16/11	16:10	49	51	51	50	51	50,40	41
53	105	17/11	11:30	63	56	54	57	57	57,40	39
53	106	17/11	16:40	65	58	56	58	59	59,20	42
54	107	18/11	11:30	54	52	51	51	55	52,60	39
54	108	18/11	15:00	56	53	53	52	56	54,00	42
55	109	19/11	9:00	43	43	41	42	44	42,60	39
55	110	19/11	16:00	44	44	42	42	45	43,40	42
56	111	20/11	10:30	35	35	35	35	36	35,20	31
56	112	20/11	16:00	36	36	36	35	37	36,00	28
57	113	21/11	10:20	33	34	34	33	34	33,60	28
57	114	21/11	16:40	35	35	35	34	36	35,00	31
58	115	22/11	11:00	44	44	42	40	44	42,80	35
58	116	22/11	16:20	46	46	45	43	47	45,40	35
59	117	23/11	11:30	54	54	50	47	54	51,80	37
59	118	23/11	17:20	55	54	50	47	55	52,20	33
60	119	24/11	10:10	57	59	58	59	62	59,00	30
60	120	24/11	15:00	57	59	59	59	63	59,40	32
61	121	25/11	11:20	53	56	53	53	62	55,40	31
61	122	25/11								
62	123	26/11	11:14	51	54	54	51	58	53,60	30
62	124	26/11								
63	125	27/11	9:30	50	49	48	47	53	49,40	36
63	126	27/11	15:00	50	50	48	48	54	50,00	37
64	127	28/11	10:15	44	44	43	41	48	44,00	31
64	128	28/11	16:20	44	44	44	41	49	44,40	33
65	129	29/11	8:00	39	39	37	36	41	38,40	24
65	130	29/11	15:40	40	39	37	37	41	38,80	25
66	131	30/11	11:40	40	37	37	36	41	38,20	31
66	132	30/11	15:00	40	37	37	36	41	38,20	32
67	133	1/12								
67	134	1/12								
68	135	2/12	9:20	40	38	38	37	42	39,00	28

68	136	2/12	17:00	40	38	39	37	42	39,20	28
69	137	3/12								
69	138	3/12								
70	139	4/12	11:40	46	46	46	44	50	46,40	34
70	140	4/12	16:00	46	46	46	44	50	46,40	33
71	141	5/12	11:30	44	43	42	42	46	43,40	28
71	142	5/12	15:00	44	43	42	42	46	43,40	28
72	143	6/12	11:30	42	40	39	40	43	40,80	29
72	144	6/12	15:00	43	41	40	41	44	41,80	30
73	145	7/12	11:50	42	41	43	42	44	42,40	33
73	146	7/12	15:20	44	42	43	43	45	43,40	34
74	147	8/12	11:00	44	43	44	44	46	44,20	31
74	148	8/12	15:50	44	44	44	44	46	44,40	30
75	149	9/12	11:20	44	44	46	43	49	45,20	32
75	150	9/12	16:00	44	44	46	43	49	45,20	30
76	151	10/12								
76	152	10/12								
77	153	11/12	9:00	47	44	43	45	50	45,80	25
77	154	11/12	14:30	47	44	43	45	50	45,80	25
78	155	12/12	9:00	42	39	33	35	38	37,40	27
78	156	12/12	15:00	43	39	33	35	39	37,80	30
79	157	13/12	11:00	39	37	36	37	41	38,00	31
79	158	13/12	15:00	39	37	37	37	41	38,20	33
80	159	14/12	9:00	39	37	37	37	40	38,00	28
80	160	14/12	17:00	38	37	37	37	40	37,80	34
81	161	15/12	8:20	38	41	41	39	42	40,20	27

## APÊNDICE B – CÁLCULOS DE VIABILIDADE E CONCENTRAÇÃO DAS LEVEDURAS DE *Sporothrix* spp. ANTES E APÓS OS DESAFIOS I E II DESCRITOS NO CAPÍTULO 2

### 1 CONTAGEM E VIABILIDADE DE LEVEDURAS PRESENTES NA PLACA-MÃE – ANTES DOS DESAFIOS PROPOSTOS

#### 1.1 Contagem ao hematócrito

Os valores decorrentes da contagem seguem na Tabela 12.

Tabela 12 - Contagem média de leveduras ao hematócrito após diluição em azul de tripan

Quadrante	contagem média de leveduras vivas	contagem média de leveduras mortas
E1	90	0
E2	86	0
E3	93	0
E4	112	0
E5	100	0
Total	481	0

#### 1.2 Cálculo da concentração de leveduras

$$\text{Concentração de leveduras} = 481 \times 5 \times 200 \times 10000 = 4,81 \times 10^9 \text{ leveduras/ml}$$

#### 1.3 Cálculo da viabilidade

$$\text{Viabilidade celular} = \frac{481}{481} \times 100 = 100\% \text{ de viabilidade}$$

## 2 CONTAGEM E VIABILIDADE DE LEVEDURAS PRESENTES NAS PLACAS SUBMETIDAS AOS DESAFIOS PROPOSTOS

### 2.1 Contagem e viabilidade após Desafio 1

Os valores decorrentes da contagem seguem na Tabela 13

#### 2.1.1 Contagem ao hemocitômetro

Tabela 13 - Contagem média de leveduras ao hemocitômetro após diluição em azul de tripan, posteriormente ao Desafio 1

Quadrante	contagem média de leveduras vivas	contagem média de leveduras mortas
E1	0	57
E2	0	66
E3	0	86
E4	0	111
E5	0	110
Total	0	429

#### 2.1.2 Cálculo da concentração de leveduras

$$\text{Concentração de leveduras} = 429 \times 5 \times 200 \times 10000 = 4,29 \times 10^9 \text{ leveduras/ml}$$

#### 2.1.3 Cálculo da viabilidade

$$\text{Viabilidade celular} = \frac{0}{429} \times 100 = 0\% \text{ de viabilidade}$$

## 2.2 Contagem e viabilidade após Desafio 2

### 2.2.1 Contagem ao hematócrito

Os valores decorrentes da contagem seguem na Tabela 14

Tabela 14 - Contagem média de leveduras ao hematócrito após diluição em azul de tripan, posteriormente ao Desafio 2

Quadrante	contagem média de leveduras vivas	contagem média de leveduras mortas
E1	0	17
E2	0	17
E3	0	23
E4	0	22
E5	0	23
Total	0	102

### 2.2.2 Cálculo da concentração de leveduras

$$\text{Concentração de leveduras} = 102 \times 5 \times 200 \times 10000 = 1,02 \times 10^9 \text{ leveduras/ml}$$

### 2.2.3 Cálculo da viabilidade

$$\text{Viabilidade celular} = \frac{0}{102} \times 100 = 0\% \text{ de viabilidade}$$

**ANEXO A – Manual do laboratorista para análise química dos solos utilizado no  
Laboratório de Solos do IFMG – Bambuí**

**PROFERT MG  
PROGRAMA INTERLABORATORIAL DE CONTROLE DE QUALIDADE DE  
ANÁLISE DE SOLO**

**MANUAL DO LABORATORISTA**

## 1. PREPARO DA AMOSTRA

1. Colocar a amostra identificada espalhada sobre uma folha de papel em uma bancada e destorroar, manualmente, os torrões existentes;
2. Efetuar a completa secagem da amostra ao ar em ambiente ventilado, ou em estufa com circulação forçada, à temperatura de 40 °C;
3. Proceder ao destorroamento com um rolo de madeira. Evitar quebrar pedras ou concreções;
4. Passar a amostra através de peneira com malha de 2 mm. Descartar a parte da amostra retida na peneira. Transferir a terra fina seca ao ar (TFSA) para o recipiente apropriado, devidamente identificado.

### Observações:

É incorreto descartar parte da amostra antes da obtenção da TFSA, mesmo que o volume da amostra seja muito grande. O correto é obter a TFSA, homogeneizar e somente depois descartar o excedente.

A amostra pode ser preparada em moinhos especiais, desde que não contenha pedras ou concreções. No caso de se pretender determinar, nas amostras, os teores de micronutrientes e /ou metais pesados, deve-se evitar o uso de folhas de jornal, peneiras, trado e outros materiais cuja fabricação possa conter os elementos a serem analisados. Deve-se dar preferência a peneiras de náilon.

## **2. PH**

### **2.1 - pH em água**

Colocar 10 cm<sup>3</sup> de TFSA num frasco de 50 mL e adicionar 25,0 mL de H<sub>2</sub>O. Agitar a amostra com bastão de vidro por 1,0 min ou usar o agitador horizontal por 5,0 min a 200 rpm. Deixar em repouso por 30 a 60 min. Agitar cada amostra antes de mergulhar o eletrodo na suspensão homogeneizada e proceder a leitura do pH em potenciômetro devidamente calibrado com soluções-padrão de pH 4,0 e 7,0.

### **2.2 - pH em KCl 1,0 mol/L**

Proceder da mesma maneira descrita em 2.1, substituindo a água pela solução de KCl 1,0 mol/L (74,6 g/L).

### **2.3 - pH em CaCl<sub>2</sub> 0,01 mol/L**

Colocar 10 cm<sup>3</sup> de TFSA num frasco de 50 mL e adicionar 25,0 mL de CaCl<sub>2</sub> 2H<sub>2</sub>O 0,01 mol/L (1,469 g/L), deixando 15 min em contato. Agitar a amostra em agitador horizontal por 10,0 min a 200 rpm. Deixar em repouso por 30 a 60 min. Após o tempo de repouso, sem agitar novamente a amostra, fazer a leitura em potenciômetro, devidamente calibrado com soluções-padrão de pH 4,0 e 7,0, tomando o cuidado de encostar o eletrodo suavemente no solo.

### 3. FÓSFORO

#### 3.1 – Extração

Colocar 5,0 cm<sup>3</sup> de TFSA em Erlenmeyer de 125 mL e adicionar 50 mL de extrator Mehlich-1. Agitar por 5 min em agitador circular horizontal a 200 rpm, deixando em repouso por  $\pm$  16 h.

#### 3.2 - Dosagem

Pipetar 5,0 mL do sobrenadante e adicionar 5,0 mL de reagente de trabalho (RT). Após 30 min, fazer a leitura no espectrofotômetro de absorção molecular, utilizando o comprimento de onda de 725 nm.

#### 3.3 - Curva de calibração do espectrofotômetro de absorção molecular para leitura de P em extratos de Mehlich-1 na relação solo: extrator 1:10

Concentração de P <sup>(1)</sup>	Alíquota				Total
	SP <sup>(2)</sup>	H <sub>2</sub> O	M-1 (2x) <sup>(3)</sup>	RT <sup>(4)</sup>	
mg/L	mL				
0,0	0,0	2,5	2,5	5,0	10,0
0,4	0,5	2,0	2,5	5,0	10,0
0,8	1,0	1,5	2,5	5,0	10,0
1,2	1,5	1,0	2,5	5,0	10,0
1,6	2,0	0,5	2,5	5,0	10,0
2,0	2,5	0,0	2,5	5,0	10,0

<sup>(1)</sup> Concentração da solução de leitura; <sup>(2)</sup> Solução padrão contendo 8,0 mg/L de P; <sup>(3)</sup> Extrator Mehlich-1 com o dobro da concentração; <sup>(4)</sup> Reagente de trabalho para 10 mL de solução de leitura: 1,6 g de Vitamina C e 200 mL de solução 725 para 1 L (Braga & Defelipo, 1974)

### 3.4 - Diluição

Caso haja necessidade de diluir a solução de leitura, tomar uma alíquota menor que 5,0 mL, completar os 5 mL com extrator Mehlich-1 e adicionar mais 5,0 mL de RT. O fator de diluição (f) será calculado da seguinte forma:

$$f = \frac{x \text{ mL de extrato} + (5 - x \text{ mL}) \text{ de extrato, de extrator}}{x \text{ mL de extrato}}$$

### 3.5 - Soluções

#### 3.5.1 - Mehlich-1 (0,05 mol/L de HCl + 0,0125 mol/L de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)

Adicionar 41,4 mL de HCl p.a., d = 1,19, mais 6,9 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> p.a., d = 1,84, em um recipiente de 10 L, completando o volume com água destilada e homogeneizando a solução.

#### 3.5.2 - Reagente de trabalho (RT), para 10 mL de solução de leitura

Em um balão volumétrico de 1000 mL, adicionar 200 mL de solução 725 mais 1,6 g de ácido ascórbico (vitamina C). Completar o volume do balão com água destilada e homogeneizar a solução.

#### 3.5.3 - Solução 725

Em balão volumétrico de 1000 mL, adicionar 1 g de subcarbonato de bismuto e, em seguida, 138 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado.

Em copo separado, dissolver em água 20 g de molibdato de amônio p.a. e adicionar ao balão contendo subcarbonato de bismuto e H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, completando o volume do balão com água destilada, homogeneizando a solução (Braga e Defelipo, 1974).

Esta solução deve ser guardada em frasco escuro bem vedado.

**3.5.4 - Solução-padrão de 1.000 mg/L de P:**

Pesar 4,3903 g de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , dissolver em água destilada e completar para 1.000 mL, em balão volumétrico.

**3.5.5 - Solução-padrão de 8,0 mg/L de P:**

Retirar uma alíquota de 4,0 mL da solução-padrão de 1.000 mg/L e completar, em balão volumétrico de 500 mL, com água destilada.

## 4. POTÁSSIO E SÓDIO

### 4.1 - Extração (ver item 2.1)

### 4.2 - Dosagem

Pipetar  $\pm 10$  mL do sobrenadante em um becker e fazer a leitura diretamente no extrato, utilizando um espectrofotômetro de emissão em chama.

### 4.3 - Curva de calibração do fotômetro de chama para leitura de K e Na em extratos de Mehlich-1, na relação solo: extrator 1:10

Concentração de K e Na <sup>(1)</sup>	Alíquota			Total
	SP <sup>(2)</sup>	H <sub>2</sub> O	Extr (2x) <sup>(3)</sup>	
mg/L	mL			
0,0	0,0	5,0	5,0	10,0
4,0	1,0	4,0	5,0	10,0
8,0	2,0	3,0	5,0	10,0
12,0	3,0	2,0	5,0	10,0
16,0	4,0	1,0	5,0	10,0
20,0	5,0	0,0	5,0	10,0

<sup>(1)</sup> Concentração da solução de leitura; <sup>(2)</sup> Solução padrão contendo 40,0 mg/L de K e 40 mg/L de Na; <sup>(3)</sup> Extrator Mehlich-1 com o dobro da concentração.

### 4.4 – Diluição

Caso haja necessidade de diluir a solução de leitura, observar a fórmula abaixo para calcular o fator de diluição.

$$f = \frac{x \text{ mL de extrato} + y \text{ mL de extrator}}{x \text{ mL de extrato}}$$

## **4.5 - Soluções**

### ***4.5.1 - Mehlich-1 (ver item 2.5.1)***

### ***4.5.2 - Solução-padrão de 1.000 mg/L de K e Na:***

Pesar 1,9066 g de KCl e 2,5424 g de NaCl, dissolver em água destilada e completar para 1.000 mL, em balão volumétrico.

### ***4.5.3 - Solução-padrão de 40,0 mg/L de K e 40,0 mg/L de Na:***

Retirar uma alíquota de 20,0 mL da solução-padrão de 1.000 mg/L de K e Na e completar, em balão volumétrico de 500 mL, com água destilada.

## 5. CÁLCIO E MAGNÉSIO

### 5.1 - Extração

Medir 10 cm<sup>3</sup> de TFSA em erlenmeyer de 125 mL e adicionar 100 mL de extrator KCl 1,0 mol/L. Agitar por 5 min em agitador circular horizontal a 200 rpm e deixar em repouso por  $\pm$  16 h.

### 5.2 - Dosagem

Retirar uma alíquota de 0,5 mL e colocá-la em tubo de ensaio, adicionando 10 mL da solução de SrCl<sub>2</sub> contendo 1.680 mg/L de Sr. Agitar o tubo de ensaio e fazer a leitura em espectrofotômetro de absorção atômica devidamente calibrado.

### 5.3 - Curva de calibração do espectrofotômetro de absorção atômica para leitura de Ca e Mg em extratos de KCl 1,0 mol/L, na relação solo: extrator 1:10

Concentração <sup>(1)</sup> de		Alíquota				Total
Ca	Mg	SP <sup>(2)</sup>	H <sub>2</sub> O	Ext (2x) <sup>(3)</sup>	RT <sup>(4)</sup>	
mg/L		mL				
0,0	0,0	0,0	0,5	0,5	20,0	21,0
0,9	0,2	0,1	0,4	0,5	20,0	21,0
1,8	0,4	0,2	0,3	0,5	20,0	21,0
2,7	0,6	0,3	0,2	0,5	20,0	21,0
3,6	0,8	0,4	0,1	0,5	20,0	21,0
4,5	1,0	0,5	0,0	0,5	20,0	21,0

<sup>(1)</sup> Concentração da solução de leitura; <sup>(2)</sup> Solução padrão contendo 189,0 mg/L de Ca e 42,0 mg/L de Mg; <sup>(3)</sup> Extrator KCl 2,0 mol/L; <sup>(4)</sup> Solução de SrCl<sub>2</sub> com 1.680 mg/L de Sr.

## 5.4 - Diluição

Caso haja necessidade de diluir a solução de leitura, tomar uma alíquota menor que 0,5 mL, completar o 0,5 mL com extrator KCl 1,0 mol/L e adicionar mais 10,0 mL de RT. O fator de diluição (f) será calculado da seguinte forma:

$$f = \frac{x \text{ mL de extrato} + (0,5 - x \text{ mL}) \text{ de extrato, de extrator}}{x \text{ mL de extrato}}$$

## 5.5 – Soluções

### 5.5.1 – KCl 1,0 mol/L

Dissolver 746 g de KCl p.a. em recipiente de 10 L, completando o volume com água destilada.

### 5.5.2 – Solução de SrCl<sub>2</sub> para 10,5 mL de solução de leitura:

Em um balão volumétrico de 1.000 mL, adicionar 5,1120 g de SrCl<sub>2</sub> 6H<sub>2</sub>O. Completar o volume do balão com água destilada e homogeneizar a solução.

### 5.5.3 - Solução-padrão de 1.000 mg/L de Ca:

Pesar 5,8920 g de Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O, dissolver em água destilada e completar para 1.000 mL, em balão volumétrico.

### 5.5.4 - Solução-padrão de 1.000 mg/L de Mg:

Pesar 10,5475 g de Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O, dissolver em água destilada e completar para 1.000 mL, em balão volumétrico.

***5.5.5 - Solução-padrão de 189,0 mg/L de Ca e 42,0 mg/L de Mg:***

Retirar uma alíquota de 18,9 mL da solução-padrão de 1.000 mg/L de Ca e uma alíquota de 4,2 mL da solução-padrão de 1.000 mg/L de Mg e completar, em balão volumétrico de 100 mL, com água destilada.

## **6. ALUMÍNIO TROCÁVEL**

### **6.1 – Extração (Ver item 4.1)**

Medir 10 cm<sup>3</sup> de TFSA em erlenmeyer de 125 mL e adicionar 100 mL de extrator KCl 1,0 mol/L. Agitar por 5 min em agitador circular horizontal a 200 rpm e deixar em repouso por ± 16 h.

### **6.2 - Dosagem**

Retirar uma alíquota de 25 mL do sobrenadante e colocá-la em erlenmeyer de 125 mL, adicionar três gotas de indicador azul de bromotimol a 1 % e titular com NaOH 0,025 mol/L. Padronizar a solução de NaOH e fazer prova em branco. A viragem da cor é de amarelo para azul.

### **6.3 - Soluções**

#### **6.3.1 - KCl 1,0 mol/L (Ver item 4.5.1)**

Dissolver 746 g de KCl p.a. em recipiente de 10 L, completando o volume com água destilada.

#### **6.3.2 - NaOH 1,0 mol/L**

Dissolver 40,0 g de NaOH p.a. em água destilada e completar o volume para 1.000 mL.

#### **6.3.3 - NaOH 0,1 mol/L**

Pipetar 10 mL da solução NaOH 1,0 mol/L em balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com água destilada.

#### **6.3.4 - NaOH 0,025 mol/L**

Pipetar 25 mL da solução de NaOH 1,0 mol/L para balão volumétrico de 1.000 mL, completando o volume com água destilada. Padronizar esta solução usando 20 mL de solução de biftalato de potássio ( $\text{KHC}_8\text{H}_4\text{O}_4$ ) padrão primário. Secar o sal em estufa a 80-100 °C, pesar 0,2041 g e transferir com água destilada, para balão de 100 mL. Pipetar 20 mL da solução para erlenmeyer de 125 mL, adicionar 2 gotas de fenolftaleína solução alcoólica a 1 % e titular com o NaOH 0,025 mol/L. A viragem é de incolor para róseo.

Calcula-se o fator de correção (f) da seguinte maneira:

$$f = (20 \times 0,01) / (V \times 0,025), \text{ onde } V \text{ corresponde ao volume gasto de NaOH.}$$

#### **6.3.5 - Fenolftaleína solução alcoólica 1 %**

Pesar 1,0 g de fenolftaleína e dissolver em 100 mL de álcool absoluto.

#### **6.3.6 - Indicador azul de bromotimol**

Pesar 0,1 g do indicador, colocar em almofariz de ágata ou gral de porcelana e adicionar 1,6 mL de NaOH 0,1 mol/L. Triturar até a dissolução completa, adicionar mais algumas gotas de NaOH 0,1 mol/L e passar o resíduo (com água destilada) para balão de 100 mL, completando o volume.

## **7. H + Al**

### **7.1 - Extração**

Medir 5,0 cm<sup>3</sup> de TFSA em erlenmeyer de 125 mL e adicionar 75,0 mL de acetato de cálcio 0,5 mol/L a pH 7,0. Agitar durante 10 min e deixar em repouso por ± 16h.

### **7.2 - Dosagem**

Pipetar 25,0 mL do extrato em um erlenmeyer de 125 mL, adicionar 2 gotas de fenolftaleína e titular com solução padronizada de NaOH 0,025 mol/L. A viragem é de incolor para róseo. Fazer prova em branco.

### **7.3 - Soluções**

#### ***7.3.1 - Acetato de cálcio 0,5 mol/L, pH 7,0:***

Pesar 88,0 g de acetato de cálcio monoidratado e dissolver em aproximadamente 800 mL de água destilada. Levar ao potenciômetro e ajustar o pH a 7,0 adicionando ácido acético ou hidróxido de cálcio. Transferir para balão de 1.000 mL e completar o volume.

#### ***7.3.2 - NaOH 0,025 mol/L (ver item 5.3.4)***

#### ***7.3.3 - Fenolftaleína (ver item 5.3.5)***

## 8. FÓSFORO REMANESCENTE

### 8.1 - Contato solo-solução

Colocar 7,5 cm<sup>3</sup> de TFSA em erlenmeyer de 125 mL e adicionar 75 mL da solução de CaCl<sub>2</sub> 0,01 mol/L contendo 60 mg/L de P (solução de equilíbrio). Agitar por 5 min e deixar em repouso por ± 16 h.

### 8.2 - Dosagem

Tomar uma alíquota de 0,2 mL e adicionar 4,8 mL de H<sub>2</sub>O. Misturar os 5,0 mL da solução diluída com 5,0 mL do reagente de trabalho (RT). Decorridos 30 min, fazer a leitura da absorvância no comprimento de onda de 725 nm. Havendo necessidade, pode-se alterar a diluição.

### 8.3 - Curva de calibração do espectrofotômetro de absorção molecular para leitura de P-rem em CaCl<sub>2</sub> 0,01 mol/L, na relação solo: extrator 1:10

Concentração		Alíquota			Total
P <sup>(1)</sup>	SP <sup>(2)</sup>	SP	H <sub>2</sub> O	RT <sup>(3)</sup>	
----- mg/L -----		----- mL -----			
0,0	0,0	0,2	4,8	5,0	10,0
0,3	15,0	0,2	4,8	5,0	10,0
0,6	30,0	0,2	4,8	5,0	10,0
0,9	45,0	0,2	4,8	5,0	10,0
1,2	60,0	0,2	4,8	5,0	10,0
1,5	75,0	0,2	4,8	5,0	10,0

<sup>(1)</sup> Concentração da solução de leitura; <sup>(2)</sup> Soluções-padrão; <sup>(3)</sup> Reagente de trabalho para 10 mL de solução de leitura: 1,6 g de Vitamina C e 200 mL de solução 725 para 1 L (Braga & Defelipo, 1974).

## **8.4 - Soluções**

### ***8.4.1 - Solução de equilíbrio***

Pesar 1,4702 g de  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  e 0,2637 g de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , sais p.a. e secos. Dissolvê-los em água, transferindo para balão volumétrico de 1.000 mL. Completar o volume e homogeneizar. Esta solução contém 0,01 mol/L de  $\text{CaCl}_2$  e 60 mg/L de P.

### ***8.4.2 - Reagente de trabalho para 10 mL de solução de leitura (ver item 2.5.2)***

### ***8.4.3 - Solução-padrão de 1.000 mg/L de P em $\text{CaCl}_2$ 0,01 mol/L***

Pesar 4,3900 g de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , dissolver em  $\text{CaCl}_2$  0,01 mol/L e completar para 1.000 mL, em balão volumétrico.

### ***8.4.4 - Solução-padrão de 100,0 mg/L de P em $\text{CaCl}_2$ 0,01 mol/L***

Da solução-padrão de 1000 mg/L de P, retirar uma alíquota de 100 mL, colocar em balão volumétrico de 1000 mL e completar o volume com  $\text{CaCl}_2$  0,01 mol/L.

### ***8.4.5 - Soluções-padrão de 0, 15, 30, 45, 60 e 75 mg/L de P em $\text{CaCl}_2$ 0,01 mol/L***

Em balões volumétricos de 100 mL, colocar alíquotas de 0, 15, 30, 45, 60 e 75 mL da solução-padrão de 100 mg/L de P em  $\text{CaCl}_2$  0,01 mol/L e completar o volume com  $\text{CaCl}_2$  0,01 mol/L.

## 9. CARBONO ORGÂNICO

### 9.1 - Oxidação

Colocar em erlenmeyer de 125 mL, 0,5 g de amostra de solo triturada em gral de porcelana. Adicionar 10 mL de solução 1/6 mol/L de  $K_2Cr_2O_7$ , misturando solo-solução. Adicionar 20 mL de  $H_2SO_4$  concentrado, agitando o erlenmeyer para garantir a mistura íntima do solo com os reagentes. Deixar em repouso por 20 a 30 minutos, dentro da capela. Fazer prova em branco.

### 9.2 - Dosagem

Adicionar aproximadamente 40 mL de  $H_2O$ , 10 mL de  $H_3PO_4$ , 0,2 g de NaF e cinco gotas de difenilamina. Titular com  $FeSO_4$ . O final da titulação é atingido quando a coloração escura se altera para verde.

### 9.3 - Soluções

#### 9.3.1 - $K_2Cr_2O_7$ 1/6 mol/L

Pesar 49,04 g de  $K_2Cr_2O_7$ , dissolver em água destilada e completar o volume para 1.000 mL.

#### 9.3.2 - $H_3PO_4$

Utilizar reagente p.a. com, no mínimo, 85 % de  $H_3PO_4$

#### 9.3.3 - $H_2SO_4$

Utilizar reagente concentrado com, no mínimo, 96 % de  $H_2SO_4$ .

**9.3.4 - Difenilamina**

Dissolver 0,5 g do indicador em 20 mL de água e 100 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado.

**9.3.5 - FeSO<sub>4</sub> 0,5 mol/L**

Dissolver 139,0 g de FeSO<sub>4</sub> 7H<sub>2</sub>O em 800 mL de água destilada que contenha 15 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado. Completar o volume para 1.000 mL.

## 10. FERRO, MANGANÊS, ZINCO E COBRE

### 10.1 - Extração (ver item 2.1)

### 10.2 - Dosagem

Pipetar  $\pm$  10 mL do sobrenadante e fazer a leitura diretamente no extrato, utilizando um espectrofotômetro de absorção atômica.

### 10.3 - Curva de calibração do espectrofotômetro de absorção atômica para leitura de Fe, Mn, Zn e Cu em extratos de Mehlich-1, na relação solo: extrator 1:10

Concentração <sup>(1)</sup>				Alíquota			Total
Fe	Mn	Zn	Cu	SP <sup>(2)</sup>	H <sub>2</sub> O	M1(2x) <sup>(3)</sup>	
-	-	-	-	-	-	-	-
- - - - - mg/L - - - - -				- - - - - mL - - - - -			
0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	5,0	5,0	10,0
3,0	1,0	0,4	0,4	1,0	4,0	5,0	10,0
6,0	2,0	0,8	0,8	2,0	3,0	5,0	10,0
9,0	3,0	1,2	1,2	3,0	2,0	5,0	10,0
12,0	4,0	1,6	1,6	4,0	1,0	5,0	10,0
15,0	5,0	2,0	2,0	5,0	0,0	5,0	10,0

<sup>(1)</sup> Concentração da solução de leitura; <sup>(2)</sup> Solução padrão contendo 30,0 mg/L de Fe, 10,0 mg/L de Mn e 4,0 mg/L de Zn e Cu; <sup>(3)</sup> Extrator Mehlich-1 com o dobro da concentração.

### 10.4 – Soluções

#### 10.4.1 - Solução-padrão de 300 mg/L de Fe, 100 mg/L de Mn e 40,0 mg/L de Zn e Cu:

Retirar alíquotas de 300 mL da solução-padrão de 1.000 mg/L de Fe, 100 mL da solução-padrão de 1.000 mg/L de Mn e alíquotas de 40 mL das soluções-padrão de 1.000 mg/L de Zn e Cu, coloca-las em balão volumétrico de 1.000 mL e completar o volume com água destilada.

***10.4.2 - Solução-padrão de 30,0 mg/L de Fe, 10,0 mg/L de Mn e 4,0 mg/L de Zn e Cu:***

Da Solução-padrão de 300 mg/L de Fe, 100 mg/L de Mn e 40,0 mg/L de Zn e Cu, retirar uma alíquota de 10,0 mL, colocar em balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com água destilada.

## 11. ENXOFRE

### 11.1 – Extração

Medir 10 cm<sup>3</sup> de TFSA e colocar em erlenmeyer de 125 mL. Adicionar uma medida ( $\pm 0,30$  g) de carvão ativado e 25 mL do extrator. Agitar por 45 min, decantar por 5 min e filtrar em papel de filtração lenta tipo Whatman 42. O extrato deve ficar cristalino e incolor.

Nas mesmas condições de extração deve ser feita uma prova em branco.

### 11.2 - Dosagem

Em tubo de ensaio de 50 mL, pipetar 10 mL do extrato, adicionar as sementes de S (1 mL da solução-padrão 15 mg/L de S) e 4 mL do reagente de trabalho (RT). Agitar em agitador de tubos de ensaio até a homogeneização da suspensão. Esperar pelo menos 10 min para a completa formação da turbidez e, 2 a 3 min antes de fazer a leitura em espectrômetro de absorção molecular a 420 nm em cubetas de 1,0 cm de largura, agitar novamente para ressuspender o precipitado.

Caso sejam necessárias diluições, tomar X mL ( $X < 10$ ) de alíquota, adicionar (10 – X) mL do extrator, 1 mL da solução-padrão 15 mg/L de S e 4 mL do RT. Homogeneizar bem em agitador de tubos de ensaio.

O pH da solução de leitura deve ficar entre 3,0 e 3,3.

### 11.3 – Preparo da Curva-Padrão

Preparar a curva de calibração adicionando, em erlenmeyers de 125 mL, a solução-padrão 30 mg/L de S, água destilada, o extrator duplo concentrado (2X) e carvão ativado lavado (quadro 10.3.1). A seguir, agitar por 45 min em agitador horizontal, deixar decantar por 5 min e filtrar em papel de filtração lenta tipo Whatman 42.

Do extrato obtido (extrato-padrão de S), retirar uma alíquota de 10 mL e acrescentar as sementes de S (1 mL de solução-padrão 15 mg/L de S), conforme consta do quadro 10.3.2. Esperar pela tomada das alíquotas dos extratos das amostras e adicionar 4 mL do RT primeiro nas soluções da curva e, em seguida, nas soluções das amostras. Ao final, agitar bem.

Quadro 11.3.1 – Preparo das soluções-padrão até 15 mg/L de S, com carvão ativado, para extração com  $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$  em HOAc

Concentração de S <sup>(1)</sup>	Alíquota			Carvão ativado
	SP <sup>(2)</sup>	H <sub>2</sub> O	Ex 2X <sup>(3)</sup>	
mg/L	----- mL -----			g
0,00	0,00	10,00	10,00	0,24
0,45	0,30	9,70	10,00	0,24
0,90	0,60	9,40	10,00	0,24
1,35	0,90	9,10	10,00	0,24
1,80	1,20	8,80	10,00	0,24
3,00	2,00	8,00	10,00	0,24
6,00	4,00	6,00	10,00	0,24
9,00	6,00	4,00	10,00	0,24
12,00	8,00	2,00	10,00	0,24
15,00	10,00	0,00	10,00	0,24

<sup>(1)</sup> Concentração dos extratos-padrão; <sup>(2)</sup> Solução-padrão contendo 30 mg/L de S; <sup>(3)</sup> Extrator  $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ , 1.000 mg/L de P, em HOAc 4 mol/L.

Quadro 11.3.2 – Curva de calibração até 10 mg/L de S para extração com  $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$  em HOAc e adição de sementes de S

Concentração de S <sup>(1)</sup>	Alíquota		RT	Total
	Extrato-padrão de S	Solução-padrão 15 mg/L de S		
mg/L	----- mL -----			
0,0	10,0	1,0	4,0	15,0
0,3	10,0	1,0	4,0	15,0
0,6	10,0	1,0	4,0	15,0
0,9	10,0	1,0	4,0	15,0
1,2	10,0	1,0	4,0	15,0
2,0	10,0	1,0	4,0	15,0
4,0	10,0	1,0	4,0	15,0
6,0	10,0	1,0	4,0	15,0
8,0	10,0	1,0	4,0	15,0
10,0	10,0	1,0	4,0	15,0

<sup>(1)</sup> Concentração da solução de leitura sem sementes de S. Para simplificação de cálculos, não é considerada a concentração das sementes de S (1 mg/L de S) na curva de calibração nem nas amostras.

## 11.4 – Soluções

### ***11.4.1 – Solução-padrão de 500 mg/L de S:***

Dissolver 1,3589 g de  $K_2SO_4$  PA (secado em estufa durante 1 h, a 105 °C) e diluir com água destilada até 500 mL.

### ***11.4.2 – Solução-padrão de 100 mg/L de S:***

Diluir 20 mL da solução-padrão de 500 mg/L de S com água destilada até 100 mL.

### ***11.4.3 – Solução-padrão de 30 mg/L de S:***

Diluir 30 mL da solução-padrão de 100 mg/L de S com água destilada até 100 mL

### ***11.4.4 – Solução-padrão de 15 mg/L de S:***

Diluir 15 mL da solução-padrão de 100 mg/L de S com água destilada até 100 mL

### ***11.4.5 – Extrator duas vezes concentrado (Ex 2X), $Ca(H_2PO_4)_2$ , 1.000 mg/L de P, em HOAc 4 mol/L:***

Dissolver, em balão volumétrico de 2,0 L, 8,1465 g de  $Ca(H_2PO_4)_2 \cdot H_2O$  (99% de pureza) e diluir a solução com água até  $\pm 1,0$  L. Adicionar 459 mL de  $CH_3COOH$  (ácido acético glacial, 17,44 mol/L de densidade 1,05 kg/L e 99,7% de pureza) e completar com água destilada até o volume de 2,0 L.

### ***11.4.6 – Extrator $Ca(H_2PO_4)_2$ , 500 mg/L de P, em HOAc 2 mol/L (Ex 1X):***

Diluir 500 mL do extrator duplo concentrado (Ex 2X) com água destilada até 1,0 L.

**11.4.7 – Solução de  $\text{NH}_4\text{OH}$  2,6 mol/L:**

Diluir 97,3 mL de  $\text{NH}_4\text{OH}$  (densidade = 0,9101 kg/L, 25 % de  $\text{NH}_3$ , 13,36 mol/L) com água até 500 mL (este reagente deve ser preparado na semana em que será utilizado).

**11.4.8 – Reagente de Trabalho (RT):**

Dissolver, em balão volumétrico de 500mL, 62,5 g de  $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  em  $\pm 300$  mL de água. Dissolver, em Becker de 100 mL, 0,625 g de goma-arábica em pó em  $\pm 50$  mL de água. Passar esta solução ao balão de 500 mL, misturando as soluções. Adicionar gradativamente 88 mL de  $\text{NH}_4\text{OH}$  2,6 mol/L, completar o volume com água, homogeneizar e filtrar. Esta solução deve ser preparada na hora da sua utilização.

## 12. BORO

### 12.1 - Extração

1. Cachimbar 10 cm<sup>3</sup> de solo em saquinhos de polipropileno (15 x 30 cm).
2. Adicionar 20 mL da solução extratora de cloreto de cálcio 5 mmol/L.
3. Adicionar 0,5 cm<sup>3</sup> de carvão ativo.
4. Preparar uma prova em branco (sem solo), adicionando 20 mL da solução de cloreto de cálcio e 0,5 cm<sup>3</sup> de carvão ativo ao saquinho de polipropileno.
5. Selar os saquinhos e agitá-los levemente.
6. Fazer um pequeno furo no canto superior do saquinho.
7. Colocar os saquinhos no prato giratório do forno de microondas, com a perfuração para dentro, cada saquinho cobrindo a metade do outro, em círculos.
8. Programar o forno de microondas para 4 min na potência máxima (700 W) e 5 min na potência média máxima (490 W).
  - a. Calibrar o forno microondas a cada 6 meses.
  - b. Se o forno de microondas tiver potência maior que 700 W, deve-se avaliar qual a potência e o tempo necessários para a suspensão (solo/solução) iniciar a fervura, e então deixar ferver por 5 min em uma potência média que deve estar em torno de 490 W.
9. Esfriar a suspensão por 30 min e filtrar imediatamente usando papel de filtro de filtração lenta.

### 12.2 - Dosagem

1. Transferir uma alíquota de 4 mL da prova em branco e do extrato de solo para tubos de ensaio.
2. Adicionar 1 mL da solução-tampão e homogeneizar.
3. Juntar 1 mL da solução de azometina-H e agitar vigorosamente.
4. Deixar em repouso no escuro por 30 min.
5. Proceder às leituras, inicialmente das soluções-padrão, em absorvância no espectrofotômetro UV-VIS, utilizando o comprimento de onda de 420 nm.

12.3 - Curva de calibração do espectrofotômetro de absorção molecular para leitura de Boro em extratos de Cloreto de Cálcio a 5,0 mmol/L, na relação solo: extrator 1:2

Concentração de B <sup>(1)</sup>	Alíquota					Total
	SP <sup>(2)</sup>	H <sub>2</sub> O	Ex (2X) <sup>(3)</sup>	ST <sup>(4)</sup>	Azometina H	
mg/L	----- mL -----					
0,0	0,0	2,0	2,0	1,0	1,0	6,0
0,2	0,4	1,6	2,0	1,0	1,0	6,0
0,4	0,8	1,2	2,0	1,0	1,0	6,0
0,6	1,2	0,8	2,0	1,0	1,0	6,0
0,8	0,6	0,4	2,0	1,0	1,0	6,0
1,0	2,0	0,0	2,0	1,0	1,0	6,0

<sup>(1)</sup> Concentração da solução de leitura; <sup>(2)</sup> Solução-padrão contendo 3,0 mg/L de B; <sup>(3)</sup> Extrator com o dobro da concentração; <sup>(4)</sup> Solução-tampão.

## 12.4 - Soluções

### 12.4.1 - Solução de Cloreto de Cálcio 5 mmol/L

Em balão volumétrico de 1,0 L, dissolver 0,7351 g de CaCl<sub>2</sub> 2H<sub>2</sub>O com água destilada e completar o volume.

### 12.4.2 - Solução-tampão

Dissolver 250 g de acetato de amônio e 15 g de Na<sub>2</sub>EDTA em 400 mL de água destilada. Adicionar vagarosamente 125 mL de ácido acético glacial e agitar.

### 12.4.3 - Solução 9 g/L de azometina-H contendo 20 g/L de ácido ascórbico.

Dissolver 0,9 g de azometina-H e 2 g de ácido ascórbico em 100 mL de água destilada. Esse reagente pode ser preparado semanalmente e guardado em refrigerador.

***12.4.4 - Solução-padrão de 30,0 mg/L de B***

Pipetar 3,0 mL da solução-padrão de 1.000 mg/L de B, em balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com água destilada.

***12.4.5 - Solução-padrão de 3,0 mg/L de B***

Pipetar 10,0 mL da solução-padrão de 30,0 mg/L de B, em balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com água destilada.

### 13. CÁDMIO, CROMO, CHUMBO E NÍQUEL

#### 13.1 - Extração (ver item 2.1)

#### 13.2 – Dosagem

Pipetar  $\pm 10$  mL do sobrenadante e fazer a leitura diretamente no extrato, utilizando um espectrofotômetro de absorção atômica.

13.3 - Curva de calibração do espectrofotômetro de absorção atômica para leitura de Cd, Cr, Pb e Ni em extratos de Mehlich-1, na relação solo: extrator 1:10

Concentração <sup>(1)</sup>				- - - Alíquota - - -			
Cd	Cr	Pb	Ni	SP <sup>(2)</sup>	H <sub>2</sub> O	M1 (2x) <sup>(3)</sup>	Total
- - - - - mg/L - - - - -				- - - - - mL - - - - -			
0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	10,0	10,0	20,0
0,4	2,0	2,0	2,0	1,0	9,0	10,0	20,0
0,8	4,0	4,0	4,0	2,0	8,0	10,0	20,0
1,2	6,0	6,0	6,0	3,0	7,0	10,0	20,0
1,6	8,0	8,0	8,0	4,0	6,0	10,0	20,0
2,0	10,0	10,0	10,0	5,0	5,0	10,0	20,0

<sup>(1)</sup> Concentração da solução de leitura; <sup>(2)</sup> Solução padrão contendo 8,0 mg/L de Cd e 40,0 mg/L de Cr, Pb e Ni; <sup>(3)</sup> Extrator Mehlich-1 com o dobro da concentração.

#### 13.4 – Solução-padrão de 8,0 mg/L de Cd e 40,0 mg/L de Cr, Pb e Ni

Para 500 mL de solução-padrão, pipetar 4,0 mL da solução padrão de 1.000 mg/L de Cd e 20,0 mL das soluções-padrão de 1.000 mg/L de Cr, Pb e Ni.

## **14. CÁLCIO + MAGNÉSIO (Titulometria)**

### **14.1 - Extração (ver item 5.1)**

### **14.2 - Dosagem**

Retirar uma alíquota de 25 mL e colocá-la em erlenmeyer de 125 mL. Adicionar 4 mL do coquetel de Ca+Mg e 3 gotas do indicador negro de eriocromo. Titular imediatamente com EDTA 0,025 mol/L, até a viragem da cor vermelho arroxeadado para azul. Deve-se fazer uma prova em branco.

### **14.3 - Preparo de soluções**

#### ***14.3.1 - KCl 1,0 mol/L: (ver item 5.3.1)***

#### ***14.3.2 - EDTA 0,025 mol/L***

Após secar o sal dissódico de EDTA diidratado em estufa a 80-100 °C, pesar 9,3063 g em balão volumétrico de 2.000 mL, completando o volume.

#### ***14.3.3 - Coquetel para Ca + Mg***

Em um becker de 2.000 mL, adicionar: 600 mL de solução-tampão de pH 10,0, 300 mL de trietanolamina (TEA) e 100 mL de KCN a 10 %.

#### ***14.3.4 - Solução-tampão pH 10,0***

Em um becker de 1.000 mL, adicionar: 67,5 g de NH<sub>4</sub>Cl dissolvidos em 200 ml de H<sub>2</sub>O, 600 mL de NH<sub>4</sub>OH concentrado, 0,616 g de MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O e 0,93 g de EDTA. Completar o volume para 1.000 mL.

**14.3.5 - Indicador negro de eriocromo**

Dissolver 0,2 g de eriocromo-black-T em 50 mL de álcool metílico, contendo 0,8 g de bórax.

**14.3.6 - Álcool metílico + bórax:**

Dissolver 4,0 g de bórax em 250 mL de álcool metílico. Se necessário, levar em banho-maria em um recipiente grande, até dissolução total.

## 15. CÁLCIO

### 15.1 - Extração: (Ver item 5.1)

### 15.2 - Dosagem:

Retirar uma alíquota de 25 mL e colocá-la em erlenmeyer de 125 mL. Adicionar 4,0 mL de coquetel para Ca e uma pitada do indicador calcon. Titular com EDTA 0,025 mol/L, observando a viragem da cor rósea para azul. Fazer prova em branco.

### 15.3 - Soluções:

#### 15.3.1 - Coquetel para Ca:

Em um becker de 1.000 mL, misturar 750 mL de NaOH 40 % com 250 mL de trietanolamina a 50 %.

#### 15.3.2 - NaOH 40 %

Pesar 400 g de NaOH, colocar em balão volumétrico de 1.000 mL contendo água, dissolver e completar o volume.

#### 15.3.3 - Trietanolamina 50 %

Medir 500 mL de trietanolamina numa proveta de 1.000 mL, colocar 400 mL de água destilada, agitar para homogeneizar. Tampar com um vidro de relógio e deixar esfriar; completar o volume para 1.000 mL com água destilada e guardar em frasco âmbar.

## 16. H + AL POR $\text{pH}_{\text{SMP}}$

### 16.1 – Extração

Colocar 10 cm<sup>3</sup> de TFSA em frasco de 50 mL e adicionar 25 mL da solução de CaCl<sub>2</sub> 0,01 mol/L e 5 mL de solução SMP. Agitar por 15 min em agitador circular horizontal a 220 rpm e deixar em repouso por 1 h.

### 16.2 - Dosagem

Fazer a leitura no potenciômetro, sem agitar a amostra. Pode-se usar a equação  $\text{Ln}(\text{H}+\text{Al}) = 8,0629 - 1,110 \text{pH}_{\text{SMP}}$  para estimar o valor de H + Al.

### 16.3 – Considerações

- O eletrodo combinado deve ser imerso de forma que a sua ponta toque ligeiramente a camada sedimentada, e que a saída de referência fique coberta pela solução;
- Lavar muito bem o eletrodo entre uma leitura e outra e enxugar a ponta;
- Nos casos em que o  $\text{pH}_{\text{SMP}}$  for inferior a 4,8, repetir a determinação com 5 cm<sup>3</sup> de TFSA, 2,5 cm<sup>3</sup> ou mesmo 1 mL, até que seja obtido a leitura acima de 4,8; multiplicar o resultado de H + Al obtido por 2, 4 ou 10, conforme a quantidade de terra medida;
- O tempo máximo para se fazer a leitura de  $\text{pH}_{\text{SMP}}$ , depois que a amostra ficou em repouso é de 8 h;

### 16.4 - Soluções

#### 16.4.1 - CaCl<sub>2</sub> 0,01 mol/L

Dissolver 1,47 g de CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O em balão volumétrico de 1.000 mL com água destilada. O pH desta solução deve estar entre 5,0 e 6,5. Se não estiver, ajustar com um pouco de Ca(OH)<sub>2</sub> ou HCl.

#### ***6.4.2 - Solução Tampão SMP***

Dissolver em balão volumétrico de 1.000 mL, colocando na seguinte ordem: 106,2 g de  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , 6 g de cromato de potássio ( $\text{K}_2\text{CrO}_4$ ), 4 g de acetato de cálcio e 5 mL de trietanolamina. Separadamente, dissolver 3,6 g de paranitrofenol em cerca de 200 mL de água destilada quente, filtrando se houver impurezas. Acrescentar esta solução no balão volumétrico, completar o volume e agitar. No dia seguinte, ajustar o pH da solução SMP a 7,5 com NaOH 0,1 mol/L ou HCl 0,1 mol/L. Manter a solução em refrigerador e em frasco âmbar.

## 17. CARBONO ORGÂNICO (colorimetria)

### 17.1 - Oxidação

Medir volume de TFSA de 1,0 cm<sup>3</sup> e transferir para copo de polietileno (branco). Adicionar 10 mL de solução digestora de Na<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>·2H<sub>2</sub>O 4N + H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 10 N. Agitar em agitador horizontal durante 10 min. Após a agitação deixar em repouso durante 1 h. Após este período, acrescentar 50 mL de água destilada e deixar decantar durante a noite.

### 17.2 - Dosagem

Fazer leitura em colorímetro (filtro vermelho) 650 nm (transmitância), acertando o zero com a prova em branco. Pode-se usar como coeficiente linear (a) 43,5 e coeficiente angular (b) 9,5 de acordo com apostila da UFLA.

### 17.3 - Solução

#### 17.3.1 - Na<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>·2H<sub>2</sub>O 4N + H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 10 N (*Dicromato de sódio comercial e ácido sulfúrico*)

Dissolver 200 g de dicromato de sódio em ± 600 mL de água destilada. Adicionar lentamente 278 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado. Após o resfriamento, completar o volume para 1.000 mL.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVAREZ V.; V.H., NOVAIS, R.F.; DIAS, L.E. & OLIVEIRA, J.A. Determinação e uso do fósforo remanescente. **Boletim Informativo – SBCS**. Viçosa MG. v.25, n.1, p.27-32, 2000.

ALVAREZ V. V. H.; DIAS, L.E.; RIBEIRO JR., E.S.; SOUZA, R.B. & FONSECA, C.A. **Métodos de análises de enxofre em solos e plantas**. Viçosa: UFV, 2001. 131p.

BRAGA, J.M. & DEFELIPO, B.V. Determinação espectrofotométrica de fósforo em extratos de solos e plantas. **Rev. Ceres**, v.21, n.113, p.73-85, 1974.

COMISSÃO DE FERTILIDADE DO SOLO DO ESTADO DE MINAS GERAIS. **Recomendação para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais (5ª Aproximação)**. Viçosa, MG, 1999. 359 p.

DEFELIPO, B. V. & RIBEIRO, A. C. **Análise química do solo (metodologia)**. 2. ed. Viçosa, MG: UFV, 1997. 26p. (Boletim de extensão 29).

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA-EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. Brasília, 1999. 370p.

RAIJ, B. van; de Andrade J.C.; CANTARELLA, H. & QUAGGIO, J.A., eds. **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**. Campinas, Instituto Agrônomo, 2001. 285p.