

**UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOEXPERIMENTAÇÃO**

**REDUÇÃO DE BACTÉRIAS GRAM NEGATIVAS EM CAMAS DE AVIÁRIO
TRATADAS COM LONA NA SUPERFÍCIE E GÁS AMÔNIA**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Richard Francisco Muniz

**Passo Fundo, RS, Brasil
2020**

**REDUÇÃO DE BACTÉRIAS GRAM NEGATIVAS EM CAMAS DE AVIÁRIO TRATADAS
COM LONA NA SUPERFÍCIE E GÁS AMÔNIA**

Richard Francisco Muniz

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Bioexperimentação, Área de Concentração em Produção Animal, da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Passo Fundo (UPF), como requisito parcial para a obtenção do grau de **Mestre em Bioexperimentação**.

Orientador: Prof. Fernando Pilotto

**Passo Fundo, RS, Brasil
2020**

CIP – Catalogação na Publicação

M966r Muniz, Richard Francisco
Redução de bactérias gram negativas em camas de
aviário tratadas com lona na superfície e gás amônia
[recurso eletrônico] / Richard Francisco Muniz. – 2020.
843 KB ; PDF.

Orientador: Prof. Dr. Fernando Pilotto.

Dissertação (Mestrado em Bioexperimentação) –
Universidade de Passo Fundo, 2020.

1. Aviários – Contaminação. 2. Compostos de amônia
como desinfectantes. 3. Bactérias gram-negativas. 4. Frango
de corte. I. Pilotto, Fernando, orientador. II. Título.

CDU: 636.5

Catalogação: Bibliotecária Juliana Langaro Silveira - CRB 10/2427

**UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOEXPERIMENTAÇÃO**

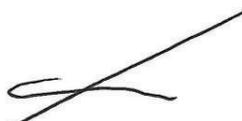
A comissão examinadora, abaixo assinada, aprova a Dissertação de Mestrado

**REDUÇÃO DE BACTÉRIAS GRAM NEGATIVAS EM CAMAS DE AVIÁRIO TRATADAS
COM LONA NA SUPERFÍCIE E GÁS AMÔNIA**

Elaborada por
Richard Francisco Muniz

Como requisito parcial para a obtenção do grau de
Mestre em Bioexperimentação

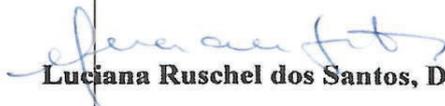
Comissão Examinadora



**Fernando Pilotto, Dr., UPF
(Orientador/Presidente)**



Laura Beatriz Rodrigues, Dra., UPF



Luciana Ruschel dos Santos, Dra., UPF



Sabrina Castilho Duarte, Dra., EMBRAPA

**Passo Fundo, RS, Brasil
2019**



PPGBioexp
Programa de Pós-Graduação
em Bioexperimentação

ATA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO

- 05/2020 -

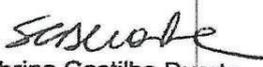
Aos dez dias do mês de agosto de dois mil e vinte, às nove horas, por meio de vídeo conferência (Portaria CAPES nº 36, de 19 de março de 2020) através do link: meet.google.com/sgu-gqkyyc, e sob a presidência do Professor Dr. Fernando Pilotto, em sessão pública, reuniram-se a Comissão Examinadora da defesa de dissertação de Mestrado do discente **Richard Francisco Muniz**, do Programa de Pós-Graduação em Bioexperimentação. O conselho do programa homologou como membros titulares da banca examinadora os seguintes professores: Fernando Pilotto, Presidente da Banca e orientador, Profa. Dra. Laura Beatriz Rodrigues e Profa. Dra. Luciana Ruschel dos Santos, ambas docentes do PPGBioexp da Universidade de Passo Fundo e, como membro externo, Profa. Dra. Sabrina Castilho Duarte, Pesquisadora Sanidade Avícola da Embrapa Suínos e Aves. Iniciados os trabalhos, o presidente da mesa saudou os presentes e passou a todos as normas que regem a defesa de dissertação. A seguir, o candidato iniciou a apresentação e defesa de sua dissertação intitulada "**Redução de bactérias Gram negativas em camas de aviário tratadas com lona na superfície e gás amônia**". Após a exposição da dissertação, os membros da banca questionaram o mestrando sobre o trabalho desenvolvido e ouviram sua defesa e argumentações. Ao final, a Banca Examinadora considerou o candidato **APROVADO**, fazendo jus ao título de "Mestre em Bioexperimentação". Para estar em dia com as obrigações perante o curso, é necessário que o candidato entregue ao PPGBioexp, no prazo de quarenta e cinco dias a partir desta data, as cópias da versão definitiva da dissertação, com as alterações sugeridas pelos membros da Comissão Examinadora. Nada mais havendo a tratar, lavrou-se a presente ata, assinada pelo Mestre **Richard Francisco Muniz**, e pelos membros da comissão examinadora. Essa ata será encaminhada para a Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Bioexperimentação, e para o Diretor da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, para que tomem ciência da Defesa.

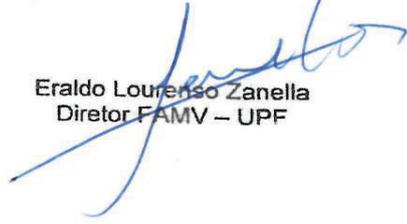

Fernando Pilotto
Orientador e Presidente da Comissão Examinadora

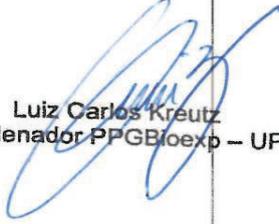

Richard Francisco Muniz
Mestre em Bioexperimentação – UPF


Laura Beatriz Rodrigues
Comissão Examinadora – UPF


Luciana Ruschel dos Santos
Comissão Examinadora – UPF


Sabrina Castilho Duarte
Comissão Examinadora – EMBRAPA


Eraldo Lourenso Zanella
Diretor FAMV – UPF


Luiz Carlos Kreutz
Coordenador PPGBioexp – UPF

**UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE MESTRADO EM BIOEXPERIMENTAÇÃO**

A comissão examinadora, abaixo assinada, aprova a Dissertação de Mestrado

**REDUÇÃO DE BACTÉRIAS GRAM NEGATIVAS EM CAMAS DE AVIÁRIO
TRATADAS COM LONA NA SUPERFÍCIE E GÁS AMÔNIA**

Elaborada por
Richard Francisco Muniz

Como requisito parcial para a obtenção do grau de
Mestre em Bioexperimentação

Comissão Examinadora

**Fernando Pilotto, Dr. UPF
(Orientador/Presidente)**

Laura Beatriz Rodrigues, Dr. UPF

Sabrina Castilho Duarte, Dra. Embrapa

**Passo Fundo, RS, Brasil
2020**

AGRADECIMENTOS

Agradecer a Deus que me iluminou e guiou para buscar o desenvolvimento pessoal e profissional.

Agradecer a minha esposa e minhas duas filhas que aceitaram a minha ausência por várias vezes e sempre me apoiaram e me deram amor e energia para vencer este desafio.

Agradecer aos meus pais, que sempre estão ao meu lado, me incentivam e dão muito amor e carinho.

Agradecer ao meu amigo e orientador Fernando Pilotto, pessoa de grande coração, que me incentivou a fazer o mestrado, mesmo nas horas mais difíceis, e me deu todo o suporte necessário para termos sucesso no projeto.

Agradecer a Profa. Laura, técnicos e bolsistas do laboratório de microbiologia que tão gentilmente me auxiliaram para a realização das análises das amostras de cama.

Agradecer a empresa JBS por me permitir participar do curso de mestrado e também autorizar o uso das granjas para a realização do projeto de pesquisa.

Agradecer a Willian e Raquel da empresa WR Indústria por todo suporte e parceria para podermos realizar o projeto de pesquisa.

Agradecer aos excelentes professores do curso de mestrado que dividiram seus conhecimentos e proporcionaram momentos de desenvolvimento e descontração.

Agradecer a todos que, de alguma maneira, me auxiliaram nesta conquista.

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a minha esposa Roselene e minhas filhas Natália e Laura, que sempre estão ao meu lado, acreditando, cuidando, impulsionando, amando, divertindo e fazendo todos os meus dias, os melhores da minha vida. São meu porto-seguro.

Amo muito vocês! Sem vocês ao meu lado, esta conquista não seria possível!

EPIGRAFE

“Não deixe que lhe façam pensar que você não é capaz de fazer algo porque essa pessoa não consegue fazer. Se você deseja alguma coisa, se quer realmente, lute por isso e ponto final.”

Will Smith

ÍNDICE

LISTA DE FIGURAS	xi
LISTA DE TABELAS	xii
LISTA DE ABREVIATURAS	xiii
RESUMO	144
ABSTRACT	155
1. INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA	166
2. CAPÍTULO 1: Uso do gás amônia no controle de bactérias gram negativas em camas de aviário ...	22
Resumo	233
Introdução	244
Materiais e métodos	266
Resultados e discussão	288
Referências	38
3. CONCLUSÕES	40
REFERÊNCIAS	41

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Equipamento para aplicação da amônia na cama.	32
Figura 2. Instalação das mangueiras de injeção de gás amônia.	33
Figura 3. Equipamento realizando a injeção do gás amônia embaixo da lona de superfície.	34
Figura 4. Placas de Petri com meios ágar MacConkey (Acumedia, EUA) para contagem de enterobactérias totais.	35
Figura 5 - Placas de Petri com meios ágar MacConkey (Acumedia, EUA) para contagem de enterobactérias totais.	36

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Contagem de bactérias Gram negativas (log ₁₀ ufc/g) em camas de aviário tratadas com lona na superfície e lona na superfície com injeção de gás amônia por um período de 24 e 48 horas.....	28
Tabela 2. Contagem de bactérias Gram negativas (log ₁₀ ufc/g) de camas procedentes de diferentes granjas de frangos de corte nos períodos de 0, 24 e 48 horas após a injeção de amônia.....	29

LISTA DE ABREVIATURAS

ABPA	Associação Brasileira de Proteína Animal
aw	Atividade de água
h	Horas
NH ₃	Amônia
NH ₄	Amônio
pH	Potencial hidrogeniônico
UPF	Universidade de Passo Fundo
°C	Graus Celsius
NDV	Doença de New Castle
IBDV	Doença Infecciosa da Bolsa
UFC	Unidade Formadora de Colônia
NH ₄ Cl	Cloreto de Amônio
(NH ₄) ₂ SO ₄	Sulfato de Amônio
m ²	Metro quadrado
m ³	Metro cúbico
kg	Quilogramas
cm	Centímetros
g	Gramas
NMP	Número Mais Provável

RESUMO

**Dissertação de Mestrado
Programa de Pós-Graduação em Bioexperimentação
Universidade de Passo Fundo**

REDUÇÃO DE BACTÉRIAS GRAM NEGATIVAS EM CAMAS DE AVIÁRIO TRATADAS COM LONA NA SUPERFÍCIE E GÁS AMÔNIA

Autor: Richard Francisco Muniz

Orientador: Fernando Pilotto

Passo Fundo, 30 de Julho de 2020

A reutilização da cama de aviário é uma prática comum na produção de frangos de corte no Brasil. Essa prática reduz significativamente o custo de produção e contribui na preservação do meio ambiente. Contudo, esse manejo na cama pode veicular de um lote para outro microrganismos, como as *Salmonellas*, que são prejudiciais à saúde das aves e dos humanos. Os métodos atuais de desinfecção de cama (adição de cal, lona na superfície e enleiramento) não garantem a eliminação dos microrganismos patogênicos. O método lona na superfície tem demonstrado, perante os outros métodos, maior eficácia na redução de microrganismos patogênicos porque gera aumento do gás amônia na cama quando coberta por uma lona num período acima de 10 dias. Entretanto, a baixa quantidade de gás amônia produzido pela fermentação bacteriana não garante a desinfecção da cama. O objetivo deste trabalho foi comparar os métodos lona na superfície (T1) e lona na superfície com injeção de 0,22% de gás amônia (T2), utilizando o aplicador Aveclean®, e verificar a eficácia do sistema Aveclean® em condições de campo, avaliando a redução de bactérias Gram negativas em camas de aviário reaproveitadas. O tratamento T2 e o experimento feito a campo reduziram significativamente as bactérias Gram negativas na cama aviária, enquanto o tratamento T1 não foi eficaz no período avaliado de 48 horas. Desta forma, o aprimoramento do método lona na superfície com a injeção de 0,22% de gás amônia, utilizando o sistema Aveclean® mostrou-se eficiente no controle de microrganismos Gram negativos em camas de aviário.

Palavras-chave: bactérias Gram negativas, amônia gás, desinfecção de camas de aviário, frangos de corte.

ABSTRACT

**Master's Dissertation
Programa de Pós-Graduação em Bioexperimentação
Universidade de Passo Fundo**

**DISINFECTION OF RE-USED POULTRY LITTER, USING SHALLOW
FERMENTATION AND AMMONIA GAS**

Author: Richard Francisco Muniz

Advisor: Fernando Pilotto

Passo Fundo, 30 de Julho de 2020

The reuse of poultry litter is a common practice in the production of broilers in Brazil. This practice significantly reduces the cost of production and contributes to the preservation of the environment. However, this handling in the litter can transmit from one batch to another microorganisms, such as Salmonellas, which are harmful to the health of birds and humans. Current methods of disinfecting bedding (adding lime, shallow fermentation and windrowing) do not guarantee the elimination of pathogenic microorganisms. The tarpaulin on the surface method has shown, compared to other methods, greater effectiveness in reducing pathogenic microorganisms because it generates an increase in the ammonia gas in the bed when covered by a tarpaulin over a period of 08 days. However, the low amount of ammonia gas produced by bacterial fermentation does not guarantee the disinfection of the bed. The objective of this work was to compare the shallow fermentation (T1) and shallow fermentation with injection of 0.22% ammonia gas (T2), using the Aveclean® applicator, and to verify the effectiveness of the Aveclean® system in field conditions, evaluating the reduction of Gram negative bacteria in reused aviary beds. The T2 treatment and the field experiment significantly reduced Gram negative bacteria in the avian litter, while the T1 treatment was not effective in the evaluated period of 48 hours. In this way, the improvement of the shallow fermentation with the injection of 0.22% of ammonia gas, using the Aveclean® system proved to be efficient in the control of Gram negative microorganisms in poultry beds.

Key words: Gram negative bacteria, ammonia, poultry litter disinfection, broiler.

1. INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA

O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de frangos de corte e o maior exportador mundial de carne de aves, exportando para mais de 150 países (ABPA, 2020), graças, a excelência em ambiência, manejo e genética nas granjas que auxiliaram a avicultura e o país a atingirem estes patamares. A competitividade dessa cadeia é expressa por ótimos ganhos de produtividade nos últimos anos, o que proporcionou diminuição progressiva dos custos de produção, refletindo em bons preços da carne de frango se comparada ao preço de outras carnes (COSTA et al., 2015).

Entre produtores, funcionários de empresas e profissionais vinculados direta e indiretamente ao setor, a avicultura reúne mais de 3,5 milhões de trabalhadores. Cerca de 350 mil deles trabalham diretamente nas plantas frigoríficas. No campo, são mais de 130 mil famílias proprietárias de pequenos aviários, que produzem em um sistema totalmente integrado com as agroindústrias exportadoras (ABPA, 2018).

A criação de frangos de corte consiste normalmente no alojamento das aves sobre o chão coberto por um material. A combinação desse material com as excretas depositadas, penas, ração e água ao longo do seu ciclo produtivo é denominado de cama (MILES et al., 2011). Sua utilização possibilita maior conforto e bem estar as aves.

O descarte desse material indiscriminadamente no ambiente, sem que o mesmo tenha passado por algum tipo de tratamento prévio, pode implicar em problemas sérios de contaminação química e microbiológica dos recursos hídricos e edáficos, colocando em risco a qualidade de vida da população ao redor das unidades produtoras (ORRICO et al., 2015). Uma alternativa que visa reduzir essa problemática é a reutilização da cama de frango por vários lotes, no entanto é necessário que o material reutilizado apresente segurança sanitária, para que não comprometa o desempenho dos próximos lotes criados sobre este substrato (ANDRADE, 2017).

A cama de aviário tem como principais funções absorver a umidade, diluir as excretas, minimizar o contato das aves com os excrementos, fornecer isolamento térmico com a temperatura do piso e proteção física do corpo das aves com o chão dos aviários (COBB, 2012).

Para que a cama seja reutilizada de forma segura, deve passar por algum tratamento que realize a inativação ou diminuição de microrganismos indesejáveis para evitar a transferência desses patógenos de um lote para outro (SILVA, 2011). Também, os mercados consumidores internacionais

demandam comprovação da eficiência dos métodos de tratamento para o reuso da cama entre lotes (RECH, 2017) e os processos de certificação para exportações a Comunidade Europeia exigem que os riscos microbiológicos da reutilização da cama sejam avaliados rotineiramente (GLOBALG.A.P., 2016).

A qualidade da cama utilizada na granja influencia diretamente a sanidade do lote no aviário e a qualidade da carcaça obtida no abatedouro (BRITO et al., 2016; CAMPOS et al., 2018; DUNLOP et al., 2016). A quantidade e tipos de microrganismos presentes nesse material são influenciados pelo número de reusos, manejo do material após a saída do lote, como a fermentação, densidade de aves no galpão e período de vazio sanitário (GARCIA et al., 2013; SANTOS et al., 2012).

Para que a cama seja reutilizada de forma segura é importante que esse material seja submetido a algum tipo de tratamento que vise reduzir principalmente a contaminação dos animais de um lote para outro através da cama (ANDRADE, 2017). É necessário que o material reutilizado apresente segurança sanitária afim de evitar qualquer problema sanitário que possa comprometer o desempenho dos próximos lotes (VIEIRA et al., 2015).

Na diversa microbiota da cama pode-se encontrar vários grupos bacterianos, entre os quais destacam-se as bactérias que não representam risco direto à saúde humana e animal, mas que influenciam as condições ambientais da cama, consistindo no grupo mais expressivo numericamente, os patógenos primários e secundários de aves e/ou os comensais para as aves, porém potenciais patógenos para humanos. Os organismos não patogênicos participam de complexos processos de reciclagem dos nutrientes excretados na cama pelas aves, tais como os que atuam na decomposição do ácido úrico, resultando em amônia e os proteolíticos que produzem enzimas (proteases), que decompõe proteínas da excreta, sendo está uma ação desejável para a manutenção da qualidade da cama (SILVA et al., 2007).

Ao finalizar o lote, a cama dispõe microrganismos da excreta das aves, junto àqueles do próprio substrato ou causados pelo ar, pessoas, vetores e equipamentos (LU et al., 2003). A microbiota da cama depende da quantidade de aves alojadas, podendo ter alterações, conforme a idade e dieta dos frangos e, também, do material fecal da cama, secreções e descamações dos frangos pelo tempo de criação (WADUD et al., 2012). Pode comportar também bactérias e fungos, que se encontram no ambiente, associados a roedores, artrópodes e insetos que podem disseminar doenças (MENDES et al., 2004).

Muitos fatores predisõem a disseminação dos microrganismos na cama aviária, com destaque para o pH, que deve medir entre 6 e 9, atividade de água (AW), com índices de 0,90, e a temperatura (20 °C a 32 °C) (SILVA et al., 2011). Todavia, tais pontuações podem concorrer para que disseminem os microrganismos, oportunistas intoleráveis, em situações cuja cama é reutilizada para além de uma criada de aves.

As enterobactérias possuem grande relevância para avicultura porque podem representar grande ameaça à saúde, já que se desenvolvem em uma diversidade de ambientes, em animais e até mesmo no homem (ANDRADE, 2017). Os dois gêneros mais relevantes para a avicultura e que causam grandes perdas econômicas são o gênero *Salmonella* e o gênero *Escherichia*.

A *Salmonella* spp. encontra-se entre as bactérias mais indesejáveis que podem estar presentes na cama aviária e que apresenta risco alimentar na população. *Salmonella* spp. continuam sendo os agentes bacterianos de maior preocupação para a avicultura e causam uma das doenças transmitidas por alimentos mais prevalentes em todo o mundo (CDC, 2015; EFSA, 2015). Os microrganismos viáveis que permanecem na cama reciclada também interferem na saúde dos frangos de corte e podem ter um efeito negativo sobre sua produtividade. A sobrevivência da *Salmonella* na cama depende de fatores como temperatura, umidade, concentração de amônia e pH (CORRIER et al., 1999; TRAMPEL et al., 2000).

A *Escherichia coli* é um importante agente infeccioso de amplo espectro em infecções invasivas no homem e nos animais além de ser um dos integrantes da microbiota intestinal de mamíferos e aves (RON, 2006). Estão presentes em 10^6 UFC/g de fezes, sendo que 10 a 20% são potencialmente patogênicas (FERREIRA e KNOBEL, 2009). Esse microrganismo é conhecido mundialmente e considerado causador de uma das principais doenças da indústria avícola moderna (colibacilose) e que causa prejuízos de aproximadamente 40 milhões de dólares anuais (LOVATO et al., 2018). Segundo Guastatelli e Soares (2011) a *Escherichia coli* é uma das principais causadoras de infecções, podendo atuar como agente primário ou secundário, acarretando em perdas econômicas, principalmente em decorrência do aspecto da carcaça ao abate onde se observam lesões em órgãos, como sacos aéreos, fígado (peri-hepatite) e coração (pericardite). As cepas permanecem no ambiente por longos períodos, contaminando a cama, a água, o ar e as rações que servirão como via de disseminação. (FERREIRA e KNOBL, 2009). Kaper (2005), cita nove grupos (patotipos) de *Escherichia coli* virulentos com base nas características de patogenicidade, no efeito em certas culturas de células e nos grupos sorológicos, sendo que 2 patotipos se destacam para aves APEC e

EHEC (RODRIGUES-SIEK et al., 2005a; LEE et al., 2009). A morbidade ocasionada por este agente pode variar de 1 a 75% (LOVATO et al., 2018). A colibacilose também é considerada a principal causa infecciosa de condenação total de carcaça em frigoríficos de frangos de corte no sul do Brasil (GIOTTO et al. 2008, SESTERHENN et al. 2011).

Dentre o grupo de bactérias que se encontram presentes na cama, as mesófilas aeróbias possuem grande expressividade e agrupam uma grande quantidade das bactérias patogênicas de origem alimentar, que colocam em risco a saúde do consumidor (ANDRADE, 2017). A reutilização da cama aviária, quando realizada adequadamente, reduz a ocorrência de problemas sanitários por aumentar a multiplicação de bactérias ácido-láticas produtoras de bacteriocinas (FIORENTIN, 2006), estimulam o sistema imunológico (OVIEDO-RONDON, 2009) e solucionam parcialmente a problemática do alto custo do insumo. Porém, quando não reutilizadas corretamente, as camas dos aviários podem ser importantes veículos de propagação de doenças e de perdas econômicas. A reutilização é feita, em média, por um ano. Para evitar problemas sanitários, a indústria avícola utiliza diversos métodos de tratamento das camas. A reutilização da cama mantém a microbiota oriunda dos lotes anteriores e também a que é carregada por outras vias, como pessoas, ar e equipamentos (LU et al., 2003). Diversos gêneros de bactérias, tais como *Staphylococcus*, *Lactobacillus*, *Brevibacterium* e *Bacillus* podem ser isolados das camas. (LU et al., 2003; WADUD et al., 2012). A cama de frango também é uma fonte potencial de vírus aviários, especialmente aqueles que são eliminados nas fezes, como o vírus da doença de Newcastle (NDV) e o Vírus da Doença Infecciosa da Bolsa (IBDV) (MÜLLER et al., 2003). Diante disso, é importante a adoção de um tratamento de cama eficiente para a redução dos riscos microbiológicos, na qual a prática da reutilização de cama apresenta-se como uma medida segura e recomendável (SILVA et al., 2007).

No Brasil, a fermentação em leira, a aplicação de cal e a fermentação com colocação de lona na superfície são os métodos mais comumente utilizados (SILVA et al., 2007; LOPES et al., 2015). A fermentação superficial é um método desenvolvido por produtores brasileiros de frangos, em que a cama é umedecida e totalmente coberta com uma lona impermeável (sem enleiramento) para evitar trocas gasosas com o meio ambiente (VAZ et al., 2017). Silva et. al (2007) comparando os métodos de fermentação da cama em leira, aplicação de cal na cama, lona de superfície e um tratamento sem intervenção, observaram que a partir do terceiro lote, as camas apresentam carga bacteriana igual ou inferior às camas novas. Esse estudo demonstrou que a reutilização de cama de aviário pode ser segura e recomendável, desde que tratada adequadamente para reduzir os riscos sanitários.

O método fermentativo lona na superfície têm apresentado maior eficácia na redução bacteriana e no controle do *Alphitobius diaperinus*. Segundo Gehring (2020), o tratamento da cama aviária com lona de superfície e adição de água e cal na cama durante a fermentação, foi capaz de eliminar 100% dos insetos, pois, a concentração de amônia aumentou significativamente na cama com a colocação da lona. Silva et. al. (2007), comparando os métodos enleiramento, adição de cal e lona na superfície verificaram que o tratamento da cama reduz substancialmente sua carga bacteriana, ressaltando que o tratamento de maior eficiência na redução de enterobactérias, inclusive *Salmonella*, foi obtida pelo método lona na superfície. O método lona na superfície é realizado através da colocação de uma lona plástica em toda a superfície da cama do aviário, até 24 horas após a depopulação das aves. Nesse método, é importante que a lona seja bem colocada, de forma a evitar a entrada de ar e a fuga da amônia. Para tal, recomenda-se que as laterais e extremidades da lona sejam colocadas abaixo da camada de cama, rente ao piso do aviário (SILVA et al., 2011; GEHRING, 2020).

A produção animal está associada a um alto potencial de produção de gases, sendo que na avicultura de corte ocorre produção principalmente do gás amônia (YETILMEZSOY & SAKAR, 2008). A amônia é uma substância gasosa, que não possui cor, e que proporciona irritabilidade às mucosas, sendo formada pela decomposição microbiana do ácido úrico, que é constituinte das excretas das aves (GONZÁLES & SALDANHA, 2001).

Quando as aves consomem proteínas, elas produzem ácido úrico, que acaba sendo convertido em NH_3 em condições favoráveis. Os fatores que aumentam a produção incluem pH, temperatura, teor de umidade, tipo de cama, idade das aves, quantidade de reutilizações da cama, umidade relativa e taxa de ventilação do aviário. O NH_3 afeta negativamente o ecossistema, o meio ambiente e a saúde das aves e pessoas. Menos de 10 ppm é o limite ideal de exposição, mas até 25 ppm não é prejudicial (NASEEM, 2018).

A amônia volátil é obtida por meio da conversão do ácido úrico, presente na cama de frango, após ser exposto a umidade, ar e degradação microbiana, o que aumenta o pH na cama de frango, próximo a 8,5. Já em condições de pH abaixo de 7,0 a amônia (NH_3) é transformada em amônio (NH_4^+) (ROCHA, 2017). Segundo França et al. (2014) a máxima emissão e geração de NH_3 ocorrem quando o pH dos dejetos está em torno de 9,0 ou superior, o teor de umidade na faixa entre 40 a 60% e a umidade relativa do ar igual ou superior a 70%.

A concentração de amônia tende a aumentar com o aumento do pH da cama de frango devido a degradação do ácido úrico pelas bactérias ser prejudicada em meio ácido ($\text{pH} < 7,0$). Abaixo deste

valor a uricase (enzima responsável pela quebra do ácido úrico) tem sua atividade reduzida. A uricase tem sua atividade máxima em pH igual a 9,0 (LIU et al., 2009).

O mecanismo de ação da amônia intracelular ainda não é claramente compreendido. Em células animais, o composto, por sua carga neutra e seu baixo peso molecular (17g/mol), poderia atingir e atravessar a membrana celular bacteriana (HIMATHONGKHAM e RIEMANN, 2006). No interior, acredita-se que a amônia atue aumentando o pH celular, possivelmente como resultado de seu influxo direto e por deslocar a concentração de potássio celular para fora da célula, o que desestabiliza a homeostase (LUTHER, 2015).

A aplicação de amônio (NH_4^+), em camas de aviário contaminadas com *Salmonella* Heidelberg, não resultou em eliminação do patógeno em uma concentração máxima de 2828 ppm (RECH, 2017). Contudo, Warren (1962), verificou que o íon amônio não consegue atravessar a parede celular bacteriana, já a amônia consegue facilmente devido seu baixo peso molecular.

A ação da amônia, portanto, pode significar uma alternativa de tratamento eficiente para camas de aviário. A utilização no período de vazio sanitário, que compreende o espaço de tempo necessário para se realizar a limpeza e a desinfecção das camas entre lotes, pode auxiliar na redução desse tempo, promovendo a redução de microrganismos patogênicos, a diminuição de custos para os avicultores, o maior desempenho zootécnico gerando melhoria na remuneração do avicultor.

O objetivo deste trabalho foi aprimorar o método lona na superfície, com a injeção controlada de gás amônia por um período de 48 horas, e avaliar a eficiência do novo método através da redução de bactérias Gram negativas.

2. CAPÍTULO 1

Uso do gás amônia no controle de bactérias Gram negativas em camas de aviário tratadas com lona na superfície e gás amônia

Richard Francisco Muniz^a, Willian R. de Oliveira^b, Rhaquel S. Pereira^b, Luciana R. Santos^a, Laura B. Rodrigues^a, Elci L. Dickel^a, Luciane Daroit[‡], Fernando Pilotto^{*a}

^a Programa de Pós Graduação em Bioexperimentação, Universidade de Passo Fundo, Brasil.

^b WR industry

[‡] Universidade de Passo Fundo, Brasil.

* Autor correspondente: fernandopilotto@upf.br / BR 285, São José, Passo Fundo, RS, Brasil. CEP: 99052-900. Fone: (+55 54) 3316-8485.

RESUMO

O reaproveitamento de camas aviárias na criação de frangos de corte é uma prática utilizada no Brasil. Essa prática reduz custos de produção e contribui na conservação do meio ambiente. As técnicas atuais utilizadas na desinfecção de camas aviárias reaproveitadas, adição de cal, enleiramento e lona na superfície, não apresentam eficácia a nível de eliminação de microrganismos patogênicos. O gás amônia em concentrações elevadas tem efeito biocida. Bactérias Gram negativas, como a *Salmonella* e a *Escherichia coli*, podem ser transmitidas de um lote para outro através do reaproveitamento da cama, ocasionando prejuízos para a saúde das aves e dos humanos que consomem alimentos contaminados por estes agentes. Este trabalho avaliou a eficácia do método lona na superfície com injeção de gás amônia no controle de microrganismos Gram negativos. Os resultados obtidos demonstraram que esse método controlou os microrganismos Gram negativos num período de 48 horas em camas de frangos de corte reaproveitadas. Assim, essa nova metodologia de desinfecção de camas de aviário irá permitir sua reutilização de forma prática e segura, melhorando a saúde das aves e dos consumidores dos produtos avícolas.

Keywords: bactérias, cama aviária e frangos de corte.

INTRODUÇÃO

O reaproveitamento de camas aviárias no Brasil é uma técnica utilizada na criação de frangos de corte que visa reduzir custos na produção e pode contribuir indiretamente para a preservação do meio ambiente. Contudo, os métodos utilizados para a desinfecção das camas de aviário podem não garantir a eliminação de patógenos que são prejudiciais para a saúde das aves e das pessoas (SANTOS et al. 2012; LOPES et al. 2015; VAZ et al. 2017).

Entre os métodos de tratamento de camas de aviário reaproveitadas, a aplicação de lona na superfície tem demonstrado bons resultados na redução de microrganismos Gram negativos (SILVA, 2007). O método consiste, na disposição de uma lona plástica de 180 micras sobre a cama aviária em toda a sua extensão e envelopando as extremidades na própria cama a fim de evitar a dissipação dos gases produzidos pela fermentação microbiana. Esse procedimento é realizado após depopulação do aviário.

A avaliação dos principais parâmetros físico-químicos em camas de aviário submetidas ao tratamento com lona na superfície demonstra que a produção de amônia, por processos fermentativos microbianos, é a principal alteração ocasionada por esse método (GEHRING, 2020).

A amônia na cama aviária é produzida a partir da degradação do ácido úrico pelos microrganismos presente nas excretas. Sua produção depende principalmente da ação da enzima uricase que tem sua ação influenciada pelo pH, temperatura, presença de oxigênio e água na cama (KIM, 2003). Na cama aviária a amônia é convertida em amônio, o qual não tem nenhum efeito desinfetante, à medida que seu pH for reduzindo de 8. Sua ação biocida ainda não está bem esclarecida, mas acredita-se, que devido seu baixo peso molecular, tem facilidade em passar pelas membranas celulares, elevando o pH citoplasmático e por consequência gerando a morte das bactérias (KIM, 2003; SANTANA, 2016).

As bactérias Gram negativas presentes nas camas aviárias, como a *Salmonella* e *Escherichia coli*, podem ocasionar perdas nos resultados zootécnicos das aves e riscos à saúde do consumidor. As principais perdas zootécnicas nas aves decorrem do aumento da mortalidade, pior conversão alimentar e aumento das condenações das carcaças no frigorífico (GUASTATELLI e SOARES, 2011; MUNIZ, 2014). Já, em relação a saúde das pessoas, podem gerar intoxicações alimentares, principalmente pela *Salmonella*, e contribuem para o aumento da resistência bacteriana porque ocasionam doenças nas aves o que demanda maior uso de drogas para realizar o tratamento delas (MENDONÇA, 2016).

O objetivo deste trabalho foi aprimorar o método lona na superfície, com a injeção controlada de gás amônia por um período de 48 horas, e avaliar a eficácia do novo método através da redução de bactérias Gram negativas em camas de aviário.

MATERIAIS E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido em duas etapas (experimento 1 e experimento 2) em granjas de frangos de corte localizadas na região norte do estado do Rio Grande do Sul. No experimento 1 foi comparado o método lona na superfície e lona na superfície com injeção de gás amônia através da contagem de bactérias Gram negativas na cama de aviário por um período de 48 horas e no experimento 2, também avaliando a redução de bactérias Gram negativas, foi testado o método lona na superfície com injeção de gás amônia em 05 granjas de frangos de corte. As análises microbiológicas para a pesquisa de bactérias Gram negativas foram realizadas no laboratório de microbiologia da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da UPF.

No experimento 1, após a retirada das aves do galpão, foram lavados os equipamentos do aviário e, em seguida, delimitados 30 quadrados na cama de 1m² cada. Os tratamentos testados foram: Tratamento 1 (T1): lona na superfície sem aplicação de amônia; Tratamento T2: lona na superfície com injeção de amônia. Os tratamentos foram repetidos 5 vezes e a contagem dos microrganismos foi realizada nos períodos 0, 24 e 48 horas. A cama de frangos de corte utilizada no experimento era composta por maravalha e tinha sido reutilizada por seis lotes consecutivos. Em ambos os tratamentos foram abertos sulcos na periferia dos quadrados delimitados e coletado uma amostra de cama de cada unidade experimental (amostra tempo 0). Após, no T1 a lona foi colocada sobre a cama e enterrado suas laterais com a própria cama dentro do sulco aberto para fazer a vedação e no T2 foi colocado sobre a cama uma mangueira perfurada para injetar a amônia e depois sobre ela foi realizado o mesmo procedimento do T1. No T2, para fazer a injeção do gás amônia foi desenvolvido um aplicador que de forma controlada injetava, a cada hora, 10 minutos de gás amônia (Aveclean®) (FIGURA1). Após o acionamento da válvula de abertura, o gás era injetado por mangueiras embaixo da lona de cada unidade experimental do T2. A quantidade de gás injetada durante as 48 horas foi de aproximadamente 0,22% do peso da cama. Foi considerado no cálculo para a dosagem do gás amônia 20 cm a altura da cama e 600 kg/m³. Então foi injetado aproximadamente 130 g de gás amônia em cada unidade experimentais durante o período de 24 horas e 260g de gás amônia nas unidades experimentais injetadas por 48 horas. As amostras de cama, para avaliação de bactérias Gram negativas, foram coletadas em três pontos dentro de cada unidade experimental. Elas foram misturadas em uma única amostra em embalagens esterilizadas e posteriormente enviadas ao laboratório para serem analisadas. A contagem de bactérias Gram negativas ocorreu pela técnica NMP (número mais provável).

No experimento 2, após a saída das aves, em 05 granjas de frangos de corte com tamanho de 150 metros de comprimento por 16 metros de largura foi avaliado o método lona na superfície com injeção de gás amônia na redução de bactérias Gram negativas. Nestas granjas foi colocado ao longo do aviário sobre a cama, a cada 04 metros de distância (FIGURA 2), uma mangueira perfurada a cada 1metro. Em seguida, foi assentado uma lona plástica de 180 micras sobre a cama e mangueiras e envelopado as laterais da lona na própria cama para evitar o escapamento do gás amônia. As mangueiras foram acopladas no aplicador de amônia Aveclean® (FIGURA 3), o qual de forma programada fazia a aplicação do gás amônia durante 10 minutos por hora durante um período de 48 horas. Para o cálculo de volume de gás amônia por granja foi considerado uma espessura de cama de 10 cm e 600 kg/m³. O volume de gás amônia aplicado foi de 320 kg por aviário o que equivale a 0,22 %, considerando a concentração da amônia em 99,5%. Foram coletadas 03 amostras por aviário (início, meio e fim), sendo que cada amostra foi composta por 10 sub amostras coletadas nas respectivas regiões avaliadas. As amostras foram coletadas antes da aplicação do gás amônia (tempo 0), 24 e 48 horas após início do tratamento. Elas foram colocadas em sacos estéreis e encaminhadas para o laboratório.

Para quantificação das bactérias, subamostras de 10 g de cama foram homogeneizadas em solução salina tamponada com fosfato (PBS) pH 7,4, num agitador orbital (150 rpm / 10 min) e submetido a diluições de dez vezes até 10⁻⁵. Aliquotas de 0,1 mL de cada diluição foram plaqueadas no ágar MacConkey (Acumedia, EUA) para contagem de enterobactérias totais. As placas foram incubadas a 37 ° C por 48 h. O equipamento para a injeção do gás amônia foi desenvolvido pelos engenheiros da Empresa WR Indústria o qual está de acordo com as normas técnicas de segurança preconizadas pelo Ministério do Trabalho.

A instalação do equipamento, compra da amônia em botijões, transporte e aplicação nas granjas foi realizado pela mesma empresa que tem autorização do Ministério do Trabalho para realizar estas atividades.

A análise estatística dos dados foi realizada através da análise da variância e posteriormente as médias comparadas pelo teste de Dunn (post-hoc de Kruskal-Wallis).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados encontrados no experimento 1 (Tabela 1) demonstram que o método lona na superfície com injeção de gás amônia a 0,22%, promove redução significativa de ($p > 0,05$) microrganismo Gram negativos no período de 48 horas. Entretanto no mesmo período não foi observado redução de microrganismos Gram negativos no método lona na superfície, pelo contrário, houve um aumento significativo na contagem de bactérias Gram negativa ($p > 0,05$). Observa-se, também, que não existiu diferença significativa na contagem de bactérias Gram negativas entre o período de aplicação de 24 e 48 horas no T2, contudo houve uma redução bacteriana de 100% no período de 48 horas, enquanto no, de 24 horas a redução foi de aproximadamente 60%.

Tabela 1 - Contagem de bactérias Gram negativas (\log_{10} ufc/g) em camas de aviário tratadas com lona na superfície e lona na superfície com injeção de gás amônia por um período de 24 e 48 horas.

Tempo	Lona na Superfície sem injeção de amônia(T1) ($\bar{x} \pm s$)	Lona na superfície com injeção de amônia (T2) ($\bar{x} \pm s$)	P valor
0 horas	3,62 \pm 0,33 aA	4,20 \pm 0,43 aB	0,047
24 horas	4,83 \pm 1,23 abA	1,69 \pm 1,92 abB	0,047
48 horas	5,44 \pm 0,89 bA	0,00 \pm 0,00 bB	0,005
P valor	0,016	0,009	-----

As médias seguidas das mesmas letras minúsculas nas colunas e pelas mesmas letras maiúsculas nas linhas não diferem entre si ($p > 0,05$) pelo teste de Dunn (post-hoc de Kruskal-Wallis).

O experimento 2 comprovou em situação de campo os resultados encontrados no experimento 1. Foi observado que o método lona na superfície com injeção de gás amônia na concentração de 0,22% reduziu significativamente ($p > 0,05$) nas cinco granjas testadas as bactérias Gram negativas (Tabela 2). Observa-se também que a redução na contaminação da cama foi maior nas 48 horas em relação as 24 horas após a aplicação, embora não tenha sido encontrado diferença estatística em 04 granjas das 05 testadas.

Tabela 2 - Contagem de bactérias Gram negativas (log₁₀ ufc/g) de camas procedentes de diferentes granjas de frangos de corte nos períodos de 0, 24 e 48 horas após a injeção de amônia.

	Granjas de Frangos de Corte					p valor
	A	B	C	D	E	
Tempo	($\bar{x} \pm s$)	($\bar{x} \pm s$)	($\bar{x} \pm s$)	($\bar{x} \pm s$)	($\bar{x} \pm s$)	
0 horas	4,93 ± 1,24 aA	3,80 ± 0,51 aA	3,84 ± 0,53 aA	2,84 ± 0,40 aB	4,86 ± 0,69 aA	0,040
24 horas	2,96 ± 2,83 abA	0,00 ± 0,00 bAB	0,00 ± 0,00 bAB	2,85 ± 0,11 aA	1,46 ± 2,53 abAB	0,049
48 horas	0,92 ± 1,60 bA	0,00 ± 0,00 bA	0,00 ± 0,00 bA	0,00 ± 0,00 bA	0,96 ± 1,66 bA	0,519
p valor	0,049	0,022	0,022	0,049	0,049	-----

As médias seguidas das mesmas letras minúsculas nas colunas e pelas mesmas letras maiúsculas nas linhas não diferem entre si ($p > 0,05$) pelo teste de Dunn (post-hoc de Kruskal-Wallis).

Os métodos de tratamento de camas de aviário reutilizadas (adição de cal, enleiramento e lona na superfície) apresentam variável grau de eficácia porque não geram uma concentração de amônia (NH₃) na cama para eliminar principalmente os microrganismos patogênicos (GEHRING, 2020). A produção de amônia depende da ação da enzima uricase sobre o ácido úrico (FIGURA 4) presente na excreta das aves. Essa enzima tem sua atividade máxima quando a cama apresentar pH em torno de 8 a 9. (ITAYA, 1967; SANTANA, 2016). Assim, no método adição de cal o pH da cama é elevado para próximo de 8,5 a 9 o que aumenta a produção de amônia, contudo como essa amônia volatiliza rapidamente não é atingido concentrações mínimas para garantir a desinfecção da cama (SANTANA, 2016). O método adição de cal (600g/m²), segundo Gehring 2020, não eleva o pH da cama para acima de 10, índice que é necessário para desinfetar a cama. O método enleiramento, que tem sua ação microbocida principalmente fundamentada pelo aumento da temperatura na leira (50 a 60°C), não garante a desinfecção da cama porque as temperaturas na parte externa da leira não são bactericidas e também porque temperaturas acima de 35°C diminuem a ação da enzima uricase, reduzindo a produção de amônia (RO, 2017; EGUTE, 2010). Quando a leira é coberta por lona plástica a eficácia bactericida do método aumenta porque evita que a amônia volatilize, entretanto, a amônia acaba se concentrando no pico da leira por ser volátil, reduzindo assim a desinfecção próximo a base da parte externa da leira. O método lona na superfície, é o que apresenta melhor resultado na desinfecção de

camas de aviário porque consegue reter a amônia embaixo da lona, aumentando sua concentração na cama. Contudo, a eficiência deste método depende da vedação da cama pela lona, da umidade da cama e da presença de oxigênio (GEHRING, 2020; VAZ et. al., 2017). A enzima uricase tem sua atividade reduzida quando falta água e oxigênio. Assim, quando se coloca a lona sobre a cama começa a faltar principalmente oxigênio o que limita a produção de amônia pela fermentação bacteriana (KIM, 2003; SANTANA, 2016). Rech et al., 2017, relatou que o método lona na superfície não foi eficiente na eliminação de *Salmonella heidelberg* em camas de aviário. Isso ocorreu provavelmente porque a produção de amônia não passa de 600 ppm na cama quando tratada pelo método lona na superfície (GEHRING, 2020). A concentração bactericida para *Salmonellas* precisam ser acima de 1468 ppm de amônia (KOZIEL et al. 2017).

Neste estudo foi possível observar que a concentração de bactérias Gram negativas aumentou nas primeiras 48 horas após a aplicação do método lona na superfície. Esse método para ter eficiência é recomendado no mínimo 10 dias de fermentação para atingir uma maior concentração de amônia na cama para assim melhorar sua eficácia bactericida (SILVA, 2011). Como foi avaliado no período inicial de fermentação (48 horas), o aumento bacteriano provavelmente ocorreu porque a cama é umedecida na sua superfície antes de ser coberta pela lona, o que propicia uma maior disponibilidade de água para o crescimento bacteriano. Gehring et al (2020), observaram que, quanto maior o tempo de cobertura da cama pela lona, maior é a concentração do gás amônia embaixo dela.

A excelente eficácia do método lona na superfície com injeção de amônia se justifica porque a concentração de amônia é elevada para mais de 2200 ppm em 48 horas o que garante a desinfecção da cama. O mecanismo de ação da NH_3 intracelular ainda não é claramente compreendido. Em células animais, o composto, por sua carga neutra e seu baixo peso molecular (17g/mol), poderia atingir e atravessar a membrana celular bacteriana (WARREN, 1962). No interior da célula, acredita-se que NH_3 atue aumentando o pH celular, possivelmente como resultado de seu influxo direto, ligação a íons hidrogênio e por deslocar a concentração de potássio celular para fora da célula, o que desestabiliza a homeostase (LUTHER, 2015).

A redução de bactérias Gram negativas obtidas neste trabalho pela ação do gás amônia está de acordo com os trabalhos já citados na literatura. Himathongkham et al, 1999, testando o efeito bactericida do gás amônia frente a *Salmonella Typhimurium*, *Escherichia coli* O157:H7 e *Listeria monocytogenes* inoculados experimentalmente em excretas de aviários, relataram inibição do crescimento após dois dias para *E. coli* e *L. monocytogenes* e após 6 dias para *S. Typhimurium*, com

redução de 8 unidades logarítmicas para *S. Typhimurium* e *Escherichia coli* e de 4 unidades para *Listeria monocytogenes*.

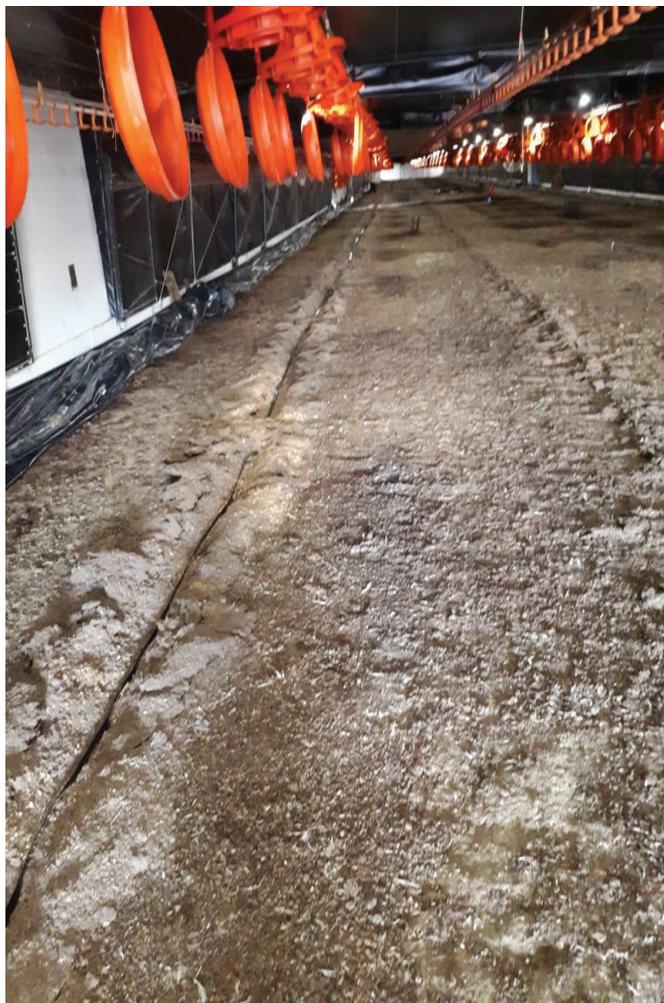
O presente trabalho demonstrou que o tratamento com lona na superfície com adição de gás amônia por um período de 48 horas REDUZ as bactérias Gram negativas da cama de aviário (FIGURA 5). Esses resultados são muito promissores pois otimizam o alojamento das granjas, devido a redução do vazio sanitário de 15 para 06 dias, possibilitando a produção de até 1,2 lote a mais em um ano; melhoram o desempenho zootécnico dos animais com aumento da conversão alimentar; reduzem a mortalidade e condenações das carcaças no abatedouro, otimizando custos e gerando rentabilidade para as agroindústria e também, será diminuído o uso de antibióticos o que irá promover um alimento mais saudável para os consumidores.

Figura 1 - Equipamento para aplicação da amônia na cama.



Fonte: Domínio Público

Figura 2 - Instalação das mangueiras de injeção de gás amônia.



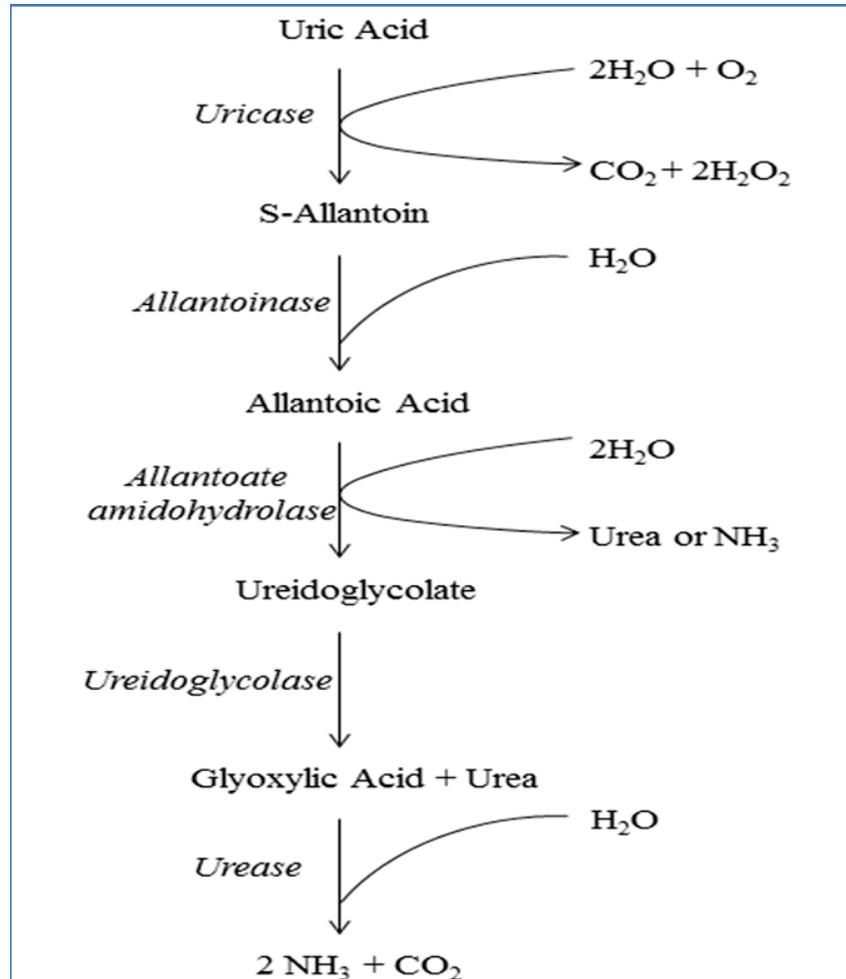
Fonte: o autor.

Figura 3 - Equipamento realizando a injeção do gás amônia embaixo da lona de superfície.



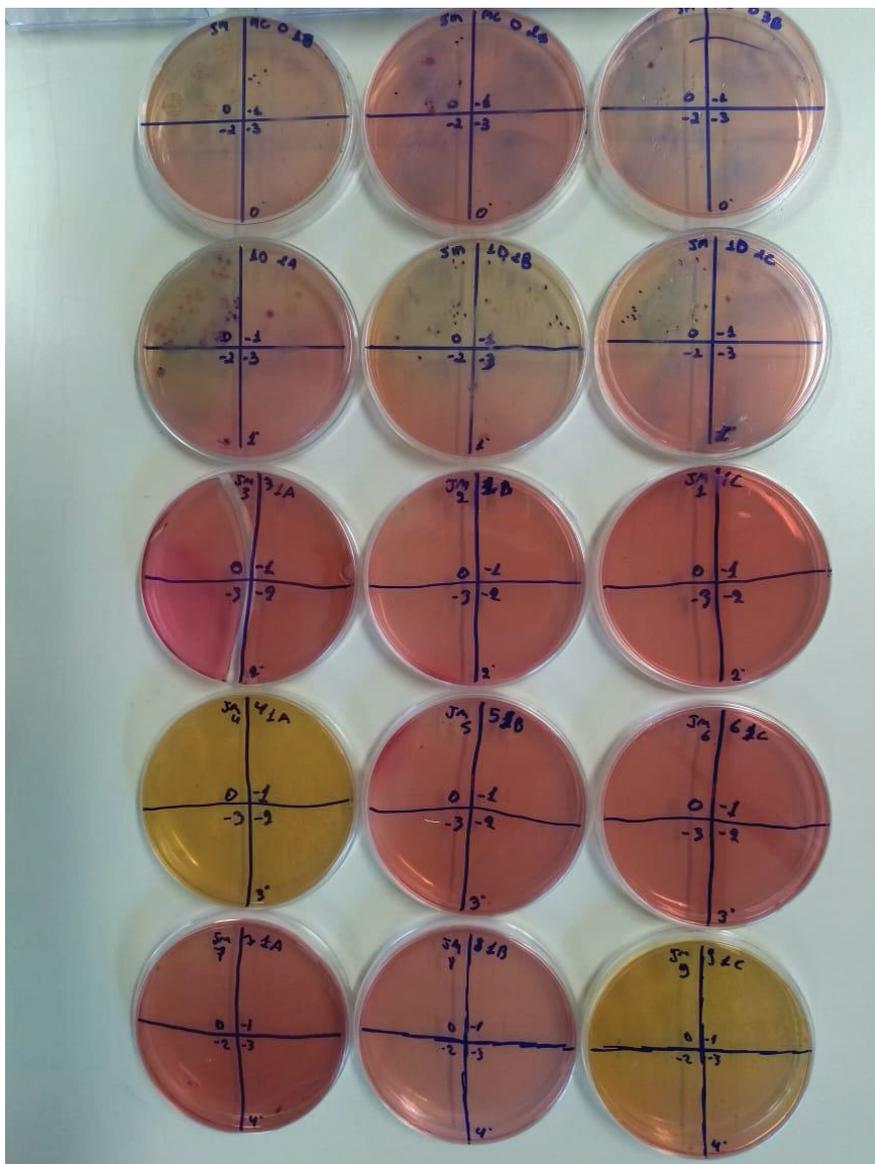
Fonte: o autor.

Figura 4 – Ciclo de formação da amônia.



Fonte: Domínio Público.

Figura 5 - Placas de Petri com meios ágar MacConkey (Acumedia, EUA) para contagem de enterobactérias totais.



Fonte: o autor.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a empresa Aveclean pelo apoio financeiro e logístico na realização do experimento e aos alunos que me auxiliaram nas análises laboratoriais.

REFERÊNCIAS

Egute, N. D. S., A. Abrao, and F. Carvalho. 2010. Estudo do processo da geração de amônia a partir de resíduos avícolas visando a produção de hidrogênio. *Revista Brasileira de Pesquisa e Desenvolvimento*.v.12, p.1-6.

Gehring, V.S., Santos, E.D., Mendonça, B.S., Santos, L.R., Rodrigues, L.B., Dickel, E.L., Daroit, L., Pilotto, F. *Alphitobius diaperinus* control and physicochemical study of poultry litters treated with quicklime and shallow fermentation. *Poultry Science*. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0032579119578361?via%3Dihub>.

Guastatelli, E. A. L.; Soares, N.M. Colibacilose aviária. *Arquivos do Instituto Biológico*. 2011. (Comunicados Técnicos, n. 150). Disponível em: http://www.biologico.sp.gov.br/artigos_ok.php?id_artigo=150.

Himathongkham, S., and H. Riemann. 1999. Destruction of *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* in chicken manure by drying and/or gassing with ammonia. *FEMS Microbiology Letters* 171(1):179-182. doi:10.1111/j.1574-6968.1999.tb13430.x.

Itaya, K., Yamamoto, T. & Fukumoto, J. (1967) Studies on Yeast Uricase, *Agricultural and Biological Chemistry*, 31:11, 1256-1264, DOI: 10.1080/00021369.1967.10858962.

Kim WK, Patterson PH. Effect of minerals on activity of microbial uricase to reduce ammonia volatilization in poultry manure. *Poult Sci*. 2003. 82; 223-231.

Koziel, J. A., T. S. Frana, H. Ahn, T. D. Glanville, L. T. Nguyen, and J. Van Leeuwen. 2017. Efficacy of NH₃ as a secondary barrier treatment for inactivation of *Salmonella Typhimurium* and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in digestate of animal carcasses: Proof-of-concept. *PloS One*. doi:10.1371/journal.pone.0176825.

Lopes, M., Leite, F.L., Valente, B.S., Heres, T., Dai Prá, M.A., Xavier, E.G., Roll, V.F.B. An assessment of the effectiveness of four in-house treatments to reduce the bacterial levels in poultry litter. *Poult. Science*. 00, 1–5, 2015.

LUTHER, A. K. Ammonia toxicity in bacteria and its implications for treatment of and resource recovery from highly nitrogenous organic wastes. Dissertation. Graduate Program in Environmental Science. The State University of New Jersey, 2015.

Mendonça EP. Características de virulência, resistência e diversidade genética de sorovares de *Salmonella* com impacto em saúde pública, isolados de frangos de corte no Brasil. [Tese]. Uberlândia: Universidade Federal de Uberlândia – UFMG; 2016.

Muniz, E.C. 2014. Salmonelas paratíficas em aves: avaliação da resposta imunológica e controle por meio de probióticos. Dissertação (Doutorado em Ciências Veterinárias: Ciências Agrárias) – Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná.

Ro, K.S., MOORE, P.A, SZOGI, A.A., MILLNER, P.D. 2017. Ammonia and nitrous oxide emissions from broiler houses with downtime windrowed litter. *Journal of Environmental Quality*. 46:498–504.

Santana, I. 2016. Emissões de gases do efeito estufa e amônia oriundas da criação de frangos de corte em múltiplos reusos da cama. Msc. Diss., Universidade de São Paulo.

Santos, M.J.B.; Samay, A.M.A.T.; Silva, D.A.T.; Rabello, C.B.; Torres, T. R. Santos, P.A.; Camelo, L.C.L. Manejo e Tratamento de Cama Durante a Criação de Aves. *Revista Eletrônica Nutritime*, v.9, n° 03 p.1801-1815 –Maio/Junho 2012.

. Estratégias para reutilização de cama de aviário. Accessed February 19, 2019. <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/916974/1/estrategisaparareutilizacao0001.pdf>.

Silva, V. S., D. Voss, A. Coldebella, N. Bosetti, and V. S. Avila. 2007. Efeito de tratamentos sobre a carga bacteriana de cama de aviário reutilizada em frangos de corte. *Embrapa Suínos e aves*, Concordia, Brasil.

Vaz, C. S. L., D. Voss-Rech, V. S. Avila, A. Coldebella, and V. S. Silva. 2017. Interventions to reduce the bacterial load in recycled broiler litter. *Poultry Science*. 96(8):2587-2594. doi:10.3382/ps/pex063.

Voss-Rech, D., I. M. Trevisol, L. Brentano, V. S. Silva, R. Rebelatto, F. R. F. Jaenisch, and C. S. L. Vaz. 2017. Impact of treatments for recycled broiler litter on the viability and infectivity of microorganisms. *Veterinary Microbiology*. 203:308-314. doi :10.1016/j.vetmic. 2017.03.020.

Ward, R. L. 1978. Mechanism of poliovirus inactivation by ammonia. *Journal of Virology* 26:299-305.

Warren, K. S. 1962. Ammonia toxicity and pH. *Nature*. 195:47-49.

3. CONCLUSÕES

O tratamento lona na superfície com injeção de gás amônia na concentração de 0,22% reduz bactérias Gram negativas num período de 48 horas em camas de aviário.

O método permite a redução do vazio sanitário, a produção de 1,2 lote a mais em um ano possibilitando maiores ganhos ao avicultor e também a otimização dos custos de produção.

REFERÊNCIAS

1. ABPA. Associação Brasileira de Proteína Animal. Avicultura. **Relatórios anuais**. 2018. Disponível em: <<http://abpa-br.com.br/setores/avicultura/publicacoes/relatorios-anuais>>.
2. ABPA. Associação Brasileira de Proteína Animal. Avicultura. **Relatórios anuais**. 2020. Disponível em: <http://abpa-br.org/wp-content/uploads/2020/05/abpa_relatorio_anual_2020_portugues_web.pdf>.
3. ANDRADE, A. Qualidade físico-química e microbiológica da cama de frango de corte reutilizada e acidificada. **Dissertação**. Mestrado em Zootecnia: Campus Universitário de Sinop, Universidade de Mato Grosso, MT, 2017.
4. BRITO, D. A. P., BRITO, D. R. B., GOMES, A. M. N., CUNHA, A. d. S., SILVA FILHO, U. A. & PINHEIRO, A. A. Desempenho produtivo e rendimento de carcaça de frangos criados em diferentes materiais de cama aviária. **Ciência Animal Brasileira**, 17(2):192-197, 2016.
5. CAMPOS, M. F. F. S., TEÓFILO, T. S., CHAVES, D. P., SANTOS, A. C. G., LOPES, B. C. A., BEZERRA, N. P. C. & TORRES, M. A. Identificação parasitológica da cama de frango reutilizada em uma granja avícola. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, 25(1), 2018.
6. CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). Foodborne Diseases Active Surveillance Network (FoodNet): **FoodNet 2015** (Preliminary Data). Atlanta, Georgia: U.S. Department of Health and Human Services, CDC, 2015.
7. COBB. **Manual de Manejo de Frangos de Corte**. 2012. Disponível em: <http://www.cobb-vantress.com/languages/guidefiles/b5043b0f-792a-448e-b4a1-4aff9a30e9eb_pt.pdf>.
8. CORRIER, D. E. J. A. et al. Presence of *Salmonella* in the crop and ceca of broiler chickens before and after preslaughter feed withdrawal. **Poultry Science**, v. 78, n. 1, p. 45-49, 1999.
9. COSTA, L.S.; GARCIA, L.A.F.; BRENE, P.R.A. Indústria de frango de corte no mundo e no Brasil e a participação da indústria avícola paranaense neste complexo. **Ciências Sociais em Perspectiva**, v.14, n. 27, p. 319 – 341. 2015.
10. DUNLOP, M. W., MCAULEY, J., BLACKALL, P. J. & STUETZ, R. M. (2016). Water activity of poultry litter: Relationship to moisture content during a grow-out. **Journal of Environmental Management**, 172201-206.
11. FERREIRA, A. J. P.; KNOBL, T. Colibacilose. IN: JUNIOR, A. B.; SILVA, E. N.; FÁBIO, J. D.; SESTI, L. ZUANAZE, M. A. Doença das aves. 2 ed. Campinas: **Fundação APINCO**. p.457-471, 2009.

12. FIORENTIN, L. Processos de tratamento para reutilização de cama de aviário: aspectos bacteriológicos. In: **Conferência Apinco de Ciência e Tecnologias Avícolas**, 2006, Santos. Anais. Campinas: Facta, p.17-24, 2006.
13. FRANÇA, L.G.F.; TINÔCO, I.F.F.; MENDES, M.A.S.A.; ET AL. Caracterização de fatores que influenciam a emissão de amônia pelos dejetos de galinhas poedeiras e proposição de um score para o potencial máximo de emissão. **XLIII Congresso Brasileiro de Engenharia Agrícola**. Anais. Campo Grande: CONBEA 2014, 2014.
14. GARCIA, R. G., PAZ, I. C. d. L. A., CALDARA, F. R., NAAS, I. A., FREITAS, L. W., BORILLE, R., SPINDOLA, N. F. Alternativas para a composição de cama de frango. *Agrarian*, 6(19):81-89, 2013.
15. GEHRING, V.S. Alphitobius diaperinus control and physicochemical study of poultry litters treated with quicklime and shallow fermentation. **Poultry Science**, 2020.
16. GIOTTO D.B., ZIMERMANN F.C., CESCO M.A.O., FORTES F.B., PINHEIRO D., HILLER C.C., HERPICH J., MEDINA M., RODRIGUES E. & SALLE C.T.P. 2008. Impacto econômico de condenações post mortem de frango de corte em um matadouro frigorífico na região sul do Brasil. Disponível em <<http://www.sovergs.com.br/conbravet2008/anais/cd/resumos/RO701-2.pdf>>.
17. GLOBALG.A.P. Integrated Farm Assurance Livestock Base. Benchmarking Cross-Reference Checklist: Control Points and Compliance Criteria - Poultry. 5.0-2 ed. Cologne, Germany, 2016.
18. GONZÁLES, E.; SALDANHA, E.S.P.B. Os primeiros dias de vida do frango e a produtividade futura. In: Congresso Brasileiro de Zootecnia, 2001, Goiânia. Anais... Goiânia: **AZEG/ABZ**, p.312-313. 2001.
19. GUASTATELLI, E. A. L.; SOARES, N.M. Colibacilose aviária. Arquivos do Instituto Biológico. 2011. (Comunicados Técnicos, n. 150). Disponível em: http://www.biologico.sp.gov.br/artigos_ok.php?id_artigo=150.
20. HIMATHONGKHAM, S.; RIEMANN, H. Destruction of *Salmonella* typhimurium, *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* in chicken manure by drying and/or gassing with ammonia. **FEMS Microbiology Letters**, v.171, n. 2, p. 179-182, 2006.
21. KAPER, J.B. Pathogenic *Escherichia coli*. **Int. J. Med. Microbiol.**, v.295, p.355-356, 2005.
22. LEE, G.Y.; JANG, H.I.; HWANG, I.G. et al. Prevalence and classification of pathogenic *Escherichia coli* isolated from fresh beef, poultry, and pork in Korea. **Int. J. Food Microbiol.**, v.134, p.196- 200, 2009.

23. LOPES, M., LEITE, F.L., VALENTE, B.S., HERES, T., DAI PRÁ, M.A., XAVIER, E.G., ROLL, V.F.B. An assessment of the effectiveness of four in-house treatments to reduce the bacterial levels in poultry litter. **Poult. Science**. 00, 1–5, 2015.
24. LOVATO, M. et al., Colibacilose, **Doença das Aves**. p.90-92, 2018. Disponível em: <https://www.passeidireto.com/arquivo/55726744/doencas-das-aves-em-pdf-helton-f-dos-santos-maristela-lovato>.
25. LIU, Z; WANG, L; BEASLEY, D.B. Modeling ammonia emissions from broiler litter at laboratory scale. **ASABE**, v.52, n.5, p.1683-1694, 2009.
26. LU, J. et al. Evaluation of broiler litter with reference to the microbial composition as assessed by using 16S rRNA and functional gene markers. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 69, n. 2, p. 901-908, 2003.
27. LUTHER, A. K. Ammonia toxicity in bacteria and its implications for treatment of and resource recovery from highly nitrogenous organic wastes. Dissertation. **Graduate Program in Environmental Science**. The State University of New Jersey, 2015.
28. MENDES, A. A. et al. Produção de frangos de corte. Campinas: **Facta**, 2004.
29. MILES, D.M.; ROWE, D.E.; CATHCART, T.C. Litter ammonia generation: Moisture content and organic versus inorganic bedding materials. **Poultry Science**, 90 :1162–1169. 2011.
30. MÜLLER, H. et al. Research on infectious bursal disease – the past, the present and the future. **Veterinary Microbiology**, v. 97, n. 1-2, p. 153-165, 2003.
31. NASEEM, S., KING, A.J. Ammonia production in poultry houses can affect health of humans, birds, and the environment – techniques for its reduction during poultry production. *Environ Sci Pollut Res* **25**, 15269 – 15293 (2018). <https://doi.org/10.1007/s11356-018-2018-y>.
32. ORRICO, A. C. A.; SGAVIOLI, S.; GARCIA, R. G. Estratégias para a utilização de camas em aviário.2015. Disponível em:<http://pt.engormix.com/MA-avicultura/administracao/artigos/est_rategias-utilizacao-camas-aviario-t2110/124-p0.htm.
33. OVIEDO-RONDON, E. O. Molecular methods to evaluate effects of feed additives and nutrients in poultry gut microflora. **Revista Brasileira Zootecnia**, v. 38, n. spe, p. 209-225, 2009.
34. RECH, D. V. Impacto de tratamentos de cama aviária reutilizada na viabilidade e infectividade de micro-organismos. **Dissertação. Mestrado em Medicina Veterinária**: Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Santa Maria, RS, 2017.

35. ROCHA, A. Efeito da fermentação da cama de frango reutilizada sobre o desempenho, ambiência e a qualidade físico-química da cama de frangos de corte. **Dissertação. Mestrado em Zootecnia**: Campus Universitário de Sinop, Universidade de Mato Grosso, MT, 2017.
36. RODRIGUEZ-SIEK, K.E.; GIDDINGS, C.W.; DOETKOTT, C. et al. Comparison of *Escherichia coli* isolates implicated in human urinary tract infection and avian colibacillosis. **Microbiology**, v.151, p.2097- 2110, 2005a.
37. RON, E.Z. Host apecificity of septicemic *Escherichia coli*: human and avian pathogens. **Curr. Opinion Microbiol.**, v.9, p.28-32, 2006.
38. SANTOS, M.J.B.; SAMAY, A.M.A.T.; SILVA, D.A.T.; RABELLO, C.B.; TORRES, T. R. SANTOS, P.A.; CAMELO, L.C.L. Manejo e Tratamento de Cama Durante a Criação de Aves. **Revista Eletrônica Nutritime**, v.9, n° 03 p.1801-1815 –Maio/Junho 2012.
39. SESTERHENN R., FERREIRA T.Z., KINDLEIN L. & MORAES H.L.S. 2011. Impacto econômico de condenações post mortem de aves sob inspeção estadual no Estado do Rio Grande do Sul. Disponível em <<http://www.sovergs.com.br/site/38conbravet/resumos/797.pdf>>.
40. SILVA, V.S. et al. Efeito de tratamentos sobre a carga bacteriana de cama de aviário reutilizada em frangos de corte. **Comunicado Técnico**. Concórdia: Embrapa Suínos e Aves, dez., 2007.
41. SILVA, V. S. et al. Estratégias para reutilização de cama de aviário. **In: Conferência Facta de Ciência e Tecnologia Avícolas**, SP, Anais. Santos: Facta, 2011.
42. TRAMPEL D. W. R. J. et al. Recovery of *Salmonella* from water, equipment, and carcasses in turkey processing plants. **Journal Applied Poultry Research**, v. 9, n.1, p. 29-34, 2000.
43. VAZ, C.S.L., VOSS-RECH, D., AVILA, V.S., COLDEBELLA, A., SILVA, V.S., Interventions to reduce the bacterial load in recycled broiler litter. **Poultry Science**. (in press). 2017.
44. VIEIRA, M. F. A.; TINOCO, I. F. F.; SANTOS, B. M.; INOUE, K. R. A.; MENDES, M. A. S. A. Sanitary quality of broiler litter reused. **Engenharia Agrícola**, Jaboticabal, v.35, n.5, p.800-807. 2015.
45. WADUD, A.S. et. al. Bacterial and fungal community composition over time in chickenlitter with high or low moisture content. **British Poultry Science**, v.54, n.5, p. 561-569, 2012.
46. WARREN KS. Ammonia toxicity and pH. **Nature**. 195:47-49, 1962.

47. YETILMEZSOY, K., SAKAR, S. Development of empirical models for performance evaluation of UASB reactors treating poultry manure wastewater under different operational conditions. **Journal of Hazardous Materials**, v.153, p.532–543. 2008.