UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ – CAMPUS UMUARAMA
PROGRAMA DE MESTRADO EM PRODUÇÃO SUSTENTÁVEL E SAÚDE ANIMAL

YASMIN MARTINELLI MARTINI

EFICIÊNCIA DE DIFERENTES PRODUTOS NO TRATAMENTO DE CAMA DE AVIÁRIO DE MATRIZES PESADAS INOCULADA COM *SALMONELLA* MINNESOTA

UMUARAMA – FEVEREIRO, 2025

YASMIN MARTINELLI MARTINI

EFICIÊNCIA DE DIFERENTES PRODUTOS NO TRATAMENTO DE CAMA DE AVIÁRIO DE MATRIZES PESADAS INOCULADA COM *SALMONELLA* MINNESOTA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Sustentável e Saúde Animal do Departamento de Medicina Veterinária, Centro de Ciências Agrárias da Universidade Estadual de Maringá, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Veterinária.

Área de concentração: Produção Sustentável

Orientador: Prof. Dr. Ferenc Istvan Bánkuti.

UMUARAMA – FEVEREIRO, 2025

Ficha catalográfica (após defesa)

YASMIN MARTINELLI MARTINI

EFICIÊNCIA DE DIFERENTES PRODUTOS NO TRATAMENTO DE CAMA DE AVIÁRIO DE MATRIZES PESADAS INOCULADA COM *SALMONELLA* MINNESOTA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Sustentável e Saúde Animal do Departamento de Medicina Veterinária, Centro de Ciências Agrárias da Universidade Estadual de Maringá, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Veterinária.

Área de concentração: Produção Sustentável.
Orientador: Prof. Dr. Ferenc Istvan Bánkuti.

FOLHA DE APROVAÇÃO

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço à Deus, que tem conhecimento e sabedoria de todas as coisas.

Aos meus pais, que nunca mediram esforços para fazer o que fosse necessário pelo meu estudo e aprimoramento do meu conhecimento. Nunca foram contra minha escolha de profissão e sempre acreditaram no meu potencial.

Á UEM e todo o time de docentes que sempre me deram apoio, principalmente ao Prof. Dr. Ferenc, meu orientador, e a Profª. Drª. Simara, minha coorientadora neste projeto. Agradeço também ao laboratório LANA, da UEM, e ao laboratorista Ulisses, que me apoiou e me deu todo o suporte necessário na execução do experimento. Ao Prof. Dr. Merlini, que me concedeu o estágio docência.

Agradeço ao meu gestor do meu trabalho, Charles, que sempre me apoiou durante a decisão de cursar o mestrado e nunca abriu mão do que poderia fazer para me ajudar na conclusão e êxito.

EFICIÊNCIA DE DIFERENTES PRODUTOS NO TRATAMENTO DE CAMA DE AVIÁRIO DE MATRIZES PESADAS INOCULADA COM *SALMONELLA* MINNESOTA

Resumo

A cama aviária é composta por material disposto no piso do aviário em que as matrizes pesadas de frango de corte são alojadas. Normalmente utiliza-se como cama aviária a maravalha ou casca de arroz. Durante o período de alojamento das aves, juntam-se à cama, excretas, partículas de água e ração utilizada na alimentação das aves. O acúmulo destes materiais na cama, favorece a proliferação de diversos microrganismos, entre esses, a *Salmonella* spp. É uma bactéria com alto poder de disseminação e, que pode causar grandes problemas à saúde dos animais, do homem e prejuízos econômicos, decorrentes da redução da produção e impossibilidade de comercialização dos animais. Neste estudo avaliou-se a eficiência do alginato de cálcio, *Bacillus subtilis*, hidróxido de cálcio e hidróxido de sódio nas características microbiológicas e físico-químicas de cama de aviário contaminada com *Salmonella* Minnesota (SM) no log de 10^9. Para tanto, foram coletadas quatro amostras de 300 gramas de cama de aviário de matrizes pesadas com 46 semanas de idade. A cama de aviário foi previamente tratada com hidróxido de cálcio e constatada a ausência de SM. As amostras foram tratadas com seguintes produtos: T1 - Alginato de sódio; T2 - *Bacillus subtilis*; T3 – Hidróxido de cálcio e T4 - Hidróxido de sódio. Para as análises microbiológicas, utilizou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado (DIC) definido por quatro tratamentos e quatro repetições. Para as análises físico-químicas também foram utilizados quatro tratamentos e seis repetições. O T4 reduziu quantitativa e qualitativamente a contaminação de *Salmonella* Minnesota na cama de aviário, quando comparado com o controle positivo. Para o nitrogênio e proteína bruta, observou-se diferenças entre o controle e todos os tratamentos, sendo maior a diferença entre o controle e o T4 ($p<0,05$). Entre os tratamentos não se observou diferenças ($p>0,05$). Ao serem observados os dados do indicador pH, apenas para T1 não foi observada diferença em relação ao controle ($p>0,05$). Para índice de matéria seca, o controle foi diferente apenas para T4 ($p<0,05$). Os resultados dos índices de umidade indicaram que o controle foi diferente apenas de T4 ($p<0,05$). Desta forma, conclui-se que entre os tratamentos analisados nesta pesquisa, o T4 - Hidróxido de sódio, mostrou-se como o produto mais eficiente para a redução e microbiana e de parâmetros físico-químicos em cama de aviário contaminada com SM.

Palavras-chave: cama de aviário, *Salmonella*, matriz de corte.

COMPARISON OF DIFFERENT TREATMENTS IN POULTRY LITTER FROM BROILER BREEDERS AFTER *SALMONELLA* MINNESOTA INOCULATION

Abstract

Poultry litter is made up of material placed on the floor of the poultry house where the broiler breeders are housed. Usually, wood shavings or rice husks are used as poultry litter. During the time the birds are housed, feces, urine, water residue and particles of feed used to feed the birds are added to the litter. The accumulation of these materials in the litter favors the proliferation of various microorganisms, including *Salmonella* spp. *Salmonella* is a bacterium with high dissemination power that can cause major health problems for animals, humans and economic losses, resulting from reduced production and the impossibility of selling the animals. This study evaluated the effectiveness of calcium alginate, bacillus subtilis, hydrated lime and sodium hydroxide on the microbiological and physicochemical characteristics of poultry litter contaminated with *Salmonella* Minnesota (SM). To this end, four 300-gram samples of poultry litter were collected from 46-week-old broiler breeders. The poultry litter was previously treated with hydrated lime and the absence of SM was verified. The samples were treated with the following products: T1 - Sodium Alginate; T2 - Bacillus subtilis; T3 - Hydrated Lime and T4 - Sodium Hydroxide. For the microbiological analyses, a completely randomized experimental design was used, with four treatments and four replicates. For the physico-chemical analysis, four treatments were used and and four replicates. Treatments T1, T2 and T3 did not reduce SM when compared to the positive control. T4 quantitatively and qualitatively reduced *Salmonella* Minnesota contamination in poultry litter when compared to the positive control. For nitrogen, we observed differences between the control and all the treatments, with the difference being between the control and T4 ($p<0.05$). For crude protein, all the treatments showed a difference compared to the control ($p<0.05$), the most significant being T4 compared to the control. There were no differences between treatments ($p>0.05$). Looking at the pH indicator data, only treatment 1 showed no difference compared to the control ($p>0.05$). For the dry matter index, the

control was only different from treatment 4 ($p<0.05$). The moisture index results indicated that the control was different only from treatment 4 ($p<0.05$). Thus, among the treatments analyzed in this research, T4 - Sodium hydroxide, proved to be the most efficient product for the quantitative and qualitative reduction of SM in poultry litter.

Key words: poultry litter, *salmonella*, broiler breeder.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO (REVISÃO BIBLIOGRÁFICA) 13
   1.1 AVICULTURA NO BRASIL.....13
   1.2 *SALMONELLA* NA AVICULTURA.....14
   1.3 CAMA DE AVIÁRIO, CONTAMINAÇÕES E TRATAMENTOS PARA *SALMONELLA* SPP.....14
2. OBJETIVOS.....16
   2.1 OBJETIVO GERAL.....16

3. HIPÓTESES DA PESQUISA.....17

4. MATERIAL E MÉTODOS.....17

4.1 COLETA DE AMOSTRA.....17

4.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E TRATAMENTOS.....18

4.2 METODOLOGIA DE ANÁLISE MICROBIOLÓGICA.....20

4.3 METODOLOGIA DE ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICA.....22

4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....23

5. RESULTADOS.....23

5.1 ANÁLISE MICROBIOLÓGICA.....24

5.2 ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICA.....25

6. DISCUSSSÃO.....27

7. CONCLUSÃO.....31

8. REFERÊNCIAS.....32

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – AMOSTRAS DE CAMA DE AVIÁRIO APÓS A APLICAÇÃO DOS TRATAMENTOS.....18

FIGURA 2 – AMOSTRAS DE CAMA COM DILUIÇÃO DOS PRODUTOS E SOLUÇÃO DIGESTORA.....22

FIGURA 3 – AMOSTRAS DE CAMA DE AVIÁRIO PARA ANÁLISE DE MATÉRIA SECA.....23

LISTA DE TABELAS E QUADROS

TABELA 1 – PRODUTOS COMPARADOS NOS TRATAMENTOS.....21

TABELA 2 – AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DA CAMA APÓS A UTILIZAÇÃO DOS PROTUDOS TESTADOS EM CADA TRATAMENTO (T1 A T4).....24

TABELA 3 – RESULTADOS DAS ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS DE NITROGÊNIO, PROTEÍNA BRUTA, pH, MATÉRIA SECA E UMIDADE.....26

LISTA DE ABREVIAÇÕES E SIGLAS

PB (%): Proteína bruta

N (%): Nitrogênio

SM: *Salmonella* Minnesota

BS: *Bacillus subtilis*

NMP: número mais provável

1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1 A AVICULTURA NO BRASIL

Antes da década de 70, quando a avicultura se iniciou no Brasil, a criação de aves era realizada de forma rústica, com linhagens caipiras. Juntamente com a produção de aves, os pequenos produtores criavam outros animais como bovinos de leite e suínos. Nesta mesma década, a avicultura se intensificou no Brasil, principalmente no estado de Santa Catarina, onde iniciou-se o sistema de criação vertical. Neste período, as linhagens estrangeiras de frango de corte começaram a serem inseridas no país. Aprimorando assim, a genética, nutrição e o manejo dessas aves. A partir desta fase, a avicultura brasileira teve crescimentos constantes e significativos (VITALI DUMINELLI; ILKA JACINTO SALVARO; DE OLIVEIRA ESTEVAM, 2023).

Alguns anos depois, em 1973, já existiam 18 empresas produtoras matrizes pesadas no país, entre essas, metade eram estrangeiras. A evolução da cadeia avícola, além de estar relacionada ao aprimoramento das linhagens, também foi devida às novas dinâmicas dos espaços rurais (PROCÓPIO; LIMA, 2020) e às formas de organização de relações entre avicultores e a indústria, entre essas, àquelas realizadas por meio de contratos entre a indústria de abate e processamento e os avicultores, processos conhecidos como de “integração” (DORNELAS et al., 2020)

Atualmente, a cadeia avícola cresce cada vez mais no Brasil. Em se tratando de matrizes produtoras de ovos férteis, em 2023 foram alojadas no país, mais de 60 milhões de cabeças. As exportações de pintos de um dia e de ovos férteis também foram significativas, sendo estas de 1.000 toneladas de pintos de um dia por ano e 14.000 ton de ovos férteis de galinha por ano (ABPA, 2024).

Na exportação de carne de frango, dentre as unidades federativas brasileiras, entre 2013 a 2023 o Paraná foi o Estado com maior volume de carne comercializada no Brasil, representando 41,7% montante total exportado pelo país. Na sequência, os Estados com maiores volumes de exportação foram os de Santa Catarina e Rio Grande do Sul, com 22,0% e 14,8% respectivamente (ABPA, 2024).

1.2 SALMONELA NA AVICULTURA

A *Salmonella* spp. é uma bactéria com alto poder de disseminação e de importância para a saúde mundial, podendo ser classificada em mais de 2.500 sorovares (ROVID SPICKLER, 2013). É considerada um dos maiores patógenos da avicultura, podendo causar severos danos às aves, resultando em septicemia. Mas, em muitos casos, as espécies carregam a bactéria de forma assintomática e eliminam em suas fezes (ROVID SPICKLER, 2013). Além dos problemas de ordem sanitária e de saúde pública, a *Salmonella* spp. ocasiona impactos econômicos negativos, impossibilitando as exportações brasileiras de carne de aves. A bactéria é comumente encontrada na água, ambiente, equipamentos e utensílios contaminados (SHINOHARA et al., 2008).

Este micro-organismo, pode ser classificado em duas espécies do gênero *Salmonella: S. entérica* e S. *bongori* (ROVID SPICKLER, 2013). Considerando a espécie *S.* entérica, os sorovares *S.* Typhimurium e *S.* Enteritidis, por serem letais aos humanos tem recebido maior atenção. Já a *S.* Minnesota, no período de 1996 a 2006 foi diagnosticada 340 vezes em seres humanos. Menos frequente que casos de diagnóstico pelos outros sorovares citados anteriormente (LOURENCO et al., 2012). Entre os anos de 2009 e 2010 a *S.* Minnesota foi o segundo sorovar mais isolado em frangos de corte (BRASÃO et al., 2021). Os sorovares *S.* Heidelberg e *S.* Minnesota foram as de maior destaque no setor avícola dos últimos anos. Para (ALIKHAN et al., 2022) isso deve-se ao fato do surgimento da vacina para *S.* enteritidis em 2003, o qual era o sorovar mais prevalente, bem como o uso de antimicrobianos.

Diante dos problemas sanitários e econômicos que os soroaves podem causar, o Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA), desenvolveu o Programa Nacional de Sanidade avícola (MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, 1994). Neste Programa, são definidas as diretrizes principais sobre como prevenir e controlar as enfermidades de interesse em avicultura e saúde pública no Brasil. Bem como apresenta ações para a certificação sanitária dos plantéis avícolas do país para que sejam fornecidos produtos avícolas saudáveis para o mercado interno e externo (MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, 1994). Em relação á salmonelas, o programa estabelece critérios de biosseguridade para os estabelecimentos com base nas legislações nacionais, além de controlar e monitorar a presença deste agente nas granjas comerciais e de reprodução

avícola. Além disso, há uma legislação, a IN nº 20**,** de 21 de outubro de 2016, estabelece os critérios e procedimentos para o Programa de Redução de Patógenos (PRP**)**, com foco no controle de *Salmonella* spp**.** em produtos de origem animal no Brasil. O documento detalha as responsabilidades dos estabelecimentos processadores, as diretrizes para a coleta e análise de amostras, os critérios de aceitação e rejeição, além das ações corretivas a serem adotadas em casos de não conformidade. (MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, 2016).

1.3 CAMA DE AVÍARIO, CONTAMINAÇÕES E TRATAMENTOS PARA *SALMONELLA* SPP.

A cama das aves caracteriza-se pelo material que está no galpão para servir de leito das aves. Ao longo da vida das aves, essa cama irá ser composta por restos de ração, penas e excrementos dos animais alojados (BRASILEIRA; AGROPECUARIA - EMBRAPA, [s.d.]). Dentre os materiais que podem ser utilizados para compor a cama encontram-se a casca de arroz, maravalha, palha de arroz e areia. Quando o material utilizado for maravalha, esta deverá ser de origem de pinheiro, pinus, cedro, entre outros (BRASILEIRA; AGROPECUARIA - EMBRAPA, [s.d.]). Uma cama ideal precisa ter boa absorção, ser biodegradável, fornecer conforto para as aves e ser livre de contaminações (AVIAGEN, 2023). Para manter a qualidade da cama, são utilizados alguns produtos à base de acidificantes, alcalinizantes e absorventes (DE TOLEDO et al., 2020).

Durante o período em que as aves estão alojadas, o manejo de cama torna-se necessário, pois alguns fatores podem contribuir para a má qualidade da cama entre esses: fatores de clima, falhas nos equipamentos de comedouro e bebedouro e o tamanho da ave, pois com o crescimento das aves, as excretas aumentam em volume. A partir da má condição de cama, criam-se "cascões" – aglomerados do próprio material que está sob o solo com os dejetos das aves. Logo, é importante que seja realizado o revolvimento dessa cama seca que está na parte de baixo com a cama mais úmida que está em cima formando o cascão, gerando uma quebra desse material (ROSSETTO et al., 2021). A cama ideal não deve ter o teor de umidade elevado, para não influenciar na proliferação de micro-organismos indesejáveis e o surgimento de lesões nas aves. O ideal seria um teor de 20 a 25% de umidade (TEIXEIRA, 2013).

A cama de aviário pode ser detentora de diversos microrganismos indesejáveis para a saúde das aves, desempenho e indicadores zootécnico de produção, impactando na lucratividade da atividade (LUCCA et al., 2012).(LUCCA et al., 2012). Entre esses, microrganismos, a *Salmonella* por exemplo, tem como uma das formas de transmissão de forma horizontal através da ingestão de cama pela ave, poeira, ração, água ou matéria fecal contaminada ou de forma vertical, via ovo (PRA et al., 2009). Esses autores ao estudarem a microbiota presente em uma cama aviária, notaram que as principais bactérias são *Corynebacterium, Micrococcus* e do tipo gram-negativas (salmonelas). Além disso, observaram que as bactérias gram-negativas permaneceram estáveis em três momentos de avaliação, e quando as aves foram retiradas do galpão, a contaminação foi reduzida significativamente a sua população (PRA et al., 2009).

Atualmente, alguns tratamentos são utilizados para combater microorganismos indesejáveis na cama de aves, entre esses, um dos mais utilizados é a aplicação de cal virgem (REFERÊNCIA). O cal virgem pode diminuir a quantidade de bactérias patogênicas presentes na cama de aviário (WOLF et al., 2014). A quantidade de bactérias na cama está relacionada com a umidade da cama, onde camas com umidades altas umidades, acima de 22%, tendem a ter sua temperatura elevada, facilitando a proliferação de bactérias (PRA et al., 2009). O teor de umidade ideal para uma cama de aviário é de 20 a 25% (TEIXEIRA, 2013).

Segundo De Toledo et al., (2020), ao comparar produtos alcalinizantes e absorventes não foram observadas diferenças entre o grupo controle e os tratamentos para a redução de nitrogênio. Ao comparar o efeito destes produtos no pH da cama, observaram que os produtos alcalinizantes aumentaram o pH e os produtos acidificantes diminuíram este indicador. Já o produto adsorvente, demonstrou tendência a diminuir o pH da cama (DE TOLEDO et al., 2020).

Em outro estudo pode ser observado que quanto maior a umidade da cama e quanto mais elevado for o pH, maior será o índice de bactérias como a *Salmonella* Enteritidis (REFERÊNCIA). Além disso, as bactérias desse mesmo gênero são adaptáveis tanto ao pH alcalino (como da albumina do ovo), quanto ao pH ácido (como do estômago). Os autores ainda afirmam que 99% dos sorotipos do gênero *Salmonella* podem causar doenças nas aves, mas sua maior preocupação é em relação com a saúde pública (PRA et al., 2009).

Em estudo foi utilizado sulfato de alumínio, gesso agrícola e hidróxido de cálcio para tratamento de cama de aviário de frango de corte, os resultados mostraram que o sulfato de alumínio não reduziu o pH, já o menor valor foi encontrado com o tratamento de gesso agrícola (6,67) (FRANZ et al., 2020). Ao comparar, tratamento em cama de aviário com um produto a base de *Bacilus subitilis* em cama nova em um aviário de matrizes, o resultado foi uma redução de 13% no número total de enterobactérias (ROLL et al., 2008).

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Nesta pesquisa buscou-se avaliar a eficiência do alginato de sódio, *Bacillus subtilis*, hidróxido de cálcio e hidróxido de sódio nas características microbiológicas e físico-químicas de cama de aviário contaminada com *Salmonella* Minnesota (SM).

O produto de composição alginato de sódio tem como mecanismo de ação, sequestrar amônia ao reagir com os compostos nitrogenados das excretas das aves. O produto a base de *Bacillus subtilis* tem como como mecanismo de ação reduzir o número de patógenos na cama a partir da competição dos microorganimos presentes nele. O hidróxido de cálcio, age através da liberação de íons promovendo a formação de tecido duro, inibindo o crescimento bacteriano. Já o hidróxido de sódio, tem como mecanismo de ação promover o aumento do pH.

3. HIPÓTESES DA PESQUISA

H1: Os produtos, hidróxido de cálcio, alginato de sódio, *BS* e hidróxido de sódio, quando administrados na cama-de-frango reduzem o número mais provável de SM.

H2: Não há diferenças significativas entre os produtos administrados, hidróxido de cálcio, alginato de sódio, *Bacillus subtilis* na cama em relação à presença de SM

H3: Os produtos administrados aumentam os índices de pH da cama aviária.

H4: Os produtos administrados na cama aviária diminuem a umidade.

H5: Todos os produtos administrados reduzem o índice de nitrogênio na cama aviária.

4. MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado em um núcleo de matrizes de corte, situado no oeste do Paraná, com capacidade de alojamento de 300 mil aves em fase de recria e produção de ovos férteis. No momento da pesquisa estavam alojadas 40.000, da Linhagem Ross, de 46 semanas de idade. O material utilizado para compor a cama de aves era maravalha de eucalipto e a cama de aves possuía 24 semanas de uso. A cama utilizada foi analisada no laboratório Mercolab Cascavel antes de iniciar o experimento, para verificar a presença de *Salmonella* spp. e o resultado foi negativo.

4.1 Coleta de amostras

Foi coletada uma amostra de cama de aviário de matrizes pesadas que abrigava um lote com 46 semanas de idade. A cama foi previamente tratada com hidróxido de cálcio na dose de 1,4 kg/m², 15 dias antes do início dos testes.

A coleta da cama de aviário foi feita segundo método recomendado pelo Guia de Coleta e Envio de Materiais para o Diagnóstico Laboratorial (BACK et al., 2009). De acordo com esse método coleta-se pelo menos 25 gramas do material em 10 pontos do aviário. O material coletado deve ser acondicionado em embalagem estéril aprovada pelo Laboratório. Após fechar a embalagem, elas devem ser identificadas e mantidas em refrigeração para o envio até o laboratório. No caso do presente trabalho, as amostras de cama foram divididas em 4 amostras de 300 gramas cada, conforme recomendado por Back et al., (2009).

4.2 Delineamento e tratamentos

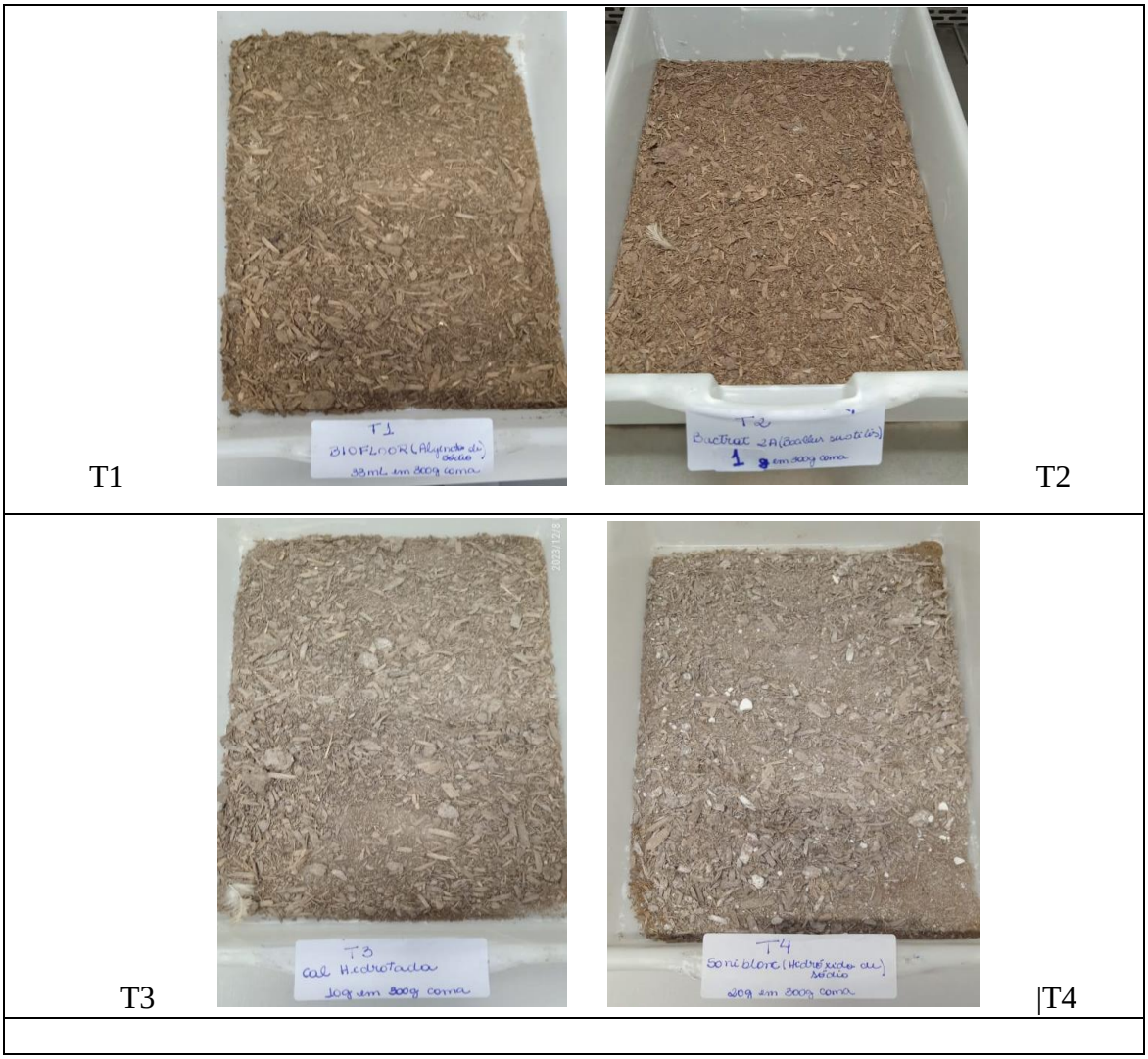
Utilizou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado (DIC) definido por cinco tratamentos e seis repetições para as análises microbiológicas (Figura 1). Já para as análises físico-químicas utilizou-se quatro tratamentos e quatro repetições (Tabela 1).

Após a homogeneização, as amostras de cama de aviário foram tratadas com os produtos 1, 2, 3 e 4 com as seguintes dosagens: Tratamento 1 (T1) - Alginato de Sódio –

diluição de 10 mL do produto em 1L de água. Com a solução pronta foram aplicados, 33 mL da solução na cama de aviário. Tratamento 2 (T2) - *Bacillus subtilis* – aplicação de 1g do produto com borrifamento de água para obtenção de 20% de umidade. Tratamento 3 (T3) – Hidróxido e cálcio – aplicação de10g do produto na cama de aviário e tratamento 4 (T4) - Hidróxido de sódio – aplicação de 20g do produto na cama de aviário (ISO 6579-2:2012).

Os produtos selecionados nos tratamentos T1, T3 e T4 ficaram agindo na amostra durante seis horas. Para o tratamento T2, o produto ficou agindo por 72h, conforme orientação do fabricante (Figura 1).

Figura 1 – Amostras de cama após a aplicação dos tratamentos



Tratamentos - T1: Alginato de sódio 61% e excipientes. T2: Bacillus subtilis, Bacillus licheniformis *Bacillus amyloliquefaciens*), Bacillus cereus, Lactococcus lactis ssp. Lactis, Bicarbonato de sódio, Cloreto de sódio e Farelo de trigo; T3: Hidróxido de cálcio e T4: Hidróxido de sódio.

Na sequência, a *Salmonella* Minnesota (SM) foi repicada em meio de cultura para o crescimento de uma variedade de microrganismos - caldo BHI (Cérebro-Coração-Infusão). O caldo foi incubado a 36+/-1ºC por 18-24h. No dia seguinte, seguindo as recomendações previstas nas normas da ISO, foram realizadas as contaminações das amostras de cama de aviário, separadamente com 3mL de cultura de SM $1{,}0x10^9$ UFC/ml, com o objetivo de atingir uma contaminação sobrevivente esperada de $1{,}0x10^6$ UFC por grama de amostra de cama. Todas as amostras foram analisadas para pH, umidade, proteína bruta (Nome da técnica) e nitrogênio, conforme metodologia descrita por Queiroz (2005). no Laboratório de análises de alimentos e nutrição animal da Universidade Estadual de Maringá (LANA/UEM) com os mesmos tratamentos e quantidade de amostra de cama de aviário.

4.3 Metodologias de análises microbiológicas

Para as análises microbiológicas, as amostras coletadas foram avaliadas com umidade e temperatura controladas pelo laboratório Mercolab unidade de Cascavel. Foi realizada a contagem de microrganismos nas amostras de cama de Controle negativo (CN). Os tratamentos foram constituídos por um controle negativo (CN) e 4 tratamentos descritos na tabela 1.

Tabela 1 – Tratamentos utilizados no experimento, dosagens, tipo de produto e tempo de contato em horas.

Tratamento/Princípio ativo	**Dosagem recomendada**	**Tipo de produto**	**Tempo de contato (em horas)**
T1 - Alginato de sódio 61% e excipientes	1L de produto/1000L de água: 1ml da solução/m²	Sequestrante de umidade de amônia	6h
T2 - *Bacillus subtilis, Bacillus licheniformis Bacillus amyloliquefaciens, Bacillus cereus, Lactococcus lactis ssp. Lactis*, Bicarbonato de	5kg de produto/2400m²	Modulador biológico ambiental	24h

sódio, Cloreto de sódio e Farelo de trigo			
T3 - Hidróxido de cálcio	600g/m²	Promove redução da umidade	6h
T4 - Hidróxido de sódio	300 g/m²	Promove aumento do Ph	6h

O procedimento seguinte foi a inoculação da bactéria *Salmonella* Minnesota nos quatro tratamentos. O T1 foi realizado por aspersão (produto líquido) diretamente na cama. O produto líquido foi aspergido com auxílio de um borrifador manual. Os outros tratamentos foram realizados por polvilhamento diretamente na cama. O T2 foi polvilhado diretamente na cama e borrifado 20mL de água estéril para ficar com umidade de 20%, foi esperado 72 horas do tratamento para aplicar a contaminação com SM.

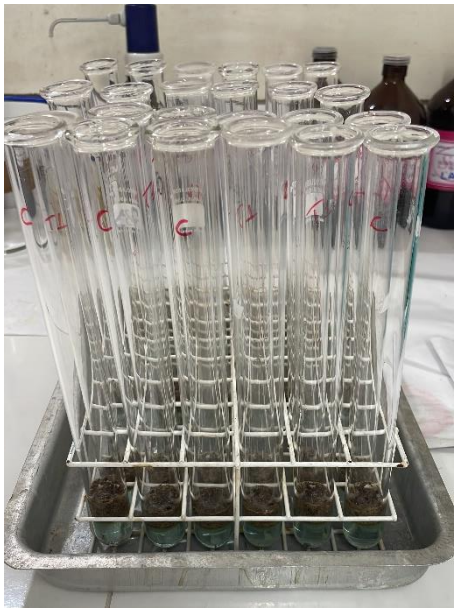
Após os tratamentos e contaminações as amostras foram mantidas em temperatura ambiente até o término do teste (6 horas) e o T2 ficou até o término do teste (24 horas) (Tabela 2). A amostra utilizada como CN (amostra de 300g de cama de aves contaminada com SM e sem adição de qualquer do produto), foi preparada e analisada em paralelo, nas mesmas condições em que foram analisadas as amostras tratadas. A amostra utilizada como CN (amostra de 300g de cama de matriz sem contaminação alguma), foi preparada e analisada em paralelo, nas mesmas condições em que foram analisadas as amostras tratadas.

As análises microbiológicas foram realizadas de acordo com a metodologia descrita na norma ISO 6579-2:2012 (NBR 6579, 2012), a partir do método horizontal de microbiologia de alimentos e ração animal e pelo método de soro tipificação. Além desses métodos, utilizou-se a metodologia adaptada pelo laboratório Mercolab Cascavel para a técnica de determinação do número mais provável de bactérias (NMP) (ISSO 6579-2:2012). Como complemento para a soro tipificação utilizou-se a PORTARIA Nº 126, DE 03 DE NOVEMBRO DE 1995 (MAPA) (BRASIL, 1995).

4.3 Metodologias de análises físico-químicas

Foram realizadas análises de nitrogênio, proteína bruta, umidade, matéria seca e pH. Para análise de nitrogênio e proteína bruta utilizou-se a metodologia de Kjehdahl (método N-0001/2) (AUGUSTO DE SOUZA; SAMPAIO BATISTA; VALENTE NEVES PEREIRA, 2012) (Figura 2).

Figura 2 – Amostras de cama de aviário com a diluição dos produtos/tratamentos e solução digestora.



Fonte: Arquivo Pessoal (2023).

Para a análise de matéria seca, utilizou-se a metodologia de secagem em estufa sem ventilação forçada de ar (método G-003/1)(AUGUSTO DE SOUZA; SAMPAIO BATISTA; VALENTE NEVES PEREIRA, 2012) (Figura 3).

Figura 3 – Amostras de cama de aviário para análise de matéria-seca

Fonte: Arquivo Pessoal (2023).

4.4 Análise estatística

Inicialmente os dados físico-químicos da cama de aviário (% de proteína bruta, nitrogênio, matéria seca e pH) foram analisados utilizando-se de técnicas de estatística descritiva, entre essas, a verificação de valores médios, máximos, mínimos e desvio padrão. Com esse procedimento pode-se verificar as características físico-químicas gerais das amostras de cama de aviário analisadas. Em seguida foram verificadas a normalidade destes dados, a partir do teste de Shapiro-Wilk e a homogeneidade de variâncias pelo teste de Levene. Esses procedimentos foram utilizados para a escolha do teste estatístico mais adequado quando da verificação de igualdade entre de valores médios a serem testados. As amostras – Controle e T1 a T4 foram comparadas entre si, utilizando-se da Análise de Variância (ANOVA).A análise estatística foi realizada empregando-se o programa computacional Jamovi v. 2.3.28 (JAMOVI, 2022).

Os resultados microbiológicos foram emitidos pelo laboratório Mercolab Cascavel por meio de relatório de ensaio conforme o padrão do laboratório, creditado pela ISO 17025.

5 RESULTADOS

5.1 Análise microbiológica

Os tratamentos T1, T2, T3, T4 e T5 não reduziram a SM, quando comparados ao controle positivo. Os resultados obtidos demostram que o produto hidróxido de sódio do T4, na dosagem avaliada, foi capaz de reduzir a quantitativa e qualitativamente a contaminação de *Salmonella* Minnesota na cama de aviário, quando comparado com o controle positivo (Tabela 3).

Além disso, foi possível observar que o produto do T1 demonstrou resultados quantitativos inferiores, quanto a sua eficácia para a inibição da S. Minnesota. Em apenas uma das seis amostras (T1-2) observou-se diferença em relação ao controle positivo (Tabela 2). Já os tratamentos T2 e T3 demonstraram diferença em relação ao controle positivo, sendo mais acentuada no tratamento T3, com hidróxido de cálcio (Tabela 2).

Tabela 2 – Avaliação microbiológica da cama de aviário após utilização dos produtos testados em cada tratamento (T1 a T4)

Tratamentos	Tratamento/ Repetições	NMP de SM (NMP/g)	Presença/ausência de SM
T1 - Alginato de Sódio e 61% de exipientes*	T1 – 1	>1.100	Presença
	T1 – 2	1.100	Presença
	T1 – 3	>1.100	Presença
	T1 – 4	>1.100	Presença
T2 - Bacillus subtilis, Bacillus licheniformis Bacillus amyloliquefaciens, Bacillus cereus, Lactococcus lactis ssp. Lactis, Bicarbonato de sódio, Cloreto de sódio e Farelo de	T2 – 1	43	Presença
	T2 – 2	93	Presença
	T2 – 3	75	Presença
	T2 – 4	1.100	Presença

trigo**			
T3 – Hidróxido de cálcio*	T3 – 1	20	Presença
	T3 – 2	43	Presença
	T3 – 3	23	Presença
	T3 – 4	93	Presença
T4 - Hidróxido de sódio*	T4 – 1	< 3,0	Ausência
	T4 – 2	< 3,0	Ausência
	T4 – 3	< 3,0	Ausência
	T4 – 4	< 3,0	Ausência
T5 – Controle Negativo*	T5 – 1	< 3,0	Ausência
	T5 – 2	< 3,0	Ausência
	T5 – 3	< 3,0	Ausência
	T5 – 4	< 3,0	Ausência
T6 - Controle positivo*	T6 – 1	>1.100	Presença
	T6 – 2	>1.100	Presença
	T6 – 3	>1.100	Presença
	T6 – 4	>1.100	Presença
Titulação da *Salmonella* Minnesota	$2,0 \times 10^9$ UFC/Ml		

* Tempo de contato = 6 horas; ** Tempo de contato = 24 horas. NMP/g: Número Mais Provável de colônia por grama de amostra. UFC/mL: unidade formadora de colônia por mililitro. SM: *Salmonella* Minnesota.

5.2 Análise físico-química

As análises de normalidade e homogeneidade para as características físico-químicas das amostras de cama de aviário indicaram que as variáveis %N; %PB e pH apresentaram distribuição normal e igualdade de variância. E que as variáveis %MS e %Umidade apresentaram distribuição assimétrica e variâncias desiguais. Desta forma, o primeiro conjunto foi avaliado a partir de teste de média paramétrico – Tukey e o segundo pelo teste não paramétrico – Games-Howell (FIELD, 2009)

Tabela 3 – Resultados das análises físico-químicas de nitrogênio, proteína bruta, pH, matéria seca e umidade

Tratamento	Média	Desvio Padrão	Valor de P
N%*			
Controle	1,67 a	0,1519	0,008
T1	1,44 b	0,0803	
T2	1,49 b	0,0808	
T3	1,46 b	0,0640	
T4	1,34 b	0,0705	
PB%*			
Controle	10,44 a	0,9492	0,008
T1	8,99 b	0,5017	
T2	9,31 b	0,5048	
T3	9,11 b	0,4000	
T4	8,35 b	0,4406	
Ph*			
Controle	9,15 d	0,0608	<0,001
T1	9,16 d	0,0935	
T2	9,43 c	0,1673	
T3	9,50 b	0,1662	
T4	12,41a	0,0361	
Matéria seca**			
Controle	67,02 b	1,1024	<0,001
T1	60,29 b,b	4,5374	
T2	66,24 b,b	0,7004	
T3	69,33 b,a	1,7967	
T4	70,94 a,a	0,9343	
Umidade**			
Controle	32,98 a	1,1024	<0,001
T1	39,71 a,a	4,5374	
T2	33,76 a,a	0,7004	
T3	30,67 a,b	1,7967	
T4	29,06 b,b	0,9343	

* Teste de Tukey; ** Teste de Games-Howell.Descrever que as letras são das colunas aqui no rodapé. Padronizar as letras (números maiores (a) e números menores (b) e Maiores e Menores Tukey e Games.

Quando comparamos os tratamentos ao CN, a partir da % N, foi possível observar que o todos os tratamentos apresentaram diferença ($p<0,05$). Sendo a maior delas entre o controle e o T4. Entre os tratamentos não houve diferenças estatísticas (Tabela 3).

Para PB, todos os tratamentos apresentaram diferença em relação ao CN ($p<0,05$). Entre os tratamentos não se observou diferenças ($p>0,05$) (Tabela 3).

Ao observarmos os dados do indicador pH, apenas o T1 ou o alginato de sódio (qualquer um dos dois) não apresentou diferença em relação ao controle ($p>0,05$). Quando comparamos o T1 em relação aos demais, observou-se diferença em relação aos tratamentos 2, 3 e 4 ($p<0,05$). O tratamento 2, obteve diferença em relação ao T4. E o T3 apresentou resultado distinto quando comprado ao T4 (Tabela 3).

Para índice de matéria seca, o controle foi diferente apenas do tratamento 4 ($p<0,05$). O tratamento 1 foi diferente dos tratamentos 3 e 4 ($p>0,05$). E o tratamento 2 foi diferente do tratamento 4 ($p>0,05$). Nas demais interações não foram observadas diferenças para a % de MS (Tabela 3).

Os resultados dos índices de umidade indicaram que o controle foi diferente apenas do tratamento 4 ($p<0,05$). Entre os tratamentos observou-se diferenças de T1 para T3 e T4 e entre o tratamento 2 e os tratamentos T3 e T4 ($p<0,05$) (Tabela 3).

6 DISCUSSÃO

O trabalho em questão buscou comparar diferentes tipos de tratamento para cama de aviário, visando solucionar um problema de campo que é a presença de *Salmonella* spp. no ambiente durante o tempo de vida da ave alojada. Além disso, correlacionar os resultados microbiológicos com físico-químicos diante dos mecanismos de ação de cada tratamento avaliado. Em nossos resultados observamos diminuição da bactéria *S.* Minnesota o tratamento da cama de aviário com produto a base de *Bacillus subtilis*, em T2 e T3 com 43, 93 e 75 NMP/g, em relação ao controle de > 1.100 NMP/g. Esses resultados corroboram com aqueles de outro estudo, também em que foi utilizado produto a base de *Bacillus subtilis*, na dose de 2,5g/m² e 5,0g/m² de cama com 3, 10, 17, 24 e 31

dias de uso da cama para tratamento de cama de matrizes de frango de corte de 58 semanas de idade. Os autores observaram diminuição em 12,9% da quantidade de enterobactérias após a aplicação do produto (ROLL et al., 2008).

Kaefer et al., (2022) realizaram estudo utilizando o *Bacillus subtilis* para a avaliação de cama de frangos de corte nova, com 21, 35 e 47 dias de idade das aves. Antes de iniciar os tratamentos, foram realizados testes no aviário de controle negativo, onde não havia tratamento com o produto e no aviário de controle positivo, ambos não apresentaram positividade para *Salmonella* spp. Logo, no decorrer do estudo, em diferentes idades das aves, os autores observaram redução de 10% na quantidade de amostras positivas do aviário, com tratamento em relação tratamento controle. Além disso, ao avaliar o ceco das aves, os autores identificaram 12 positividades. Já na cama com tratamento foi observado positividade para *Salmonella* spp. Os resultados encontrados por Kaefer et al., (2022), corroboram com aqueles obtidos neste experimento, já que, o número de *S.* Minnesota foi menor quando a cama havia sido tratada pelo produto em questão.

Oliveira; Ferreira; Cancherini, (2004) ao testarem o efeito de alcalinizante, a base de carbonato de cálcio do calcário, a 20%. Os autores concluíram que para a *Escherichia coli* houve redução de contaminação nos 3 dias após aplicação e para a *Salmonella* Infantis, nos 2 dias após a aplicação. Logo, não se considerou sua utilização indicada quando o uso for a longo prazo, pois as bactérias voltaram a integrar a cama após o período mencionado (Oliveira; Ferreira e Cancherini, 2004). Quando comparamos com o hidróxido de cálcio utilizado no presente estudo, este resultou na redução de níveis consideráveis de *Salmonella* Minnesota conforme os resultados obtidos.

Em um outro estudo, de Medeiros et al., (2008), quando compararam vários tratamentos em cama de aviário de frango de corte, identificaram que o carbonato de sódio, aumentou os níveis de volatização de amônia em 41%, o que corrobora com o resultados obtidos quando utilizamos o princípio ativo de alginato de sódio, que reduziu o índice de nitrogênio, que em contato com o hidrogênio da matéria prima, torna-se amônia, sendo $p<0,05$.

Ao comparar tratamentos em cama aviária com sulfato de cálcio, hidróxido de cálcio, sulfato de alumínio, sulfato de cálcio + filossilicato e testemunha, Lucca et al., (2012) encontraram eficiência na absorção da umidade em todos os tratamentos utilizados

quando compararam ao controle. Porém, como os produtos foram aplicados uma única vez e a medição foi realizada a cada sete dias, houve diferença nas duas primeiras semanas e após o crescimento das aves. Portanto, não foi possível obter resultados significativos em relação a redução da umidade com o uso dos tratamentos (LUCCA et al., 2012). Tal resultado é semelhante ao obtido quando utilizamos o tratamento com alginato de sódio do presente estudo.

(LOCH et al., 2011), avaliaram cama aviária com tratamento de cal virgem (0,5kg/m²), quanto a umidade (%), densidade (kg/m²), amônia volatilizada (ppm), comparado a outros tratamentos e o controle. Ao avaliar a umidade, não se observou diferenças entre os tratamentos. Esses resultados corroboram com aqueles desta pesquisa, quando consideramos que o percentual de nitrogênio não apresentou diferenças em relação à cal virgem e aos demais tratamentos e ao controle para a redução da *Salmonella* Minnesota.

Em um experimento, ao testar o hidróxido de cálcio, em relação eficiência quanto á sobrevivência da *Salmonella* Enteritidis, com a adição de 5, 10 e 20% em cama de frango de corte de 6 semanas de idade, quando avaliaram o pH, conforme as concentrações de cal hidratada eram aumentadas, o mesmo acontecia com o valor de pH, sendo o mais alto com 12, 57. O efeito do produto perante a *Salmonella* foi positivo, pois, os autores encontraram baixa quantidade de bactérias na cama, após administração do produto ≤ 3 log10 UFC/g (MIRAGLIOTTA, 2019).

Ao utilizar um tratamento com hidróxido de cálcio (cal virgem), no tratamento de cama de aviário de um lote de frango de corte, realizando uma contaminação do meio através de pintinhos de 10 dias de idade, VDIB (cepa de bronquite infecciosa) e VDNC (cepa da doença de New Castle). Após o sexto dia, as aves foram retiradas do experimento e foi aspergido *S.* Heidelberg sobre a cama aviária. A cama foi submetida aos seguintes tratamentos: T1 – fermentação plana (cama umedecida e coberta por lona), T2 – adição de cal/óxido de cálcio (600g/m² em repouso por 2 dias após aplicação), T3 – fermentação plana seguida de adição de cal (após realizado o T1, foi adicionado o T2, conferindo o T3), T4 – controle negativo, T5 – controle positivo (MIRAGLIOTTA, 2019).

Quando observados os resultados, a partir do sexto dia, os tratamentos T1 e T3 apresentaram níveis de amônia significativamente maiores que os demais tratamentos. Para o índice de pH, Miragliotta (2019), observou aumento nos tratamentos T2 e T3. Já

para matéria seca, nossos resultados indicaram que o T1 foi diferente dos tratamentos T3 e T4 e que o tratamento T4 apresentou diferença em relação ao controle.

Segundo o mesmo autor, a *S.* Heidelberg foi encontrada na cama aviária em todos os dias de avaliação e em todos os tratamentos. Ao observarmos o comportamento qualitativo da *S.* Minnesota que observamos em nossos resultados, ela se comporta igualmente á *S.* Heidelberg do trabalho relatado, exceto no tratamento T4, com hidróxido de sódio, que não foi encontrada após a cama ter sido tratada. Para os demais tratamentos, a bactéria permaneceu no meio. Ao comparar o índice de pH com os resultados deste autor, não houve diferença significativa entre o valor de pH dos tratamentos T2 e T3 em relação ao controle. Somente o tratamento T4 obteve valor de pH, em 12,41.

LOPES et al., (2013), ao testar tratamentos de cama de frango de corte com CaO (óxido de cálcio), em três diferentes substratos (casca de arroz, maravalha e uma mistura dos dois compostos), comparando três tipos de manejo na cama, houve diminuição da amônia ou nitrogênio no tratamento em que a cama foi envolvida diariamente juntamente com o produto administrado. Podendo estar relacionado ao fato que ao mexer a cama, o oxigênio é incorporado e a amônia diminui.

Além disso, quando olhamos para o pH da cama, foi observado um aumento entre 12 e 13. Desta forma, os autores, concluem que o uso do óxido de cálcio (cal virgem) reduz o número de bactérias presentes na cama, pois aumenta a temperatura e o pH. Ao compararmos com o experimento em questão, o valor de pH apenas aumentou no T4 quando comparado aos demais. Porém, no produto mais semelhante ao que foi utilizado no experimento relatado pelos autores, o pH não sofreu alterações significativas utilizando hidróxido de cálcio quando comparado ao controle.

Quando comparado um tratamento de hidróxido de cálcio (6 mg/m² + fermentação da cama) com o alginato de sódio na dose de 7ml/m2 e 10ml/m2, de 28 a 42 de vida em um aviário de frango de corte, o pH aumentou no nos 42 dias de 8 para 8,47 em todos os tratamentos avaliados. Já do dia 0 ao dia 21 o valor se manteve o mesmo. Sendo que, o pH tem relação com o aumento de amônia, devido á deposição de excrementos das aves ao longo dos dias (fezes e urina) (LOURENÇO et al., 2022). No presente trabalho, quando observado os valores de pH para o tratamento com alginato de sódio (T1) e hidróxido de cálcio (T3), sendo que o T3 apresentou um valor maior de pH quando comparado ao T1.

Além disso, segundo (LOURENÇO et al., 2022), a amônia foi aferida em todos os dias de experimento, nos três diferentes tratamentos estudados. Porém, não houve diferenças significativas. Adicionalmente, neste mesmo estudo, avaliou-se a umidade da cama após a aplicação dos três tratamentos mencionados. Logo, a umidade da cama foi reduzida significativamente após a aplicação do alginato de sódio, ($p<0,05$). O que corrobora com os resultados do experimento em questão, pois o T1 (alginato de sódio) se diferenciou quando comparado aos tratamentos T2 e T3. Porém, não houve diferença quando comparamos o T1 em relação ao controle.

7 CONCLUSÃO

Ao comparar os tratamentos utilizados no presente trabalho, pode-se concluir que o tratamento (T4) com hidróxido de sódio, impactou no indicador *Salmonella* Minnesota tornando a amostra negativa mesmo após a inoculação da bactéria. Logo, quando observamos o índice de nitrogênio/amônia na cama aviária, observamos que o tratamento (T1) com alginato de sódio, diminuiu significativamente estes indicadores.

Para os números de pH, o tratamento T4 também se destacou, diferenciando este número em relação ao controle utilizado no experimento. Isto deve-se ao fato, da bactéria não sobreviver com um pH alto, conforme ação do produto.

8 REFERÊNCIAS

ABPA. **ABPA RELATÓRIO ANUAL 2024**.

ALIKHAN, N. F. et al. Dynamics of Salmonella enterica and antimicrobial resistance in the Brazilian poultry industry and global impacts on public health. **PLoS Genetics**, v. 18, n. 6, 2 jun. 2022.

AUGUSTO DE SOUZA, M.; SAMPAIO BATISTA, C.; VALENTE NEVES PEREIRA, T. Métodos para análise de alimentos. **INCT - Ciência Aniaml**, 2012.

AVIAGEN. **Parent Stock - Management Handbook**. [s.l: s.n.].

BACK, A. et al. **Guia de Coleta e Envio de Materiais para o Diagnóstico Laboratorial** . 2.ed. ed. [s.l: s.n.].

BRASÃO, S. C. et al. Characterization and control of biofilms of Salmonella Minnesota of poultry origin. **Food Bioscience**, v. 39, p. 100811, 1 fev. 2021.

BRASIL. **MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO SECRETARIA DE DEFESA AGROPECUÁRIA: PORTARIA N° 126, DE 03 DE NOVEMBRO DE 1995.** [s.l: s.n.].

BRASILEIRA, E.; AGROPECUARIA -EMBRAPA, P. **CAMA DE AVIÁRIO: MATERIAIS, REUTILIZAÇÃO, USO COMO ALIMENTO E FERTILIZANTE**. [s.l: s.n.].

DE AVILA, S. V.; MAZZUCO, H.; DE FIGUEIREDO, P. A. E. **CAMA DE AVIÁRIO: MATERIAIS, REUTILIZAÇÃO, USO COMO ALIMENTO E FERTILIZANTE**. [s.l: s.n.].

DE TOLEDO, T. DOS S. et al. An assessment of the impacts of litter treatments on the litter quality and broiler performance: A systematic review and meta-analysis. **PLOS ONE**, v. 15, n. 5, p. e0232853, 6 maio 2020.

DORNELAS, K. C. et al. WITHDRAWN: Chicken bed: a review on reuse, treatment and influence on ambience. **Poultry Science**, out. 2020.

FIELD, ANDY. (ED.). **Descobrindo a estatística usando o SPSS**. 2nd ed. ed. [s.l.] Artmed, 2009.

FRANZ, M. R. et al. Composição química de cama de aviário condicionada com gesso agrícola ou cal virgem. **Acta Iguazu**, v. 9, n. 4, p. 24–32, 28 dez. 2020.

Jamovi . , 2022.

KAEFER, B. G. G. et al. BAC TRAT 2A® biological modulator performed well in the control of Salmonella sp. in production environment and digestive tract of broilers. **Biological Control**, v. 176, p. 105087, 1 dez. 2022.

LOCH, F. C. et al. Quality of poultry litter submitted to different treatments in five consecutive flocks. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 40, n. 5, p. 1025–1030, maio 2011.

LOPES, M. et al. Quicklime treatment and stirring of different poultry litter substrates for reducing pathogenic bacteria counts. **Poultry Science**, v. 92, n. 3, p. 638–644, 2013.

LOURENCO, M. C. et al. Effects of Bacillus subtilis in the Dynamics of Infiltration of Immunological Cells in the Intestinal Mucosa of Chickens Challenged with Salmonella Minnesota. **International Journal of Poultry Science**, v. 11, n. 10, p. 630–634, 15 set. 2012.

LOURENÇO, P. et al. **AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DO BIOFLOOR® EM DIFERENTES DOSAGENS NA QUALIDADE DA CAMA DE FRANGOS DE CORTE E NO CONTROLE DE SALMONELAS EM CAMAS ARTIFICIALMENTE CONTAMINADAS COM Salmonella Heidelberg**. [s.l: s.n.]. Disponível em: <www.polysell.com.br>.

LUCCA, W. et al. Efeito de diferentes tratamentos químicos em cama para aves de corte. **Revista Agrogeoambiental**, v. 4, n. 1, p. 25–31, 1 abr. 2012.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, P. E A. (MAPA). **Programa Nacional de Sanidade Avícola**.

OLIVEIRA, M. C.; FERREIRA, H. A.; CANCHERINI, L. C. Efeito de condicionadores químicos sobre a qualidade da cama de frango. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 56, n. 4, p. 536–541, ago. 2004.

PRA, M. A. D. et al. Uso de cal virgem para o controle de Salmonella spp. e Clostridium spp. em camas de aviário. **Ciência Rural**, v. 39, n. 4, p. 1189–1194, 6 mar. 2009.

PROCÓPIO, D. P.; LIMA, H. J. D. Avaliação conjuntural da avicultura no Brasil. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 3, p. e47932312, 1 jan. 2020.

ROLL, V. F. B. et al. Condição microbiológica de cama tratada com Impact P® em matrizes de frangos de corte. **Ciência Rural**, v. 38, n. 9, p. 2650–2653, dez. 2008.

ROSSETTO, J. et al. MANEJO DA CAMA AVIÁRIA. Em: **Suinocultura e Avicultura: Do Básico a Zootecnia de Precisão**. [s.l.] Editora Científica Digital, 2021. p. 216–228.

ROVID SPICKLER, A. **Salmonelose - Nontyphoidal Salmonellosis**. [s.l: s.n.]. Disponível em: <www.cfsph.iastate.edu>.

SHINOHARA, N. K. S. et al. Salmonella spp., importante agente patogênico veiculado em alimentos. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 13, n. 5, p. 1675–1683, out. 2008.

SILVA, D.; QUEIROZ, A. **Análises de alimentos - Métodos Químicos e Biológicos**. 3. ed. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa , 2005.

TEIXEIRA, A. et al. Poultry litter of wood shavings and/or sugarcane bagasse: animal performance and bed quality. **Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias**, v. 28, n. 3, 9 jul. 2015.

TEIXEIRA, S. A. **DESEMPENHO PRODUTIVO DE FRANGOS E QUALIDADE DAS CAMAS COMPOSTAS POR MARAVALHA E/OU BAGAÇO DE CANA DE AÇÚCAR**. Rio Verde: Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia, 2013.

VITALI DUMINELLI, M.; ILKA JACINTO SALVARO, G.; DE OLIVEIRA ESTEVAM, D. Avicultura e Sistemas Integrados: Cenário Brasileiro e Catarinense da Produção de Aves. **Desenvolvimento Socioeconômico em Debate**, v. 9, n. 1, p. 137–151, 6 jun. 2023.

WOLF, J. et al. Métodos físicos e cal hidratada para manejo do cascudinho dos aviários. **Ciência Rural**, v. 44, n. 1, p. 161–166, jan. 2014.

ANEXO 1: ARTIGO A SER SUBMETIDO NA REVISTA PESQUISA VETERINÁRIA BRASILEIRA

Eficiência de diferentes produtos no tratamento de cama de aviário de matrizes de corte inoculada com *Salmonella* Minnesota

Yasmin Martinelli Martini[1] Ferenc Istvan Bankuti[2]

Registro ORCID

ABSTRACT.- *Martini M. Y.[1] Bankuti I. F.[2] Efficiency of different products in the treatment of broiler breeder litter inoculated with Salmonella Minnesota. Pesquisa Veterinária Brasileira 41:00, 2021*. Departamento de Clínica Veterinária, Faculdade de Medicina e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Rua Prof. Doutor Walter Mauricio Correa s/n, Cx. Postal 560, Botucatu, SP 18618-681, Brazil E-mail: rogerio.amorim@unesp.br

Poultry litter is made up of material placed on the floor of the poultry house where the broiler breeders are housed. Usually, wood shavings or rice husks are used as poultry litter. During the time the birds are housed, feces, urine, water residue and particles of feed used to feed the birds are added to the litter. The accumulation of these materials in the litter favors the proliferation of various microorganisms, including *Salmonella* spp. *Salmonella* is a bacterium with high dissemination power that can cause major health problems for animals, humans and economic losses, resulting from reduced production and the impossibility of selling the animals. This study evaluated the effectiveness of calcium alginate, bacillus subtilis, hydrated lime and sodium hydroxide on the microbiological and physicochemical characteristics of poultry litter contaminated with *Salmonella* Minnesota (SM). To this end, four 300-gram samples of poultry litter were collected from 46-week-old broiler breeders. The poultry litter was previously treated with hydrated lime and the absence of SM was verified. The samples were treated with the following products: T1 - Sodium Alginate; T2 - *Bacillus subtilis*; T3 - Hydrated Lime and T4 - Sodium Hydroxide. For the microbiological analyses, a completely randomized experimental design was used, with four treatments and four replicates. For the physico-chemical analysis, four treatments were used and and four replicates. Treatments T1, T2 and T3 did not reduce SM when compared to the positive control. T4 quantitatively and qualitatively reduced *Salmonella* Minnesota contamination in poultry litter when compared to the positive control. For nitrogen, we observed differences between the control and all the treatments, with the difference being between the control and T4 ($p<0.05$). For crude protein, all the treatments showed a difference compared to the control ($p<0.05$), the most significant being T4 compared to the control. There were no differences between treatments ($p>0.05$). Looking at the pH indicator data, only treatment 1 showed no difference compared to the control ($p>0.05$). For the dry matter index, the control was only different from treatment 4 ($p<0.05$). The moisture index results indicated that the control was different only from treatment 4 ($p<0.05$). Thus, among the treatments analyzed in this research, T4 - Sodium hydroxide, proved to be the most efficient product for the quantitative and qualitative reduction of SM in poultry litter.

INDEX TERMS: poultry litter, *salmonella*, broiler breeder.

RESUMO. - A cama aviária é composta por material disposto no piso do aviário em que as matrizes de corte são alojadas. Normalmente utiliza-se como cama aviária a maravalha ou casca de arroz.

Durante o período de alojamento das aves, juntam-se à cama, fezes, urina, resíduos de água e partículas de ração utilizada na alimentação das aves. O acúmulo destes materiais na cama, favorece a proliferação de diversos microrganismos, entre esses, a *Salmonella* spp. A *Salmonella* é uma bactéria com alto poder de disseminação e que pode causar grandes problemas à saúde dos animais, do homem e prejuízos econômicos, decorrentes da redução da produção e impossibilidade de comercialização dos animais. Nesta pesquisa avaliou-se a eficiência do alginato de cálcio, *Bacillus subtilis*, hidróxido de cálcio e hidróxido de sódio nas características microbiológicas e físico-químicas de cama de aviário contaminada com *Samonella* Minnesota (SM). Para tanto, foram coletadas quatro amostras de 300 gramas de cama de aviário de matrizes de corte com 46 semanas de idade. A cama de aviário foi previamente tratada com hidróxido de cálcio e constatada a ausência de SM. As amostras foram tratadas com seguintes produtos: T1 - Alginato de Sódio; T2 - *Bacillus subtilis*; T3 – Hidróxido de cálcio e T4 - Hidróxido de sódio. Para as análises microbiológicas, utilizou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado (DIC) definido por quatro tratamentos e quatro repetições. Para as análises físico-químicas também foram utilizados quatro tratamentos e quatro repetições. Os tratamentos T1, T2 e T3 não reduziram a SM, quando comparados ao controle positivo. O T4 reduziu quantitativa e qualitativamente a contaminação de *Salmonella* Minnesota na cama de aviário, quando comparado com o controle positivo. Para o nitrogênio, observou-se diferenças entre o controle e todos os tratamentos, sendo maior a diferença entre o controle e o T4 ($p<0,05$). Para proteína bruta, todos os tratamentos apresentaram diferença em relação ao controle ($p<0,05$), sendo esta mais expressiva para o T4. Entre os tratamentos não se observou diferenças ($p>0,05$). Ao serem observados os dados do indicador pH, apenas para T1 não foi observada diferença em relação ao controle ($p>0,05$). Para índice de matéria seca, o controle foi diferente apenas para T4 ($p<0,05$). Os resultados dos índices de umidade indicaram que o controle foi diferente apenas de T4 ($p<0,05$). Desta forma, entre os tratamentos analisados nesta pesquisa, o T4 - Hidróxido de sódio, mostrou-se como o produto mais eficiente para a redução e microbiana e de parâmetros físico-químicos em cama de aviário contaminada com SM.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: cama de aviário, *Salmonella*, matriz de corte.

INTRODUÇÃO

A cama das aves caracteriza-se pelo material que está no galpão para servir de leito das aves. Ao longo da vida das aves, essa cama irá ser composta por restos de ração, penas e excrementos dos animais alojados, podendo ser detentora de diversos microrganismos indesejáveis para a saúde das aves, desempenho e indicadores zootécnico de produção, impactando na lucratividade da atividade (LUCCA et al., 2012). Entre os microrganismos presentes na cama de aviários encontra-se a Salmonella spp. Trata-se de uma bactéria com alto poder de disseminação e de grande importância para a saúde mundial. A Salmonella spp. têm sido considerada um dos maiores patógenos da avicultura, podendo causar severos danos às aves e surtos de intoxicações alimentares. Além dos problemas de ordem sanitária e de saúde pública, a Samonella spp. ocasiona impactos econômicos negativos, impossibilitando as exportações brasileiras de carne de aves (SHINOHARA et al., 2008).

Para o Brasil, importante produtor mundial de frangos, o controle sanitário da produção de aves de corte é fundamental para a manutenção da competitividade da cadeia produtiva de frangos brasileira. Atualmente, a cadeia avícola cresce cada vez mais no país. Em se tratando de matrizes produtoras de ovos férteis, em 2023 foram alojadas no país, mais de 60 milhões de cabeças. As exportações de pintos de um dia e de ovos férteis também foram significativas, sendo estas de 1.000 toneladas de pintos de um dia por ano e 14.000 ton de ovos férteis de galinha por ano (ABPA, 2024). Na exportação de carne de frango, dentre as unidades federativas brasileiras, entre 2013 a 2023 o Paraná foi o Estado com maior volume de carne comercializada no Brasil, representando 41,7% montante total exportado pelo país. Na sequência, os Estados com maiores volumes de exportação foram os de Santa Catarina e Rio Grande do Sul, com 22,0% e 14,8% respectivamente (ABPA, 2024).

Diante da importância econômica que a cadeia produtiva de aves de corte apresenta para o país e da necessidade de controle sanitário efetivo, buscou-se nesta pesquisa avaliar a eficiência do alginato de cálcio, bacillus subtilis, hidróxido de cálcio e hidróxido de sódio nas características microbiológicas e físico-químicas de cama de aviário contaminada com *Samonella* Minnesota (SM). Para tanto, foram definidas as seguintes hipóteses: H1: Os produtos, hidróxido de cálcio, alginato de sódio, bacillus subtilis e hidróxido de sódio, quando administrados na cama-de-frango reduzem o número mais provável de *S.* Minnesota; H2: Não há diferenças significativas entre os produtos administrados, hidróxido de cálcio, alginato de sódio, bacillus e alginato de sódio, na cama em relação à presença de *S*. Minnesota*;* H3: Os produtos administrados aumentam os índices de pH da cama aviária; H4: Os produtos administrados na cama aviária diminuem a umidade e H5: Todos os produtos administrados reduzem o índice de nitrogênio na cama aviária.

MATERIAIS E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado em um núcleo de matrizes de corte, situado no Oeste do Paraná, com capacidade de alojamento de 300 mil aves em fase de recria e produção de ovos férteis. No momento da pesquisa estavam alojadas 40.000, da Linhagem Ross, de 46 semanas de idade. O material utilizado para compor a cama de aves era maravalha de eucalipto e a cama de aves possuía 24 semanas de uso. A cama utilizada foi analisada no laboratório Mercolab antes de iniciar o experimento, para verificar a presença de *Salmonella* spp. e o resultado foi negativo.

Coleta de amostras. Foi coletada uma amostra de cama de aviário de matrizes pesadas que abrigava um lote com 46 semanas de idade. A cama foi previamente tratada com hidróxido de cálcio na dose de 1,4 kg/m^2, 15 dias antes do início dos testes.

A coleta da cama de aviário foi feita segundo método recomendado pelo Guia de Coleta e Envio de Materiais para o Diagnóstico Laboratorial (BACK et al., 2009)(BACK et al., 2009). De acordo com esse método coleta-se pelo menos 25 gramas do material em 10 pontos do aviário. O material coletado deve ser acondicionado em embalagem estéril aprovada pelo Laboratório. Após fechar a embalagem, elas devem ser identificadas e mantidas em refrigeração para o envio até o laboratório. No caso do presente trabalho, as amostras de cama foram divididas em 4 amostras de 300 gramas cada, conforme recomendado por Back et al., (2009).

Delineamento e tratamentos. Utilizou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado - DIC definido por quatro tratamentos e quatro repetições para as análises microbiológicas (Figura 1). Já para as análises físico-químicas utilizou-se quatro tratamentos e quatro repetições (Tabela 1).

Após a homogeneização, as amostras de cama de aviário foram tratadas com os produtos 1, 2, 3 e 4 com as seguintes dosagens: Tratamento 1 (T1) - Alginato de Sódio – diluição de 10 mL do produto em 1L de água. Com a solução pronta foram aplicados, 33 mL da solução na cama de aviário. Tratamento 2 (T2) - Bacillus subtilis – aplicação de 1g do produto com borrifamento de água para obtenção de 20% de umidade. Tratamento 3 (T3) – Hidróxido de cálcio – aplicação de10g do produto na cama de aviário e tratamento 4 (T4) - Hidróxido de sódio – aplicação de 20g do produto na cama de aviário (ISO 6579-2:2012).

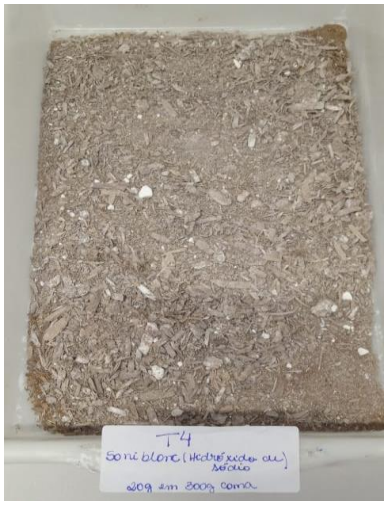
Os produtos selecionados nos tratamentos T1, T3 e T4 ficaram agindo na amostra durante seis horas. Para o tratamento T2, o produto ficou agindo por 72h, conforme orientação do fabricante (Figura 1).

Figura 1 – Amostras de cama após a aplicação dos tratamentos

T1

T2

T3



|T4

Tratamentos - T1: Alginato de sódio 61% e excipientes. T2: Bacillus subtilis, Bacillus licheniformis Bacillus amyloliquefaciens), Bacillus cereus, Lactococcus lactis ssp. Lactis, Bicarbonato de sódio, Cloreto de sódio e Farelo de trigo; T3: Hidróxido de cálcio e T4: Hidróxido de sódio.

Tabela 1: Tratamentos para as análises físico-químicas

Tratamentos	Tratamento/ Repetições	Tempo contato (em horas)
T1 - Alginato de Sódio e 61% de exipientes	T1 – 1	6h
	T1 – 2	
	T1 – 3	
	T1 – 4	
T2 - Bacillus subtilis, Bacillus licheniformis Bacillus amyloliquefaciens, Bacillus cereus, Lactococcus lactis ssp. Lactis, Bicarbonato de sódio, Cloreto de sódio e Farelo de trigo	T2 – 1	24h
	T2 – 2	
	T2 – 3	
	T2 – 4	
	T3 – 1	6h

T3 – Hidróxido de cálcio	T3 – 2	
	T3 – 3	
	T3 – 4	
T4 - Hidróxido de sódio	T4 – 1	6h
	T4 – 2	
	T4 – 3	
	T4 – 4	
T5 – Controle Negativo	T5 – 1	6h
	T5 – 2	
	T5 – 3	
	T5 – 4	
T6 - Controle positivo	T6 – 1	6h
	T6 – 2	
	T6 – 3	
	T6 – 4	

Na sequência, a *Salmonella* Minnesota (SM) foi repicada em meio de cultura para o crescimento de uma variedade de microrganismos - caldo BHI (Cérebro-Coração-Infusão). O caldo foi incubado a 36+/-1ºC por 18-24h. No dia seguinte, seguindo as recomendações previstas nas normas da ISO, foram realizadas as contaminações das amostras de cama de aviário, separadamente com 3mL de cultura de SM 1,0x109 UFC/ml, com o objetivo de atingir uma contaminação sobrevivente esperada de 1,0x106 UFC por grama de amostra de cama. Todas as amostras foram analisadas para pH, umidade, proteína bruta e nitrogênio, conforme metodologia descrita por Queiroz (2005).Queiroz (2005). no Laboratório de análises de alimentos e nutrição animal da Universidade Estadual de Maringá (LANA/UEM) com os mesmos tratamentos e quantidade de amostra de cama de aviário.

Metodologias de análises microbiológicas. Para as análises microbiológicas, as amostras coletadas foram avaliadas com umidade e temperatura controladas pelo laboratório - Mercolab. Foi realizada a contagem de microrganismos nas amostras de cama de Controle Negativo (CN). Após essa etapa, foram incorporados os produtos nas amostras de tratamento 1 (T1), tratamento 2 (T2), tratamento 3 (T3) e tratamento 4 (T4), conforme orientação de cada fabricante (Tabela 2).

Tabela 2 - Produtos comparados nos tratamentos.

Tratamento/Princípio ativo	**Dosagem recomendada**	**Tipo de produto**	**Tempo de contato (em horas)**
T1 - Alginato de sódio 61% e excipientes	1L de produto/1000L de água: 1ml da solução/m^2	Sequestrante de umidade de amônia	6h
T2 - Bacillus subtilis, Bacillus licheniformis Bacillus amyloliquefaciens, Bacillus cereus,	5kg de produto/2400m^2		24h

Lactococcus lactis ssp. Lactis, Bicarbonato de sódio, Cloreto de sódio e Farelo de trigo		Modulador biológico ambiental	
T3 - Hidróxido de cálcio	600g/m^2	Promove redução da umidade	6h
T4 - Hidróxido de sódio	300 g/m^2	Promove aumento do Ph	6h

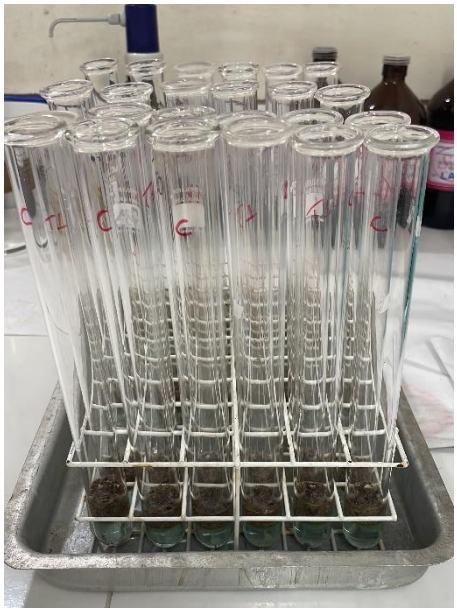
O procedimento seguinte foi a inoculação da bactéria *Salmonella* Minnesota nos quatro tratamentos. O tratamento T1 foi realizado por aspersão (produto líquido) diretamente na cama. O produto líquido foi aspergido com auxílio de um borrifador manual. Os outros tratamentos foram realizados por polvilhamento diretamente na cama. O tratamento T2 foi polvilhado diretamente na cama e borrifado 20mL de água estéril para ficar com umidade de 20%, foi esperado 72 horas do tratamento para aplicar a contaminação com SM.

Após os tratamentos e contaminações as amostras foram mantidas em temperatura ambiente até o término do teste (6 horas) e o T2 ficou até o término do teste (24 horas) (Tabela 2). A amostra utilizada como Controle (amostra de 300g de cama de aves contaminada com SM e sem adição de qualquer do produto), foi preparada e analisada em paralelo, nas mesmas condições em que foram analisadas as amostras tratadas. A amostra utilizada como Controle Negativo (amostra de 300g de cama de matriz sem contaminação alguma), foi preparada e analisada em paralelo, nas mesmas condições em que foram analisadas as amostras tratadas.

As análises microbiológicas foram realizadas de acordo com a metodologia descrita na norma ISO 6579-2:2012 (NBR 6579, 2012), a partir do método horizontal de microbiologia de alimentos e ração animal e pelo método de soro tipificação. Além desses métodos, utilizou-se a metodologia adaptada pelo laboratório Mercolab para a técnica de determinação do número mais provável de bactérias (NMP) (ISSO 6579-2:2012). Como complemento para a soro tipificação utilizou-se a PORTARIA Nº 126, DE 03 DE NOVEMBRO DE 1995 (MAPA) (BRASIL, 1995)(BRASIL, 1995).

Metodologias de análises físico-químicas. Foram realizadas análises de nitrogênio, proteína bruta, umidade, matéria seca e pH. Para análise de nitrogênio e proteína bruta utilizou-se a metodologia de Kjehdahl (método N-0001/2) (AUGUSTO DE SOUZA; SAMPAIO BATISTA; VALENTE NEVES PEREIRA, 2012)(AUGUSTO DE SOUZA; SAMPAIO BATISTA; VALENTE NEVES PEREIRA, 2012) (Figura 2).

Figura 2 – Amostras de cama de aviário com a diluição dos produtos/tratamentos e solução digestora.



Fonte: Arquivo Pessoal (2023).

Para a análise de matéria seca, utilizou-se a metodologia de secagem em estufa sem ventilação forçada de ar (método G-003/1)(AUGUSTO DE SOUZA; SAMPAIO BATISTA; VALENTE NEVES PEREIRA, 2012)(AUGUSTO DE SOUZA; SAMPAIO BATISTA; VALENTE NEVES PEREIRA, 2012)(Figura 3).

Figura 3 – Amostras de cama de aviário para análise de matéria-seca

Fonte: Arquivo Pessoal (2023).

Análise estatística. Inicialmente os dados físico-químicos da cama de aviário (% de proteína bruta, nitrogênio, matéria seca e pH) foram analisados utilizando-se de técnicas de estatística descritiva, entre essas, a verificação de valores médios, máximos, mínimos e desvio padrão. Com esse procedimento pode-se verificar as características físico-químicas gerais das amostras de cama de aviário analisadas. Em seguida foram verificadas a normalidade destes dados, a partir do teste de Shapiro-Wilk e a homogeneidade de variâncias pelo teste de Levene. Esses procedimentos foram utilizados para a escolha do teste estatístico mais adequado quando da verificação de igualdade entre de valores médios a serem testados. As amostras – Controle e T1 a T4 foram comparadas entre si, utilizando-se da Análise de Variância – ANOVA.

A análise estatística foi realizada empregando-se o programa computacional Jamovi v. 2.3.28 (JAMOVI, 2022)(JAMOVI, 2022).

Os resultados microbiológicos foram emitidos pelo laboratório Mercolab por meio de relatório de ensaio conforme o padrão do laboratório, acreditado pela ISO 17025.

RESULTADOS

Análise microbiológica

Os tratamentos T1, T2 e T3 não reduziram a SM, quando comparados ao controle positivo 3. De acordo com as condições realizadas, os resultados obtidos demostram que o produto hidróxido

de sódio do T4, na dosagem avaliada, foi capaz de reduzir a quantitativa e qualitativamente a contaminação de *Salmonella* Minnesota na cama de aviário, quando comparado com o controle positivo (Tabela 3).

Além disso, foi possível observar que o produto do T1 demonstrou resultados quantitativos inferiores, quanto a sua eficácia para a inibição da S. Minnesota. Em apenas uma das seis amostras (T1-2) observou-se diferença em relação ao controle positivo (Tabela 3). Já os tratamentos T2 e T3 demonstraram diferença em relação ao controle positivo, sendo mais acentuada no tratamento T3, com hidróxido de cálcio (Tabela 3).

Tabela 3 – Avaliação microbiológica da cama de aviário após utilização dos produtos testados em cada tratamento (T1 a T4)

Tratamentos	Tratamento/ Repetições	NMP de SM (NMP/g)	Presença/ausência de SM
T1 - Alginato de Sódio e 61% de exipientes*	T1 – 1	>1.100	Presença
	T1 – 2	1.100	Presença
	T1 – 3	>1.100	Presença
	T1 – 4	>1.100	Presença
T2 - Bacillus subtilis, Bacillus licheniformis Bacillus amyloliquefaciens, Bacillus cereus, Lactococcus lactis ssp. Lactis, Bicarbonato de sódio, Cloreto de sódio e Farelo de trigo**	T2 – 1	43	Presença
	T2 – 2	93	Presença
	T2 – 3	75	Presença
	T2 – 4	1.100	Presença
T3 – Hidróxido de cálcio*	T3 – 1	20	Presença
	T3 – 2	43	Presença
	T3 – 3	23	Presença
	T3 – 4	93	Presença
T4 - Hidróxido de sódio*	T4 – 1	< 3,0	Ausência
	T4 – 2	< 3,0	Ausência
	T4 – 3	< 3,0	Ausência
	T4 – 4	< 3,0	Ausência
T5 – Controle Negativo*	T5 – 1	< 3,0	Ausência
	T5 – 2	< 3,0	Ausência
	T5 – 3	< 3,0	Ausência
	T5 – 4	< 3,0	Ausência
T6 - Controle positivo*	T6 – 1	>1.100	Presença
	T6 – 2	>1.100	Presença

	T6 – 3	>1.100	Presença
	T6 – 4	>1.100	Presença
Titulação da *Salmonella* Minnesota	$2,0 \times 10^9$ UFC/mL		

* Tempo de contato = 6 horas; ** Tempo de contato = 24 horas. NMP/g: Número Mais Provável de colônia por grama de amostra. UFC/mL: unidade formadora de colônia por mililitro. SM: *Salmonella* Minnesota.

Análise físico-química

As análises de normalidade e homogeneidade para as características físico-químicas das amostras de cama de aviário indicaram que as variáveis %N; %PB e pH apresentaram distribuição normal e igualdade de variância. E que as variáveis %MS e %Umidade apresentaram distribuição assimétrica e variâncias desiguais. Desta forma, o primeiro conjunto foi avaliado a partir de teste de média paramétrico – Tukey e o segundo pelo teste não paramétrico – Gomes-Howell (FIELD, 2009)(FIELD, 2009)

Tabela 4 – Resultados das análises físico-químicas de nitrogênio, proteína bruta, pH, matéria seca e umidade

Tratamento	Média	Desvio Padrão	Valor de P
	N%*		
Controle	1,67 a	0,1519	
T1	1,44 b	0,0803	
T2	1,49 b	0,0808	0,008
T3	1,46 b	0,0640	
T4	1,34 b	0,0705	
	PB%*		
Controle	10,44 a	0,9492	
T1	8,99 b	0,5017	
T2	9,31 b	0,5048	0,008
T3	9,11 b	0,4000	
T4	8,35 b	0,4406	
	Ph*		
Controle	9,15 d	0,0608	
T1	9,16 d	0,0935	
T2	9,43 c	0,1673	<0,001
T3	9,50 b	0,1662	
T4	12,41a	0,0361	
	Matéria seca**		
Controle	67,02 b	1,1024	
T1	60,29 b,b	4,5374	
T2	66,24 b,b	0,7004	<0,001
T3	69,33 b,a	1,7967	
T4	70,94 a,a	0,9343	
	Umidade**		
Controle	32,98 a	1,1024	
T1	39,71 a,a	4,5374	<0,001
T2	33,76 a,a	0,7004	

T3	30,67 a,b	1,7967
T4	29,06 b,b	0,9343

* Teste de Tukey; ** Teste de Games-Howell.

Quando comparamos os tratamentos ao controle, a partir da % de nitrogênio, foi possível observar que o todos os tratamentos apresentaram diferença ($p<0,05$). Sendo a maior delas entre o controle e o T4. Entre os tratamentos não houve diferenças estatísticas (Tabela 4).

Para proteína bruta, todos os tratamentos apresentaram diferença em relação ao controle ($p<0,05$). Sendo a maior delas, para o T4. Entre os tratamentos não se observou diferenças ($p>0,05$) (Tabela 4).

Ao observarmos os dados do indicador pH, apenas o tratamento 1 não apresentou diferença em relação ao controle ($p>0,05$). Quando comparamos o tratamento 1 em relação aos demais, observou-se diferença em relação aos tratamentos 2, 3 e 4 ($p<0,05$). O tratamento 2, obteve diferença em relação ao T4. E o T3 apresentou resultado distinto quando comprado ao T4 (Tabela 4).

Para índice de matéria seca, o controle foi diferente apenas do tratamento 4 ($p<0,05$). O tratamento 1 foi diferente dos tratamentos 3 e 4 ($p>0,05$). E o tratamento 2 foi diferente do tratamento 4 ($p>0,05$). Nas demais interações não foram observadas diferenças para a % de MS (Tabela 4).

Os resultados dos índices de umidade indicaram que o controle foi diferente apenas do tratamento 4 ($p<0,05$). Entre os tratamentos observou-se diferenças de T1 para T3 e T4 e entre o tratamento 2 e os tratamentos T3 e T4 ($p<0,05$) (Tabela 4).

DISCUSSÃO

Em nossos resultados observamos diminuição da bactéria *S.* Minnesota o tratamento da cama de aviário com produto a base de *bacillus subtilis*, nos tratamentos, 2 e 3 com 43, 93 e 75 NMP/g, em relação ao controle de > 1.100 NMP/g. Esses resultados corroboram com aqueles de outro estudo, também em que foi utilizado produto a base de *bacillus subtilis*, na dose de 2,5g/m² e 5,0g/m² de cama com 3, 10, 17, 24 e 31 dias de uso da cama para tratamento de cama de matrizes de frango de corte de 58 semanas de idade. Os autores observaram diminuição em 12,9% da quantidade de enterobactérias após a aplicação do produto (ROLL et al., 2008)(ROLL et al., 2008).

Kaefer et al., (2022)Kaefer et al., (2022) realizaram estudo utilizando o *bacillus subtilis* para a avaliação de cama de frangos de corte nova, com 21, 35 e 47 dias de idade das aves. Antes de iniciar os tratamentos, foram realizados testes no aviário de controle negativo, onde não havia tratamento com o produto e no aviário de controle positivo, ambos não apresentaram positividade para *Salmonella* spp. Logo, no decorrer do estudo, em diferentes idades das aves, os autores observaram redução de 10% na quantidade de amostras positivas do aviário, com tratamento em relação tratamento controle. Além disso, ao avaliar o ceco das aves, os autores identificaram 12 positividades. Já na cama com tratamento foi observado positividade para *Salmonella* spp. Os resultados encontrados por Kaefer et al., (2022), corroboram com aqueles obtidos neste experimento, já que, o número de *S.* Minnesota foi menor quando a cama havia sido tratada pelo produto em questão.

Oliveira; Ferreira; Cancherini, (2004) ao testarem o efeito de alcalinizante, a base de carbonato de cálcio do calcário, a 20%. Os autores concluíram que para a *Escherichia coli* houve redução de contaminação nos 3 dias após aplicação e para a *Salmonella* Infantis, nos 2 dias após a

aplicação. Logo, não se considerou sua utilização indicada quando o uso for a longo prazo, pois as bactérias voltaram a integrar a cama após o período mencionado (Oliveira; Ferreira e Cancherini, 2004)(Oliveira; Ferreira e Cancherini, 2004). Quando comparamos com o hidróxido de cálcio utilizado no presente estudo, este resultou na redução de níveis consideráveis de *Salmonella* Minnesota conforme os resultados obtidos.

Em um outro estudo, de Medeiros et al., (2008), quando compararam vários tratamentos em cama de aviário de frango de corte, identificaram que o carbonato de sódio, aumentou os níveis de volatização de amônia em 41%, o que corrobora com o resultados obtidos quando utilizamos o princípio ativo de alginato de sódio, que reduziu o índice de nitrogênio, que em contato com o hidrogênio da matéria prima, torna-se amônia, sendo $p<0,05$.

Ao comparar tratamentos em cama aviária com sulfato de cálcio, hidróxido de cálcio, sulfato de alumínio, sulfato de cálcio + filossilicato e testemunha, Lucca et al., (2012) encontraram eficiência na absorção da umidade em todos os tratamentos utilizados quando compararam ao controle. Porém, como os produtos foram aplicados uma única vez e a medição foi realizada a cada sete dias, houve diferença nas duas primeiras semanas e após o crescimento das aves. Portanto, não foi possível obter resultados significativos em relação a redução da umidade com o uso dos tratamentos (LUCCA et al., 2012)(LUCCA et al., 2012). Tal resultado é semelhante ao obtido quando utilizamos o tratamento com alginato de sódio do presente estudo.

(LOCH et al., 2011)(LOCH et al., 2011), avaliaram cama aviária com tratamento de cal virgem (0,5kg/m^2), quanto a umidade (%), densidade (kg/m^2), amônia volatilizada (ppm), comparado a outros tratamentos e o controle. Ao avaliar a umidade, não se observou diferenças entre os tratamentos. Esses resultados corroboram com aqueles desta pesquisa, quando consideramos que o percentual de nitrogênio não apresentou diferenças em relação à cal virgem e aos demais tratamentos e ao controle para a redução da *Salmonella* Minnesota.

Em um experimento, ao testar o hidróxido de cálcio, em relação eficiência quanto á sobrevivência da *Salmonella* Enteritidis, com a adição de 5, 10 e 20% em cama de frango de corte de 6 semanas de idade, quando avaliaram o pH, conforme as concentrações de eram aumentadas, o mesmo acontecia com o valor de pH, sendo o mais alto com 12, 57. O efeito do produto perante a *Salmonella* foi positivo, pois, os autores encontraram baixa quantidade de bactérias na cama, após administração do produto ≤ 3 log10 UFC/g (MIRAGLIOTTA, 2019)(MIRAGLIOTTA, 2019).

Ao utilizar um tratamento com hidróxido de cálcio (cal virgem), no tratamento de cama de aviário de um lote de frango de corte, realizando uma contaminação do meio através de pintinhos de 10 dias de idade, VDIB (cepa de bronquite infecciosa) e VDNC (cepa da doença de New Castle). Após o sexto dia, as aves foram retiradas do experimento e foi aspergido *S.* Heidelberg sobre a cama aviária. A cama foi submetida aos seguintes tratamentos: T1 – fermentação plana (cama umedecida e coberta por lona), T2 – adição de cal/óxido de cálcio (600g/m^2 em repouso por 2 dias após aplicação), T3 – fermentação plana seguida de adição de cal (após realizado o T1, foi adicionado o T2, conferindo o T3), T4 – controle negativo, T5 – controle positivo (MIRAGLIOTTA, 2019)(MIRAGLIOTTA, 2019).

Quando observados os resultados, a partir do sexto dia, os tratamentos T1 e T3 apresentaram níveis de amônia significativamente maiores que os demais tratamentos. Para o índice de pH, Miragliotta (2019), observou aumento nos tratamentos T2 e T3. Já para matéria seca, nossos resultados indicaram que o T1 foi diferente dos tratamentos T3 e T4 e que o tratamento T4 apresentou diferença em relação ao controle.

Segundo o mesmo autor, a *S.* Heidelberg foi encontrada na cama aviária em todos os dias de avaliação e em todos os tratamentos. Ao observarmos o comportamento qualitativo da *S.* Minnesota que observamos em nossos resultados, ela se comporta igualmente á *S.* Heidelberg do trabalho relatado, exceto no tratamento T4, com hidróxido de sódio, que não foi encontrada após a cama ter

sido tratada. Para os demais tratamentos, a bactéria permaneceu no meio. Ao comparar o índice de pH com os resultados deste autor, não houve diferença significativa entre o valor de pH dos tratamentos T2 e T3 em relação ao controle. Somente o tratamento T4 obteve valor de pH, em 12,41.

LOPES et al., (2013)LOPES et al., (2013), ao testar tratamentos de cama de frango de corte com CaO (óxido de cálcio), em três diferentes substratos (casca de arroz, maravalha e uma mistura dos dois compostos), comparando três tipos de manejo na cama, houve diminuição da amônia ou nitrogênio no tratamento em que a cama foi envolvida diariamente juntamente com o produto administrado. Podendo estar relacionado ao fato que ao mexer a cama, o oxigênio é incorporado e a amônia diminui.

Além disso, quando olhamos para o pH da cama, foi observado um aumento entre 12 e 13. Desta forma, os autores, concluem que o uso do óxido de cálcio (cal virgem) reduz o número de bactérias presentes na cama, pois aumenta a temperatura e o pH. Ao compararmos com o experimento em questão, o valor de pH apenas aumentou no T4 quando comparado aos demais. Porém, no produto mais semelhante ao que foi utilizado no experimento relatado pelos autores, o pH não sofreu alterações significativas utilizando hidróxido de cálcio quando comparado ao controle.

Quando comparado um tratamento de hidróxido de cálcio (6 mg/m^2 + fermentação da cama) com o alginato de sódio na dose de 7ml/m2 e 10ml/m2, de 28 a 42 de vida em um aviário de frango de corte, o pH aumentou no nos 42 dias de 8 para 8,47 em todos os tratamentos avaliados. Já do dia 0 ao dia 21 o valor se manteve o mesmo. Sendo que, o pH tem relação com o aumento de amônia, devido á deposição de excrementos das aves ao longo dos dias (fezes e urina) (LOURENÇO et al., 2022)(LOURENÇO et al., 2022). No presente trabalho, quando observado os valores de pH para o tratamento com alginato de sódio (T1) e hidróxido de cálcio (T3), sendo que o T3 apresentou um valor maior de pH quando comparado ao T1.

Além disso, segundo (LOURENÇO et al., 2022)(LOURENÇO et al., 2022), a amônia foi aferida em todos os dias de experimento, nos três diferentes tratamentos estudados. Porém, não houve diferenças significativas. Adicionalmente, neste mesmo estudo, avaliou-se a umidade da cama após a aplicação dos três tratamentos mencionados. Logo, a umidade da cama foi reduzida significativamente após a aplicação do alginato de sódio, ($p<0,05$). O que corrobora com os resultados do experimento em questão, pois o T1 (alginato de sódio) se diferenciou quando comparado aos tratamentos T2 e T3. Porém, não houve diferença quando comparamos o T1 em relação ao controle.

CONCLUSÃO

Ao comparar os tratamentos utilizados no presente trabalho, pode-se concluir que o tratamento (T4) com hidróxido de sódio, impactou no indicador *Salmonella* Minnesota tanto quantitativamente quanto qualitativamente, tornando a amostra negativa mesmo após a inoculação da bactéria. Logo, quando observamos o índice de nitrogênio/amônia na cama aviária, observamos que o tratamento (T1) com alginato de sódio, diminuiu significativamente este número, conforme relatado pela ficha técnica do produto.

Para os números de pH, o tratamento T4 também se destacou, diferenciando este número em relação ao controle utilizado no experimento. Isto deve-se ao fato, da bactéria não sobreviver com um pH alto, conforme ação do produto.

Agradecimentos.- Primeiramente, agradeço à Deus, que tem conhecimento e sabedoria de todas as coisas.

Aos meus pais, que nunca mediram esforços para fazer o que fosse necessário pelo meu estudo e aprimoramento do meu conhecimento. Nunca foram contra minha escolha de profissão e sempre acreditaram no meu potencial.

Á UEM e todo o time de docentes que sempre me deram apoio, principalmente ao Prof Dr. Ferenc, meu orientador, e á Prof Dra. Simara, minha coorientadora neste projeto. Agradeço também ao laboratório LANA, da UEM, e ao laboratorista Ulisses, que me apoiou e me deu todo o suporte necessário na execução do experimento. Ao Prof Dr Merlini, que me concedeu o estágio docência.

Agradeço ao meu gestor do meu trabalho, Charles, que sempre me apoiou durante a decisão de cursar o mestrado e nunca abriu mão do que poderia fazer para me ajudar na conclusão e êxito.

Declaração de conflitos de interesses.- Os autores declaram que não houve conflito de interesses.

REFERÊNCIAS

ABPA. **ABPA RELATÓRIO ANUAL 2024**.

ALIKHAN, N. F. et al. Dynamics of Salmonella enterica and antimicrobial resistance in the Brazilian poultry industry and global impacts on public health. **PLoS Genetics**, v. 18, n. 6, 2 jun. 2022.

AUGUSTO DE SOUZA, M.; SAMPAIO BATISTA, C.; VALENTE NEVES PEREIRA, T. Métodos para análise de alimentos. **INCT - Ciência Aniaml**, 2012.

AVIAGEN. **Parent Stock - Management Handbook**. [s.l: s.n.].

BACK, A. et al. **Guia de Coleta e Envio de Materiais para o Diagnóstico Laboratorial** . 2.ed. ed. [s.l: s.n.].

BRASÃO, S. C. et al. Characterization and control of biofilms of Salmonella Minnesota of poultry origin. **Food Bioscience**, v. 39, p. 100811, 1 fev. 2021.

BRASIL. **MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO SECRETARIA DE DEFESA AGROPECUÁRIA: PORTARIA N° 126, DE 03 DE NOVEMBRO DE 1995.** [s.l: s.n.].

BRASILEIRA, E.; AGROPECUARIA -EMBRAPA, P. **CAMA DE AVIÁRIO: MATERIAIS, REUTILIZAÇÃO, USO COMO ALIMENTO E FERTILIZANTE**. [s.l: s.n.].

DE AVILA, S. V.; MAZZUCO, H.; DE FIGUEIREDO, P. A. E. **CAMA DE AVIÁRIO: MATERIAIS, REUTILIZAÇÃO, USO COMO ALIMENTO E FERTILIZANTE**. [s.l: s.n.].

DE TOLEDO, T. DOS S. et al. An assessment of the impacts of litter treatments on the litter quality and broiler performance: A systematic review and meta-analysis. **PLOS ONE**, v. 15, n. 5, p. e0232853, 6 maio 2020.

DORNELAS, K. C. et al. WITHDRAWN: Chicken bed: a review on reuse, treatment and influence on ambience. **Poultry Science**, out. 2020.

FIELD, ANDY. (ED.). **Descobrindo a estatística usando o SPSS**. 2nd ed. ed. [s.l.] Artmed, 2009.

FRANZ, M. R. et al. Composição química de cama de aviário condicionada com gesso agrícola ou cal virgem. **Acta Iguazu**, v. 9, n. 4, p. 24–32, 28 dez. 2020.

Jamovi . , 2022.

KAEFER, B. G. G. et al. BAC TRAT 2A® biological modulator performed well in the control of Salmonella sp. in production environment and digestive tract of broilers. **Biological Control**, v. 176, p. 105087, 1 dez. 2022.

LOCH, F. C. et al. Quality of poultry litter submitted to different treatments in five consecutive flocks. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 40, n. 5, p. 1025–1030, maio 2011.

LOPES, M. et al. Quicklime treatment and stirring of different poultry litter substrates for reducing pathogenic bacteria counts. **Poultry Science**, v. 92, n. 3, p. 638–644, 2013.

LOURENCO, M. C. et al. Effects of Bacillus subtilis in the Dynamics of Infiltration of Immunological Cells in the Intestinal Mucosa of Chickens Challenged with Salmonella Minnesota. **International Journal of Poultry Science**, v. 11, n. 10, p. 630–634, 15 set. 2012.

LOURENÇO, P. et al. **AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DO BIOFLOOR® EM DIFERENTES DOSAGENS NA QUALIDADE DA CAMA DE FRANGOS DE CORTE E NO CONTROLE DE SALMONELAS EM CAMAS ARTIFICIALMENTE CONTAMINADAS COM Salmonella Heidelberg**. [s.l: s.n.]. Disponível em: <www.polysell.com.br>.

LUCCA, W. et al. Efeito de diferentes tratamentos químicos em cama para aves de corte. **Revista Agrogeoambiental**, v. 4, n. 1, p. 25–31, 1 abr. 2012.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, P. E A. (MAPA). **Programa Nacional de Sanidade Avícola**.

OLIVEIRA, M. C.; FERREIRA, H. A.; CANCHERINI, L. C. Efeito de condicionadores químicos sobre a qualidade da cama de frango. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 56, n. 4, p. 536–541, ago. 2004.

PRA, M. A. D. et al. Uso de cal virgem para o controle de Salmonella spp. e Clostridium spp. em camas de aviário. **Ciência Rural**, v. 39, n. 4, p. 1189–1194, 6 mar. 2009.

PROCÓPIO, D. P.; LIMA, H. J. D. Avaliação conjuntural da avicultura no Brasil. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 3, p. e47932312, 1 jan. 2020.

ROLL, V. F. B. et al. Condição microbiológica de cama tratada com Impact P® em matrizes de frangos de corte. **Ciência Rural**, v. 38, n. 9, p. 2650–2653, dez. 2008.

ROSSETTO, J. et al. MANEJO DA CAMA AVIÁRIA. Em: **Suinocultura e Avicultura: Do Básico a Zootecnia de Precisão**. [s.l.] Editora Científica Digital, 2021. p. 216–228.

ROVID SPICKLER, A. **Salmonelose - Nontyphoidal Salmonellosis**. [s.l: s.n.]. Disponível em: <www.cfsph.iastate.edu>.

SHINOHARA, N. K. S. et al. Salmonella spp., importante agente patogênico veiculado em alimentos. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 13, n. 5, p. 1675–1683, out. 2008.

SILVA, D.; QUEIROZ, A. **Análises de alimentos - Métodos Químicos e Biológicos**. 3. ed. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa , 2005.

TEIXEIRA, A. et al. Poultry litter of wood shavings and/or sugarcane bagasse: animal performance and bed quality. **Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias**, v. 28, n. 3, 9 jul. 2015.

TEIXEIRA, S. A. **DESEMPENHO PRODUTIVO DE FRANGOS E QUALIDADE DAS CAMAS COMPOSTAS POR MARAVALHA E/OU BAGAÇO DE CANA DE AÇÚCAR**. Rio Verde: Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia, 2013.

VITALI DUMINELLI, M.; ILKA JACINTO SALVARO, G.; DE OLIVEIRA ESTEVAM, D. Avicultura e Sistemas Integrados: Cenário Brasileiro e Catarinense da Produção de Aves. **Desenvolvimento Socioeconômico em**

Debate

, v. 9, n. 1, p. 137–151, 6 jun. 2023.

WOLF, J. et al. Métodos físicos e cal hidratada para manejo do cascudinho dos aviários. **Ciência Rural**, v. 44, n. 1, p. 161–166, jan. 2014.

YAMAMOTO MIRAGLIOTTA, M. APLICAÇÃO DE CAL NA CAMA AVIÁRIA. 2019.

Legenda de figuras

Fig 1. Amostras de cama de aviário após a aplicação dos tratamentos. Maringá-PR/2024

Fig.2 – Amostra de cama de aviário com diluição dos produtos e solução digestora. Maringá-PR/2024

Fig.3 – Amostras de cama de aviário para análise de matéria seca. Maringá-PR/2024

Legenda de tabelas

Tab1. – Tratamentos para análises físico-químicas. Maringá-PR/2024

Tab2. – Produtos comparados nos tratamentos. Maringá-PR/2024

Tab 3. – Avaliação microbiológica da cama após a utilização dos protudos testados em cada tratamento (t1 a t4). Maringá-PR/2024

Tab.4 – Resultados das análises físico-químicas de nitrogênio, proteína bruta, ph, matéria seca e umidade. Maringá-PR/2024