

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL**  
**FACULDADE DE VETERINÁRIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

**EFEITO DO GÁS AMÔNIA EM CAMA AVIÁRIA CONTAMINADA COM**  
***SALMONELLA* HEIDELBERG E *EIMERIA* SPP**

**Cássio da Rosa**

**PORTO ALEGRE**  
**2021**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL**  
**FACULDADE DE VETERINÁRIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

**EFEITO DO GÁS AMÔNIA EM CAMA AVIÁRIA CONTAMINADA COM**  
***SALMONELLA HEIDELBERG E EIMERIA SPP***

**Autor: Cássio da Rosa**

**Dissertação apresentada como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Veterinárias na Área de Sanidade Avícola.**

**Orientador: Dr. Vladimir Pinheiro do Nascimento**

**Coorientador: Dr. Fernando Pilotto**

**PORTO ALEGRE**

**2021**

### CIP - Catalogação na Publicação

da Rosa, Cássio  
EFEITO DO GÁS AMÔNIA EM CAMA AVIÁRIA CONTAMINADA  
COM SALMONELLA HEIDELBERG E EIMERIA SPP / Cássio da  
Rosa. -- 2021.

92 f.

Orientador: Vladimir Pinheiro do Nascimento.

Coorientador: Fernando Pilotto.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do  
Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária, Programa  
de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Porto  
Alegre, BR-RS, 2021.

1. Gás Amônia. 2. Eimeria spp. 3. Salmonella  
Heidelberg . 4. Frangos de Corte. I. Pinheiro do  
Nascimento, Vladimir, orient. II. Pilotto, Fernando,  
coorient. III. Título.

**CÁSSIO DA ROSA**

**EFEITO DO GÁS AMÔNIA EM CAMA AVIÁRIA CONTAMINADA COM  
*SALMONELLA* HEIDELBERG E *EIMERIA* SPP**

**Aprovado em:**

**APROVADO POR:**

---

**Prof. Dr. Vladimir Pinheiro do Nascimento**

**Orientador e presidente da comissão**

---

**Prof. Dr. Hamilton de Souza Moraes**

**Membro da comissão**

---

**Prof. Dr. Thales Quedi Furian**

**Membro da comissão**

---

**Prof. Dr. Luciana Ruschel dos Santos**

**Membro da comissão**

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente à Deus por sempre estar iluminando e abençoando meu caminho, me dando oportunidades e forças para vencer os desafios e obstáculos.

Aos meus pais, João Batista e Fátima Eliéte por estarem comigo orientando e ajudando sempre a ser uma pessoa melhor, fazendo o correto, com humildade, honestidade e respeito às pessoas, de acordo com os princípios e valores da família.

A minha irmã, que sempre esteve ao meu lado apoiando, ajudando e sendo companheira.

Ao meu orientador Prof. Dr. Vladimir Pinheiro do Nascimento pela oportunidade de realizar um sonho, pela atenção de sempre, por seus ensinamentos e disponibilidade na orientação.

Ao meu coorientador Prof. Dr. Fernando Pilotto, o qual posso chamar de amigo, que nunca mediu esforços para auxiliar e ajudar no andamento do projeto. Obrigado pelos ensinamentos, disponibilidade e sabedoria na co-orientação.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias pela oportunidade de realização do Mestrado.

Ao CDSA da Universidade de Passo Fundo e aos funcionários por abrirem as portas do laboratório e me auxiliarem no andamento do projeto. Muito obrigado!

A todos que de alguma forma ajudaram e apoiaram, meu sincero agradecimento!

Agradeço as pessoas que participaram da minha formação acadêmica e profissional, e que contribuíram para o meu desenvolvimento ao longo dos anos.

## RESUMO

A avicultura brasileira está constantemente evoluindo na busca por ferramentas que possam contribuir no controle eficiente dos patógenos. Entre eles, destacam-se a *Salmonella* Heidelberg que vem gerando nos últimos anos prejuízos à saúde pública e a Coccidiose Aviária que reduz ganhos zootécnicos das aves. A reutilização da cama aviária é uma prática comum na produção avícola no Brasil, que busca reduzir os custos de produção e contribuir com o meio ambiente. Contudo, alguns dos métodos adotados atualmente na desinfecção de cama aviária não garantem a eliminação dos microrganismos patogênicos como Salmonelas e Eimerias. Diante disso, a pesquisa teve o objetivo de avaliar a eficiência do gás amônia na eliminação de *Salmonella* Heidelberg (experimento 1) e a capacidade de inibição da esporulação de oocistos de *Eimeria* spp. (experimento 2) em camas reaproveitadas e contaminadas artificialmente. Os experimentos foram realizados junto ao Centro de Diagnóstico e Pesquisa de Sanidade Animal (CDSA) da Universidade de Passo Fundo (UPF). No experimento 1, amostras de cama de aviário esterilizadas foram contaminadas com *Salmonella* Heidelberg e posteriormente submetidas ao tratamento com gás amônia nas concentrações de 0,25%, 0,5% e 1%. No experimento 2, amostras de cama de aviário esterilizadas foram contaminadas com oocistos de *Eimeria* spp. não esporulados e posteriormente submetidas ao tratamento com gás amônia nas concentrações de 0,2%, 0,4%, 0,8%, 1% e 1,2%. Tanto no experimento 1 como no 2, foram usados controles positivos e negativos. No experimento 1, nas amostras tratadas com 0,5% e 1% não houve isolamento de *Salmonella* Heidelberg, já na concentração de 0,25%, uma das 4 amostras testadas apresentou positividade. No experimento 2, todas as concentrações de gás amônia testadas foram eficientes na inibição de esporulação de oocistos de *Eimeria* spp. Os resultados obtidos demonstram que o gás amônia é eficaz na desinfecção de camas de aviário contaminadas por *Salmonella* Heidelberg e *Eimeria* spp. a partir da concentração de 0,5% e de 0,2%, respectivamente. Assim, a utilização de gás amônia poderá contribuir no controle de Salmonelas e Eimerias em cama de aviário reaproveitada, melhorando a segurança alimentar dos produtos avícolas através da redução dos patógenos e do uso de antimicrobianos na criação das aves.

Palavras-chave: Gás Amônia, *Eimeria* spp, *Salmonella* Heidelberg e Frangos de Corte.

## **ABSTRACT**

*The Brazilian poultry is in a constant evolution in the search for tools that may contribute to a pathogens efficient control. Among them, Salmonella Heidelberg is highlighted because it has been generating losses to the health service and Poultry Coccidiosis which reduces gains in animal performance. The reutilization of litter is a common practice in the Brazilian poultry production, which aims to reduce the production costs and contribute to the environment. Although, some methods currently used in the litter disinfection do not guarantee the elimination of microorganisms such as Salmonellas and Eimerias. To this, this research aimed to evaluate the efficiency of ammonia gas eliminating Salmonella Heidelberg (experiment 1) and its capacity to inhibit oocysts sporulation of Eimeria spp. (experiment 2) in reused and artificially contaminated poultry litter. The experiments were conducted at the Center of Diagnosis and Animal Research (CDSA, Portuguese initials) at University of Passo Fundo (UPF). In experiment 1, the samples of sterilized poultry litter were contaminated with Salmonella Heidelberg and after submitted to a treatment with ammonia gas in the concentrations of 0.25%, 0.5% and 1%. In experiment 2, the samples of sterilized poultry litter were contaminated with the unsporulated oocysts of Eimeria spp. And after submitted to a treatment with ammonia gas in the concentrations of 0.2%, 0.4%, 0.8%, 1% and 1.2%. In both experiments, positive and negative controls were used. In experiment 1, in the samples treated with 0.5% and 1% there was no Salmonella Heidelberg isolation, yet in the concentration of 0.25% one of the 4 tested samples was positive. In experiment 2, all the concentrations of ammonia gas tested were efficient to inhibit the oocyst sporulation of Eimeria spp. The results show that ammonia gas is effective of poultry litter contaminated with Salmonella Heidelberg and Eimeria spp. using as minimum concentration of 0.5% and 0.2%, respectively. Therefore, the use of ammonia gas will be able to contribute to the control of Salmonellas and Eimerias in reused poultry litter, improving food safety of poultry products through the reduction of pathogens and the use of antimicrobials in poultry production.*

*Key Words: Ammonia gas, Eimeria spp, Salmonella Heidelberg and broiler.*

## LISTA DE FIGURAS

<b>FIGURA 1</b> - Surtos e doentes por DTAs no Brasil (2009 – 2018) .....	16
<b>FIGURA 2</b> - Agentes Etiológicos - surtos de DTAs .....	17
<b>FIGURA 3</b> – Espécie e local de acometimento no trato gastrointestinal das aves .....	21
<b>FIGURA 4</b> - Diagrama representativo de saúde única .....	28
<b>FIGURA 5</b> - Doenças emergentes no mundo .....	29
<b>FIGURA 6</b> - Sistema de desinfecção de cama aviária com gás amônia controlado .....	33

## LISTA DE TABELAS

<b>CAPÍTULO I – TABELA 1-</b> Efeito desinfetante do gás amônia em diferentes concentrações em camas de aviário contaminadas com <i>Salmonella</i> Heidelberg.....	44
<b>CAPÍTULO II – TABELA 1-</b> Efeito desinfetante do gás amônia em diferentes concentrações em camas de aviário contaminadas com <i>Eimeria</i> spp.....	62

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABPA	Associação Brasileira de Proteína Animal
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CDC	Centro de Controle e Prevenção de Doenças
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
DTA	Doenças Transmitidas por Alimentos
EUA	Estados Unidos da América
FAO	Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura
FVE	Federação de Veterinários da Europa
g	grama
GSS	<i>Global Salm-Surv</i>
Kg	Quilograma
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
mg/L	Miligramas por Litro
NH <sub>3</sub>	Amônia
NH <sub>4</sub>	Amônio
OIE	Organização Mundial da Saúde Animal
pH	Potencial Hidrogeniônico
PHACASPC	Agência de Saúde Pública do Canadá
PNSA	Programa Nacional de Sanidade Avícola
ppm	Partes por Milhão
RASFF	Sistema de Alerta Rápido para Alimentos e Rações
SEADPR	Secretaria da Agricultura, Pecuária e Desenvolvimento Rural

SH	<i>Salmonella</i> Heidelberg
TON	Tonelada
UE	União Europeia
VBP	Valor Bruto da Produção Agropecuária
WHO	Organização Mundial da Saúde

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	11
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	13
<b>2.1</b>	<b>Gênero <i>Salmonella</i></b> .....	13
2.1.1	<i>Salmonella</i> Heidelberg, saúde pública e impacto econômico .....	14
2.1.2	Resistência aos antimicrobianos e aos desinfetantes .....	17
<b>2.2</b>	<b>Gênero <i>Eimeria</i> spp.</b> .....	20
2.2.1	Coccidiose Aviária e o impacto econômico .....	22
2.2.2	Resistência aos antimicrobianos e aos desinfetantes .....	23
2.2.3	Redução uso dos anticoccidianos e utilização de vacina de coccidiose .....	25
<b>2.3</b>	<b>Saúde Única</b> .....	27
2.3.1	Interação: Humano - Animal - Ambiente .....	28
<b>2.4</b>	<b>Reutilização de cama e os métodos de desinfecção</b> .....	30
2.4.1	Fermentação Plana .....	31
2.4.2	Fermentação Enleiramento.....	32
2.4.3	Adição de cal.....	32
2.4.4	Método lona superfície com injeção de amônia .....	32
<b>2.5</b>	<b>Amônia (NH<sub>3</sub>)</b> .....	34
2.5.1	Efeito antimicrobiano e anticoccidianos .....	35
<b>3</b>	<b>CAPÍTULO I</b> .....	37
<b>3.1</b>	<b>Efeito do gás amônia em cama aviária contaminada com <i>Salmonella Heidelberg</i></b> .....	38
	Resumo .....	39
	Introdução .....	40
	Materiais e Métodos .....	42

	Resultados e Discussões .....	44
	Referências .....	48
<b>4</b>	<b>CAPÍTULO II</b> .....	<b>54</b>
<b>4.2</b>	<b>Efeito do gás amônia em cama aviária contaminada com <i>Eimeria spp.</i></b> .....	<b>55</b>
	Resumo .....	56
	Introdução .....	58
	Materiais e Métodos .....	60
	Resultados e Discussões .....	62
	Referências .....	67
<b>5</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	<b>72</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>73</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A produção avícola brasileira coloca o país como o terceiro maior produtor de carne de frango do mundo, produzindo 13,2 milhões de ton de carne/ano, atrás apenas dos Estados Unidos e da China que produzem 19,9 e 17,7 milhões de toneladas, respectivamente. As regiões do Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul são responsáveis por produzir 64,3% da carne de frango do país e exportar 83,6% do volume total em 2019 (ABPA, 2019).

De acordo com a Secretaria da Agricultura do Rio Grande do Sul, a produção de carne de frango ocupa a segunda colocação no ranking baseado no Valor Bruto de Produção (VBP), atrás apenas da produção de soja. Com receita aproximada de R\$ 8 bilhões a produção de carne de frango representa 13% do VBP do estado no ano, o que representa o abate de 820 milhões de frangos, resultando na produção de aproximadamente 2 milhões de toneladas de carne. O Brasil é o líder em exportações de carnes de frangos de corte desde o ano de 2011 (SEAPDR, 2019).

O consumo per capita de carne de frango vem aumentando anualmente, chegando aos 42,8 kg de carne/habitante, tendo alguns fatores determinantes para este aumento como a qualidade da carne produzida e o seu preço no varejo (ABPA, 2019). Historicamente, a carne de frango possui preços mais acessíveis no mercado comparado as carnes de suínos e bovinos, fator importante que também vem influenciando diretamente no aumento do consumo, visto ainda os momentos de crise econômica que o Brasil atravessa nos últimos anos (COSTA; GARCIA; BRENE, 2015).

A principal característica dos sistemas produtivos avícolas no Brasil é a eficiência produtiva, obtida através da sinergia dos programas de melhoramento genético, evoluções tecnológicas relacionada à ambiência e ainda a área de nutrição animal. Também passa pela especialização da mão de obra de profissionais responsáveis pela sanidade e pelo manejo das aves, que buscam estudar e desenvolver alternativas principalmente no que diz respeito à biosseguridade nas granjas (DUTTA *et al.*, 2015).

Em razão do intenso crescimento, a produção de carne de frango promove o aperfeiçoamento constante das empresas em grande escala. Manter a capacidade de competir, tanto no mercado nacional como internacional tornou-se um grande desafio diante da demanda e concorrência dos países importadores de carne de frango. Paralelamente, temos um consumidor com olhar crítico e exigente, preferindo produtos

seguros; o que só será possível atendê-los com maior qualidade e livres de patógenos (GOMES, 2016).

Apesar da busca constante por lotes de frangos de corte livres de patógenos e com melhores resultados zootécnicos, seguindo uma legislação severa e executando os procedimentos necessários, sabemos que isso nem sempre é alcançado. A presença de microrganismos patogênicos como *Salmonella*, *Eimerias* e outros, afeta negativamente a produção avícola e a qualidade da carne, além de contribuir de forma significativa no aumento dos custos de produção (ANDRADE, 2017).

Diante de um cenário dinâmico e exigente, o presente trabalho de pesquisa busca avaliar o efeito do gás amônia em diferentes doses no tratamento de cama aviária contaminada experimentalmente com *Salmonella* Heidelberg e *Eimeria* spp. e assim, trazer dados que possam contribuir positivamente na busca pelo controle eficiente destes patógenos na avicultura industrial.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Gênero *Salmonella*

A *Salmonella* está distribuída no ambiente em todo o mundo, foi isolada e identificada pela primeira vez no ano de 1885 por Daniel Elmer Salmon. É uma bactéria Gram negativa com formato de bastonete, anaeróbica facultativa e não formadora de endoesporos. Todas as espécies de *Salmonella* são consideradas móveis, com exceção dos sorovares *Salmonella Pullorum* e *Salmonella Gallinarum*, que são consideradas imóveis (FORSYTHE, 2002).

O gênero *Salmonella*, pertencente à família *Enterobacteriaceae* é classificado em duas espécies, *Salmonella bongori* e *Salmonella enterica*. A espécie *enterica* é composta por seis subespécies: *S. enterica* subespécie *enterica*, *S. enterica* subespécie *salamae*, *S. enterica* subespécie *arizonae*, *S. enterica* subespécie *diarizonae*, *S. enterica* subespécie *houtenae*, *S. enterica* subespécie *indica*. Dentre elas, a *Salmonella enterica enterica* à qual pertence um dos sorovares de maior relevância e impacto na produção de frangos de corte, o sorovar Heidelberg (FORSYTHE, 2002).

Em 2007, o Instituto *Pasteur* descreveu em torno de 2.600 sorovares de salmonelas através do esquema Kauffmann-White-LeMinor (KWL), visando caracterizar os diferentes sorotipos do gênero com base em suas fórmulas antigênicas (FORSYTHE, 2002; GRIMONT; WEIL, 2007). Sabe-se que todos os sorovares de *Salmonella* possuem seus hospedeiros e podem também ser causadores de doenças em humanos, por seu caráter zoonótico. Quando infectam o homem podem se manifestar de forma assintomática e ou causar quadros de gastroenterite. que por vezes simples sem necessidade de tratamento ou ainda apresentar maior gravidade em jovens, idosos e pessoas com imunodepressão. A *Salmonella* Enteritidis e *Salmonella* Typhimurium, são os dois sorovares mais importantes quando transmitidas dos animais para os seres humanos em todo o mundo (WHO, 2016).

O controle das salmoneloses é um grande desafio para a saúde pública e para a indústria alimentícia, considerando o surgimento de novos sorovares e cepas mais resistentes, tanto em países industrializados quanto nos emergentes. Consumidores também estão mais informados, buscando produtos seguros, com procedência e qualidade. Sendo assim é preciso conhecer e agir sob os patógenos causadores de prejuízo às indústrias e ao homem, além de buscar ações que possibilitam o controle e eliminação destes na cadeia produtiva (BERCHIERI, 2009).

### 2.1.1 *Salmonella* Heidelberg, saúde pública e impacto econômico

A *Salmonella* Heidelberg (SH) acomete principalmente aves jovens (até duas semanas de idade), sendo as aves velhas, em geral, portadoras assintomáticas. A principal forma de transmissão é através da contaminação fecal da casca dos ovos durante a postura em ninhos ou cama de lotes contaminados. Ainda, pode ocorrer transmissão horizontal por alguns vetores como: moscas, cascudinhos, besouros, sapos, ratos e camundongos (estes dois últimos sendo os maiores transmissores, portadores e reservatórios) (PHAC, 2006). Considerada sensível à luz solar e aos desinfetantes mais comumente utilizados na avicultura (fenóis, clorados e iodados), a SH pode sobreviver e se multiplicar no meio ambiente por meses se não controlada (MURER, 2018).

No Brasil, desde 1962 a SH vem sendo isolada em aves e produtos derivados de carne de frango (HOFER; SILVA FILHO; REIS, 1997). Ainda, se destaca como um dos principais sorovares causadores de infecções em humanos no mundo, ocupando a quarta posição dentre os mais isolados (VIEIRA *et al.*, 2009). Nos últimos anos observou-se uma maior prevalência de SH em programas de controle e de monitoramento de *Salmonella* (FERRARI *et al.*, 2019). SH é um dos sorovares de maior distribuição no mundo e está entre os 10 sorovares de *Salmonella* mais associados a doenças humanas (GRIMONT; WEILL, 2007; CDC, 2016). Segundo dados da WHO, em seu programa *Global Salm-Surv* (GSS), até o ano de 2012, no Brasil a SH esteve entre os 15 sorovares mais sorotipificados em amostras de animais, meio ambiente e alimentação animal. É um dos sorovares mais detectados em seres humanos e mais prevalente em alimentos destinados para alimentação humana. Resultados semelhantes foram reportados em outros países, o que torna a pesquisa e controle de SH essencial (WHO, 2016; WHO, 2017a; WHO, 2017b).

A presença da SH nas penas, pele, pés, cloaca e trato digestivo das aves é um fator agravante para a indústria avícola, visto que este patógeno pode ser transferido para outras carcaças de frango dentro do abatedouro ainda no processamento, aumentando a disseminação e os riscos de transmissão para a saúde pública, comprometendo a segurança alimentar da população (REZENDE *et al.*, 2005).

Com relação a infecções causadas em humanos, a SH vem se mostrando mais invasiva em comparação aos outros sorovares que causam gastroenterite, sendo que aproximadamente 13% dos casos desenvolvem infecção sistêmica (PHAC, 2007; JONES *et al.*, 2008; DUTIL *et al.*, 2010; CDC, 2016). Além disso, de acordo com o Sistema de

Alertas Rápidos para Gêneros Alimentícios e Alimentos para Animais (*Food and Feed Safety Alerts*), entre 2013 e 2018 a SH esteve entre os sorovares mais sorotipificados (RASFF, 2016; 2018). Sua crescente tem levado à realização de estudos em razão da frequente resistência às drogas antimicrobianas como ceftiofur e ceftriaxona, limitando as opções de tratamento em casos de salmoneloses (PHAC, 2007; SHAH *et al.*, 2017).

SH está entre os cinco sorovares mais encontrados em casos de surtos de salmoneloses, juntamente com *Salmonella* Enteritidis, *Salmonella* Typhimurium, *Salmonella* Newport, *Salmonella* Javiana (ROBINSOM, 2013). No Brasil, os principais sorovares encontrados em carcaças de frango e em aves vivas conforme ANVISA, são *Salmonella* Enteritidis, Infantis, Typhimurium, Heidelberg e Mbandaka (BRASIL, 2008).

Visto a grande importância das *Salmonellas* na saúde pública e tratando-se do atendimento às instruções normativas, algumas medidas e estratégias de controle e prevenção na cadeia avícola são adotadas periodicamente. A começar pela realização de monitorias sanitárias em todos os setores da cadeia como: incubatórios, fábrica de rações, abatedouros e principalmente em camas de frango de corte. As monitorias em frangos de corte são realizadas através de coleta de suabes de arrasto em cama aviária seguindo instrução normativa nº20 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2016).

Diante das dificuldades para planejar, coordenar e executar procedimentos de biossegurança em todos os setores produtivos, o monitoramento laboratorial tem extrema importância para o controle eficiente destes patógenos na cadeia avícola, que promovem impacto com perdas e prejuízos em todo o setor (SCHLUNDT, 2001). Entretanto, alguns procedimentos de biossegurança são executados a fim de garantir a saúde, bem-estar das aves e principalmente a inocuidade da carne produzida, dentre estes procedimentos podem ser destacados: limpeza, lavagem e desinfecção das granjas, fermentação e desinfecção das camas reutilizadas e ou tratamento com aplicação de cal, blindagem de fontes de água, controle de fluxo de pessoas e veículos dentre outros (SESTI, 2004).

A *Salmonella* está presente em muitos países e é causadora das salmoneloses, uma zoonose complexa em sua epidemiologia e controle, com padrões diferentes de acordo com diversos fatores numa região, como os hábitos alimentares, as práticas de manipulação de alimentos, a criação dos animais, os padrões de higiene e saneamento básico (RODRIGUES, 2011).

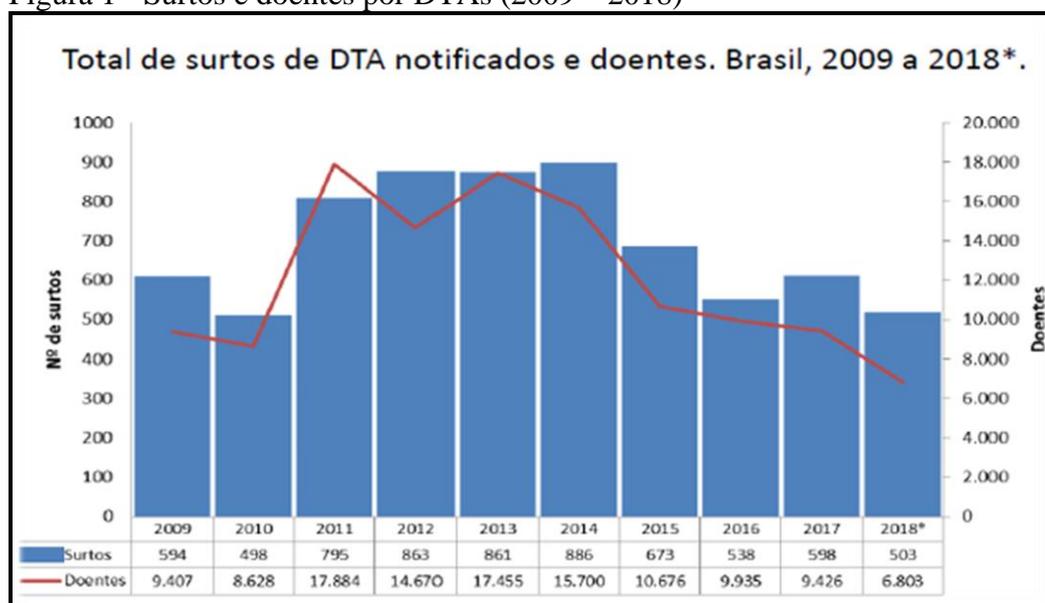
A salmonelose pode causar infecções focais, febre entérica, septicemia e mais comumente a enterocolite. Ao se infectar, o homem apresenta sinais clínicos como febre,

cólicas abdominais e diarreia a partir de 12-72 horas após o consumo do alimento contaminado, sendo que a duração da doença pode variar de 4 a 7 dias (WHO, 2017a). Entretanto, a severidade da doença depende do sorovar e da imunidade do hospedeiro, os quadros podem ser severos em pessoas imunologicamente debilitadas, necessitando de hospitalização (CDC, 2014).

O maior desafio está relacionado ao número real de casos de salmonela. O sistema de notificações ainda é falho e a subnotificação impede o conhecimento real de casos. A doença pode resultar em milhares de mortes, e é responsável por um em cada quatro casos de diarreia no mundo (WHO, 2018). A preocupação a respeito da presença de *Salmonella* spp. em produtos alimentícios de origem avícola aumentou em meados dos anos 80, quando *S. Enteritidis* foi responsável por diversos surtos de infecção alimentar na Inglaterra, devido à ingestão de alimentos de origem avícola (CARDOSO *et al.*, 2015). Evidências de que os produtos avícolas são uma das mais importantes fontes de infecção para seres humanos são relatadas frequentemente (HALD *et al.*, 2004).

Considerando que a principal via de transmissão de *Salmonella* spp. está na cadeia alimentar, sua presença em animais de produção faz com que esse microrganismo possa ser considerado como um dos agentes mais relevantes e causadores de enfermidade entérica (BACK; ISHIZUKA, 2010; BACK, 2010; BRASIL, 2011). No Brasil, de acordo com os dados da Vigilância Epidemiológica (2019), no ano de 2018 foram identificados 503 casos de surtos alimentares, o que representa uma redução comparado ao ano de 2017 que somou 598 surtos (Figura 1).

Figura 1 - Surtos e doentes por DTAs (2009 – 2018)



Fonte: Ministério da Saúde (2019).

Dentre os casos de DTA, os principais agentes etiológicos envolvidos são: *E. coli* (23,4%), seguido por *Salmonella* (11,3%) e *S. aureus* (9,4%), conforme (Figura 2).

Figura 2 - Agentes Etiológicos - surtos de DTAs



Fonte: Ministério da Saúde (2019)

A importância de *Salmonella spp.* na saúde pública não se deve apenas a sua alta frequência em surtos, mas também devido à grande resistência antimicrobiana que este microrganismo vem apresentando (TONDO; RITTER, 2012). A SH como já mencionado, é um patógeno de relevância mundial devido à sua prevalência no setor avícola e principalmente pela sua resistência aos antimicrobianos comumente usados para manutenção da saúde das aves. A elevação dos isolamentos deste patógeno vem sendo mostrado em estudos recentes, possivelmente devido ao maior controle e monitoramento dos órgãos oficiais (MENDONÇA, 2016).

### 2.1.2 Resistência aos antimicrobianos e aos desinfetantes

O marco do uso de medicamentos para tratamento de doenças foi com a descoberta da penicilina. Esse foi o primeiro antibiótico de atividade clínica descoberto, quando Alexander Fleming observou que culturas de *S. aureus* expostas a um fungo do gênero *Penicilium* não apresentavam crescimento (TAVARES, 2001). No entanto, passados oito anos após a introdução da penicilina, observou-se que 68% dos *S. aureus* já apresentavam resistência a esse antibiótico, desencadeando assim um dos maiores problemas no tratamento das infecções, a resistência microbiana (ROSSI; ANDREAZZI, 2005).

Em todo mundo vem sendo relatado o aumento de resistência dos antimicrobianos, reforçando os desafios quanto à conscientização do uso correto dos antibióticos, a qual

poderá reduzir e ou minimizar o surgimento da resistência em diferentes sorovares na cadeia alimentar (TONDO; RITTER, 2012; WHO, 2018). A resistência bacteriana aos antimicrobianos pode ser classificada principalmente em dois tipos: intrínseca e adquirida. A resistência intrínseca é natural, quando uma espécie é resistente a um determinado agente antimicrobiano mesmo antes do seu uso. A resistência adquirida ocorre quando um microrganismo continua a multiplicar-se ou persistir na presença de níveis terapêuticos de determinado agente antimicrobiano ao qual ele já foi sensível (ANVISA, 2007), podendo selecionar bactérias resistentes (SCHWARZ *et al.*, 2010; RAO, 2013).

Ocorre também a resistência aos medicamentos por mutação, quando há a recombinação de um DNA estranho no cromossomo ou ganho horizontal de genes. Vários elementos genéticos móveis têm sido relatados por serem capazes de mobilizar diferentes tipos de genes de resistência a antimicrobianos por processos conhecidos como transformação, conjugação ou transdução (GOGARTEN; TOWNSEND, 2005).

O uso indiscriminado de antibióticos no processo produtivo pode funcionar como uma ferramenta de seleção para alguns microrganismos e aumentar a resistência destes aos antimicrobianos (GYLES, 2008; KOLUMAN; DIKICI, 2013). Em todo o mundo existe uma ampla lista de opções por agentes antimicrobianos, o que pode possibilitar a seleção de bactérias resistentes e a transferência de genes de resistência entre os microrganismos. Barreiras são criadas para combater essa disseminação, como a diminuição do uso de antibióticos e a redução de sua expansão no ambiente, programas para sintetizar novos compostos antimicrobianos, exploração de novas terapias alternativas e realização de estudos quanto as estratégias de controle dos microrganismos, que tem como objetivo inibir e reduzir a resistência aos antimicrobianos (BROWN-JAQUE *et al.*, 2015). A resistência a apenas um antimicrobiano não é de grande preocupação, mas estudos têm relatado um aumento na taxa de patógenos resistentes a mais de um antimicrobiano, sendo classificados como multirresistentes (resistência a três ou mais classes de antibióticos) (LERTWORAPREECHA *et al.*, 2013).

Outro ponto importante na cadeia produtiva diz respeito à resistência dos microrganismos aos desinfetantes. Desta forma, é importante destacar os objetivos de uma boa limpeza e desinfecção das instalações na busca da eliminação dos microrganismos patogênicos presentes. A limpeza tem como objetivo principal remover resíduos orgânicos e minerais aderidos às superfícies. Já a sanitização tem como objetivo

eliminar microrganismos patogênicos e reduzir o número de microrganismos alteradores para níveis seguros (ANDRADE, 2008).

O sanitizante deve ser selecionado levando em conta as seguintes características: aprovação pelos órgãos competentes, apresentarem amplo espectro de ação antimicrobiana e capacidade de destruir rapidamente os microrganismos, serem estáveis sob diferentes condições de uso e de baixa toxicidade e corrosividade. A ação dos sanitizantes é afetada pelas características da superfície, tempo e temperatura de contato, concentração usada, tipos de resíduos presentes nas superfícies, pH, propriedades físico-químicas da água, substâncias inativadoras e, ainda, o tipo e a concentração de microrganismos contaminantes (ANDRADE, 2008).

Já os desinfetantes, são produtos que matam todos os microrganismos patogênicos em objetos e superfícies, porém não necessariamente todas as formas microbianas esporuladas (ANVISA, 2008). Em estabelecimentos avícolas, os produtos químicos bactericidas e germicidas são amplamente utilizados, sendo que os bactericidas são aqueles que devem destruir bactérias sob a forma vegetativa e os germicidas devem eliminar todos os microrganismos (bactérias, fungos, esporos), inclusive em suas formas resistentes (JEANISCH *et al.*, 2004).

Os compostos de amônia quaternária são detergentes catiônicos sintéticos com atividade antimicrobiana e possuem boa estabilidade, solubilidade em água e baixa toxicidade (PELCZAR *et al.*, 1980), além de mostrarem eficiência em baixas concentrações contra bactérias, bolores, leveduras e vírus (FRAZIER, 1972). Ainda são usados como antissépticos e desinfetantes devido à sua ação surfactante e baixa toxicidade, além de exercerem atividade microbiocida (MCDONELL; RUSSEL 1999). São compostos eficientes sobre bactérias Gram positivas e microrganismos termodúricos, mas apresentam baixa ação sobre bactérias Gram negativas, coliformes e psicrotróficos e ineficiência contra esporos (ANDRADE, 2008). Sua ação bactericida se dá por conta da inativação das enzimas responsáveis pelos processos de transformação de energia, à desnaturação das proteínas celulares e à ruptura da membrana celular (ROMÃO, 1996), sendo potencializado pela formação de filmes ou películas sobre as superfícies (WIEST, 1984).

O mecanismo de ação da amônia quaternária é pela interferência nas propriedades de permeabilidade da membrana celular, que leva ao extravasamento de metabólitos e pela interferência no metabolismo de proteínas, levando a desnaturação proteica e inibição enzimática (ANDRADE, 2008).

A resistência aos desinfetantes mais comumente utilizados frente as bactérias Gram negativas é a intrínseca. Entretanto já foi estudado a possibilidade de ocorrência da resistência adquirida (MCDONELL; RUSSEL, 1999). As condições que levam à resistência incluem a aplicação de doses baixas usadas erroneamente, e a neutralização do composto durante a utilização (DAVIDSON; HARRISON, 2002). As maiores preocupações frente à resistência microbiana são: a crescente incidência de microrganismos resistentes a antibióticos utilizados para fins terapêuticos em medicina humana e animal, a crescente dependência a agentes microbianos e desinfetantes como principal ferramenta para controle do crescimento de patógenos em alimentos (DAVIDSON; HARRISON, 2002).

Tem se destacado o aparecimento de novas cepas de *Salmonellas* multirresistentes a antibióticos, o que constitui um grave problema de saúde pública em grande parte do mundo e que reforça a importância de programas de vigilância e controle mais eficientes (CERCA, 2012). Microrganismos resistentes a desinfetantes podem representar desafios econômicos para a indústria avícola e trazer implicações para a saúde pública, ainda mais quando apresentam resistência concomitante a desinfetantes e a antimicrobianos. É importante salientar que a adaptação aos desinfetantes seleciona microrganismos intrinsecamente resistentes ao composto aplicado e pode ser um fator que contribui com o envolvimento de microrganismos específicos em surtos de origem alimentar (MACHADO *et al.*, 2010).

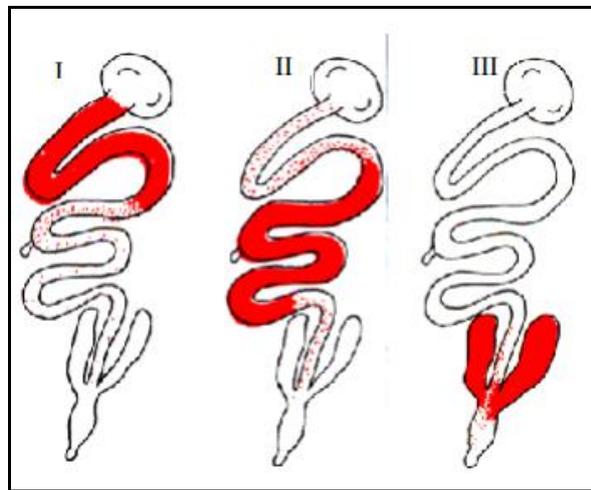
## 2.2 Gênero *Eimeria* spp.

*Eimeria* spp. são protozoários responsáveis por causarem uma das principais doenças entéricas nas aves, a coccidiose aviária. É um parasito intracelular que acomete as células epiteliais da mucosa intestinal causando destruição. Este parasito possui características próprias, como a presença de complexo apical formado por anel apical, conóide, micronemas, roptrias e micróporo. Sendo os conóides responsáveis pela penetração na célula, e os demais compostos por secretarem as substâncias enzimáticas (KAWAZOE, 2009).

A literatura descreve sete espécies de *Eimeria* spp. que podem acometer a saúde das aves. Entretanto, a prevalência das espécies no Brasil é bastante variável, predominando em frangos de corte *E. acervulina*, *E. máxima* e *E. tenella*, enquanto em aves de postura comercial, além das citadas, são encontradas outras espécies como *E. necatrix*, *E. brunetti*, *E. praecox* e *E. mitis* (PINHEIRO *et al.*, 2014).

O ciclo de vida da *Eimeria* spp. tem início com a ingestão de oocistos esporulados pela ave. Estes oocistos deverão se romper com a ação física da movimentação do alimento e partículas sólidas na moela. Assim, os esporocistos serão liberados. Já no intestino, os esporocistos sofrem a ação enzimática da tripsina e sais biliares, liberando os esporozoítos, os quais penetram ativamente nas células do intestino (ITO *et al.*, 2004). Após a infecção, deverão surgir danos na parede intestinal, acometendo diferentes porções do trato gastrointestinal variando de acordo com a espécie de *Eimeria* spp. (Figura 3).

Figura 3 – Espécie de *Eimeira* spp e local de acometimento no trato gastrointestinal das aves.



I – Duodeno: *E. Acervulina*, II – Jejuno-íleo: *E. Maxima* e III – Ceco: *E. Tenella*.

Fonte: LOVATO, 2018

As espécies *E. acervulina* e *E. maxima* são consideradas de patogenicidade mediana, já a *E. tenella* de alta patogenicidade (KAWAZOE *et al.*, 2005). Na maioria dos casos, pode-se verificar a forma subclínica. Entretanto, quando observados casos agudos, as aves deverão apresentar sintomas de maior relevância como diarreia mucoide ou sanguinolenta, desidratação, despigmentação da pele, prostração, perda de peso e susceptibilidade a infecções secundárias (PINHEIRO *et al.*, 2014).

A coccidiose aviária pode ser diagnosticada por meio de pesquisa coproparasitológica de oocistos na cama e fezes das aves. Também pode ser realizada avaliação patológica através de necropsia e raspado da mucosa intestinal, análise de lesões e pesquisa de oocistos. Ainda, é possível realizar classificação das lesões em diferentes escores, variando de acordo com a gravidade da doença (KAWAZOE, 2009).

O controle e a prevenção da coccidiose estão bem segmentados, e o uso de anticoccidianos via ração é onipresente. Entretanto, alguns programas rotacionados com a utilização de anticoccidianos e de vacinas vivas em alguns países vem sendo eficientes. Paralelamente, existe a busca pela redução de oocistos viáveis no ambiente através de métodos e desinfetantes geradores de amônia durante o vazio sanitário e ou intervalo entre lotes. A realização de manejos adequados durante o lote, como redução da densidade de alojamento das aves e a manutenção da cama em boa qualidade de absorção de umidade podem contribuir na busca pela redução de oocistos viáveis no ambiente (LOVATO, 2018).

### 2.2.1 Coccidiose Aviária e o impacto econômico

A coccidiose aviária é uma doença comum na avicultura industrial que pode gerar grandes perdas econômicas com a queda dos indicadores zootécnicos em plantéis de frangos de corte, matrizes e aves de postura. Ainda pode contribuir com a elevação dos custos de produção (GABRIEL *et al.*, 2006; PINHEIRO *et al.*, 2014).

Apesar do avanço da avicultura brasileira, a atividade ainda se depara com as perdas por coccidiose aviária na forma subclínica. Perdas pouco estudadas e de difícil mensuração que possuem relação direta com o aumento na conversão alimentar e elevação dos custos de produção com o uso dos anticoccidianos (KAWAZOE *et al.*, 2005). Contudo, sabendo o impacto que a doença pode causar sobre a cadeia avícola, encontram-se dificuldades no seu controle em função do grande número de espécies existentes, da alta incidência e prevalência, elevada pressão de infecção e da resistência do protozoário aos medicamentos e desinfetantes (VERTOMMEN, 2004).

À medida em que a população mundial de frangos de corte cresce no mundo, e a contribuição para a segurança alimentar se intensifica, torna cada vez mais imprescindível mensurar e ou calcular o impacto que as doenças comprometedoras da saúde e bem-estar das aves podem causar. Em estudo realizado por Williams (1999), em uma das estimativas mais abrangentes na mensuração dos custos com a coccidiose aviária em frangos de corte apresentado através de um modelo compartimentado de custos profiláticos e terapêuticos superaram 38 milhões de euros no Reino Unido no ano de 1995 (BLAKE *et al.*, 2020).

Após aproximadamente 25 anos desde a realização do estudo analítico, a população global de aves dobrou e os sistemas de produção avançaram evoluindo significativamente com a utilização de métodos de desinfecção de cama e vacinas vivas no controle de coccidiose. Porém, a utilização de programas vacinais em frangos de corte

vem sendo pouco adotado. Assim, a produção industrial em grande escala proporciona maior facilidade na multiplicação dos patógenos presentes nos plantéis, através da contaminação das camas e reinfecção entre lotes (SANTOS *et al.*, 2005; BLAKE, 2020).

Através de dados de representantes da indústria avícola, o modelo de Williams (1999) foi atualizado e relatou o custo aproximado de 99,2 milhões de euros ao Reino Unido em 2016 com a coccidiose aviária. Aplicando de forma semelhante o modelo a dados do Brasil, Egito, Guatemala, Índia, Nova Zelândia, Nigéria e Estados Unidos as estimativas indicaram um custo global de aproximadamente 10,4 bilhões de euros em 2016. Diante disso se faz necessário compreender e mensurar os custos que os patógenos podem trazer, fornecendo bases e parâmetros para identificação do impacto da coccidiose aviária em diferentes sistemas de produção, e em diferentes programas de intervenção. Os custos atualizados da coccidiose em frangos de corte podem contribuir com debates para escolha das melhores estratégias de controle a serem executadas, de acordo com os valores da quimioprofilaxia e ou desenvolvimento de novas técnicas e metodologias conjunto de novas cepas vacinas anticoccidianas em diferentes regiões do mundo (BLAKE *et al.*, 2020).

### 2.2.2 Resistência aos antimicrobianos e aos desinfetantes

A utilização dos anticoccidianos profiláticos é uma prática comum na avicultura brasileira e que possibilita o controle de forma eficiente da coccidiose aviária. Desde o ano de 1940 medicamentos anticoccidianos têm sido amplamente usados na indústria avícola no controle da doença (CHAPMAN; JEFERS, 2014) sendo que muitos compostos anticoccidianos foram registrados para uso em todo o mundo (PEEK; LANDMAN, 2011).

Os anticoccidianos são classificados como produtos químicos sintéticos ou ionóforos e possuem modos de ação nas diferentes espécies de *Eimerias* spp. exercendo efeitos em cada estágio do ciclo de vida do protozoário. Os anticoccidianos sintéticos possuem mecanismo de ação que envolve a destruição de estágios intracelulares do protozoário, uma vez que ele tenha invadido as células do hospedeiro no intestino. Porém, a utilização persistente de anticoccidianos sintéticos sem rotacionamento de moléculas pode resultar no desenvolvimento de resistência, limitando a sua eficácia. Em relação aos ionóforos, possuem mecanismo de ação mais complexo e não induzem o mesmo grau de pressão seletiva sobre o parasita que os anticoccidianos sintéticos. Além disso, o mecanismo de ação dos ionóforos é direcionado contra os esporozoítos (o estágio em que

o parasita se encontra no lúmen intestinal, antes de penetrar na célula), e não resultam na eliminação completa do protozoário. Em vez disso eles permitem que níveis baixos de parasita percorram as aves, estimulando assim o desenvolvimento de imunidade do hospedeiro (CHAPMAN, 2007; NANSHAN *et al.*, 2020).

A crescente utilização de medicamentos preventivos via ração vem promovendo maior preocupação com o desenvolvimento de resistência antimicrobiana e presença de resíduos de medicamentos na carne. Resultado do uso contínuo e onipresente dos anticoccidianos, uma perda de eficácia é cada vez mais relatada. Programas de drogas rotacionados (alteração de anticoccidianos em épocas específicas do ano) foram implementados para garantir que as mesmas moléculas de anticoccidianos não fossem usadas de forma contínua e repetida. Apesar das medidas, e talvez como resultado dos programas em parte, a resistência a todos os produtos comercialmente disponíveis e em uso é relatada. A busca por novas estratégias para controle de coccidiose aviária e redução do número de oocistos no ambiente é cada vez mais importante para a cadeia avícola (LOVATO, 2018; OJIMELUKWE *et al.*, 2018).

As aves infectadas podem produzir milhares de oocistos e estes deverão estar esporulados em ambiente úmido e quente dentro de 48 horas (EDGAR, 1955; ABBAS *et al.*, 2017). Este curto período de desenvolvimento e rápida multiplicação são fatores relevantes do ciclo de vida das *Eimerias* spp, contribuindo para a prevalência de coccidiose na cadeia avícola. Portanto, uma perturbação no processo de esporulação pode ser um ponto crítico e importante no controle e ou interrupção do ciclo de vida do protozoário (SHAH *et al.*, 2017).

Alguns estudos quanto à utilização de cepas sensíveis a drogas em vacina viva de coccidiose têm demonstrado melhorar eficácia anticoccidiana na produção de frangos de corte nos EUA. No Canadá, a cama é removida no intervalo entre lotes, diferentemente da prática utilizada nos EUA e no Brasil. Em estudo recente com a utilização de cepas de vacinas sensíveis a medicamentos em instalações de frangos de corte com suspeita de resistência aos anticoccidianos, os resultados demonstraram uma melhora na sensibilidade a vários anticoccidianos após o uso de vacina. No entanto, a remoção da cama no intervalo entre lotes exigido pelas regras de manejo do Canadá pode estar contribuindo no encurtamento e longevidade da sensibilidade dos medicamentos (SNYDER *et al.*, 2020).

Em relação a utilização dos desinfetantes, alguns procedimentos e protocolos devem ser seguidos a fim de contribuir na eficiência dos desinfetantes disponíveis no

mercado. A busca pela eficiência deve iniciar com procedimento de limpeza, lavagem e desinfecção das instalações; estas, são etapas cruciais para o manejo preventivo e pós-surto de infecções em granjas de frangos de corte. Vários estudos a fim de elucidar a atividade dos desinfetantes comerciais frente aos oocistos de *Eimerias* spp. vem sendo realizados (SAMAHHA *et al.*, 2013). Embora grande variedade dos desinfetantes químicos estejam disponíveis no mercado e apresentem eficiência contra diferentes patógenos na avicultura, poucos possuem especificidade sobre os oocistos (GIESSEN, 2013).

Os desinfetantes comumente utilizados para o controle de patógenos como os aldeídos (TH4, formalina) e agentes oxidantes (Virkon) foram recentemente estudados no Egito para compreender a atividade sobre a esporulação de oocistos de *Eimeria* spp. (KOSKI *et al.*, 2016; EL-DAKHLI *et al.*, 2018). O estudo realizado *in vitro* revelou que não houve atividade anticoccidiana dos compostos Virkon e TH4 sobre os oocistos. Esta resistência pode estar relacionada com a resistência a proteólise da parede do oocisto e da impermeabilidade de substâncias solúveis (SHAH *et al.*, 2017).

Em outro estudo realizado por Samaha *et al.* (2013), o composto com hidróxido de amônio foi eficaz em concentrações de 5%, inibindo a esporulação dos oocistos em 95,8% em 60 minutos, 96,4% em 90 minutos e 99,4% em 24 horas. Resultados que concordam e reforçam os obtidos por Horton-Smith; Taylor e Turtle (1940), que relataram a eficiência de solução de amônia a 5%, destruindo oocistos de *Eimeria tenella* em 24 horas. Zahran (1979) também relatou que o hidróxido de amônio a 5% foi capaz de destruir oocistos de *Eimeria* em 24 horas. Além disso, o estudo foi capaz de registrar que a concentração de 10% de hidróxido de amônio inibiu a esporulação de 96,2% dos oocistos em 60 minutos, 97% em 90 minutos e 100% em 24 horas. De forma semelhante Desouky e El-Midany (2003) revelaram a inibição de 100% de esporulação dos oocistos com utilização de hidróxido de amônio na concentração de 10% em 24 horas.

Diante da resistência dos oocistos a alguns desinfetantes e da rápida multiplicação no ambiente, estima-se que estes podem sobreviver na cama aviária por muito tempo e se multiplicarem rapidamente. Entretanto, pode-se afirmar que cerca de 70% dos oocistos poderão estar danificados e ou inviáveis pela ação da amônia, principalmente em sinergismo com reações provocadas por bactérias presentes na cama (KAWOZOE, 2009).

### 2.2.3 Redução uso dos anticoccidianos e utilização de vacina de coccidiose

Diante de um cenário de uso contínuo de anticoccidianos no controle da coccidiose aviária e com resultados positivos, o que mais cresce são as preocupações com

possíveis falhas de administração, resíduos de medicamento em carcaça de frangos de corte, e das exigências governamentais quanto a proibição do uso de antimicrobianos na cadeia avícola. Diante disso, novas alternativas para o controle do patógeno devem ser amplamente discutidas (PEEK; LANDMAN, 2011).

O futuro dos anticoccidianos é bastante incerto, seu status atual como aditivo para rações está mantido, porém o banimento dessas drogas como aditivos alimentares poderá ser proposta nos próximos anos. Em abril de 2008, em relatório apresentado pela Federação de Veterinários da Europa (FVE) (2016), foi abordado de forma clara a recomendação quanto à manutenção do uso dos anticoccidianos, incluindo ionóforos como aditivos. A abordagem e recomendação se dá exclusivamente pela falta de alternativas que possam assegurar a viabilidade econômica da avicultura na presença da coccidiose aviária (FATOBA *et al.*, 2020).

Por outro lado, mesmo não sendo tão comum a utilização de vacinas vivas no controle da doença em frangos de corte, políticas governamentais de incentivo e pressões legislativas visam a busca por melhor custo-benefício a estas alternativas ao uso dos anticoccidianos. De acordo com estudos recentes nos EUA ao contrário da EU, ionóforos são regulamentados como antibióticos. Refletindo de forma significativa o uso de vacinas vivas em programas de controle em aproximadamente 40% das empresas de frangos de corte. Sendo adotado ciclos anuais, onde dois em cada seis lotes recebem vacina de coccidiose ao invés de anticoccidianos via ração. Relato este, que se assemelha aos estudos recentes que apontaram 50% do frango dos EUA livres de antibióticos, indicando que as aves estão livres da quimioprofilaxia e com maior utilização de programas de vacinas de coccidiose no controle da doença (PEEK; LANDMAN, 2011; CHAPMAN; JEFFERS, 2014).

A primeira vacina viva de coccidiose foi desenvolvida há mais de 60 anos. As vacinas são os principais métodos para a prevenção da coccidiose em reprodutoras e poedeiras comerciais, bem como já são utilizadas em frangos de corte livres de antibióticos (SHIVARAMAIAH *et al.*, 2014). Recentemente pesquisas com foco no desenvolvimento de novas vacinas vivas vêm sendo desenvolvidas. As vacinas vivas consistem em oocistos já esporulados atenuados ou não atenuados (PEEK; LANDMAN, 2011).

A utilização das vacinas pode ser um complemento importante para o controle da coccidiose em frangos de corte. Em alguns casos podendo ser utilizada de forma isolada, principalmente em países onde o uso de anticoccidianos é proibido por órgãos

regulamentadores. As vacinas também podem ser utilizadas com objetivo de restaurar a sensibilidade dos protozoários a programas de controle com anticoccidianos (PEEK; LANDMAN, 2006). De acordo com estudo realizado por Mathis *et al.* (2014), os melhores resultados foram obtidos em lotes de frangos de corte vacinados e tratados de forma combinada com ionóforos via ração, ao invés da utilização de vacina viva de forma isolada.

Em relação as preocupações e limitações com o uso de vacinas vivas, incluem-se o custo de produção e o risco de danos à mucosa intestinal das aves (CERVANTES, 2015). Por outro lado, há uma preocupação adicional quanto à limitação no método de aplicação das vacinas de coccidiose. Existe um grande desafio para garantir que todas as aves recebam a dose vacinal (SHIVARAMAIAH *et al.*, 2014). Em frangos de corte vacinados, o desenvolvimento da imunidade total pode levar de três a quatro semanas após a vacinação. Caso o desenvolvimento da imunidade seja inconsistente antes de 21 dias, o lote pode estar sob maior risco de coccidiose e outras doenças intestinais, como a enterite necrótica (KADYKALO *et al.*, 2018).

As vacinas de coccidiose trazem impacto importante na população residente de oocistos resistentes aos medicamentos utilizados na produção avícola, ainda desempenham papel importante no controle integrado de programas envolvendo quimioterapia e vacinação. Por estes meios, é importante a busca por novas alternativas de controle sustentável e de longo prazo para a doença (CHAPMAN; JEFERS, 2014).

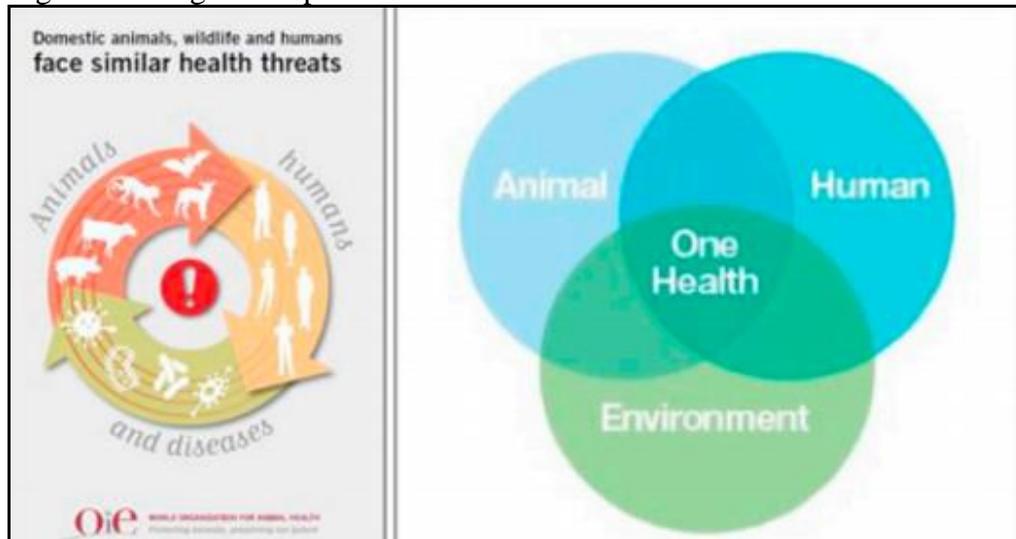
### **2.3 Saúde Única**

O conceito saúde única globalmente conhecido como “One Health” trata-se do conjunto de medidas aplicadas, abordadas de forma integrativa e inclusiva para resolução de desafios complexos de saúde global, reconhecendo que na grande maioria dos casos a saúde humana, animal e ambiental estão estritamente interligadas, conforme destacado no diagrama na Figura 4 (DAVIS; SHARP, 2020).

De acordo com abordagem da OIE é indispensável projetar e implementar programas, políticas e legislações juntamente de pesquisas em que vários setores se comunicam e trabalham de forma unificada a fim de alcançar resultados positivos na saúde pública. Sabe-se que muitos microrganismos acometem animais e humanos, pois compartilham os mesmos ecossistemas. Esforços de apenas um setor não será suficiente para prevenir ou eliminar problemas e ou microrganismos de caráter zoonótico. Um exemplo são os surtos de *Salmonella* em produtos de origem animal, e os casos de raiva

em humanos; problemas estes que poderão ser efetivamente resolvidos com ações específicas e focadas na fonte animal, através de medidas e estratégias de controle de *Salmonella* principalmente na cadeia avícola, e a implementando de campanhas de vacinação em cães, respectivamente. (DAVIS; SHARP, 2020).

Figura 4 - Diagrama representativo de saúde única.



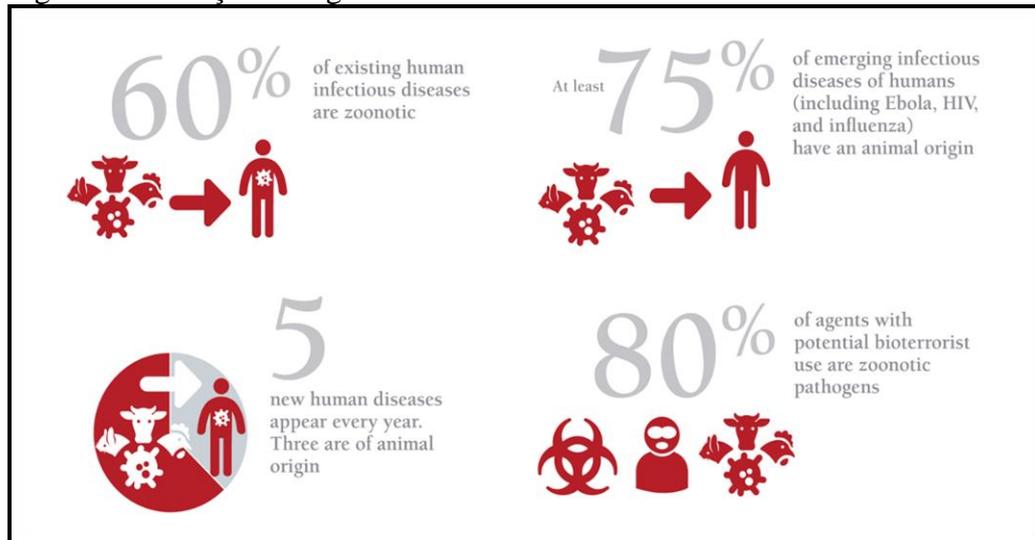
Fonte: FAO *et al.*, 201

A ligação entre os seres humanos e os animais é o ponto mais crítico onde as doenças de caráter zoonótico surgem e reemergem. Essa ligação é diretamente afetada em função do aumento da globalização, do crescimento e do movimento das populações humanas e animais, das mudanças dos ecossistemas e da ecologia dos vetores e reservatórios (FAO *et al.*, 2010).

### 2.3.1 Interação: Humano - Animal - Ambiente

Os programas de saúde única reconhecem que a saúde dos seres humanos está conectada à saúde dos animais e ao ambiente compartilhado. Além disso, as abordagens são conhecidas por serem métodos econômicos no controle de zoonoses em países subdesenvolvidos (ACHARYA *et al.*, 2019). De acordo com a Organização Mundial da Saúde Animal (OIE), cerca de 60% das doenças infecciosas em humanos possuem caráter zoonótico, 75% das doenças infecciosas emergentes são transmitidas por animais (Figura 5). A cada 5 novas doenças que surgem a cada ano no mundo, 3 delas são de origem animal, e cerca de 80% dos agentes patogênicos com potencial de bioterrorismo são zoonóticos (ACHARYA *et al.*, 2020) (Figura 5).

Figura 5 - Doenças emergentes no mundo



Fonte: FAO *et al.*, 2010

As perspectivas quanto aos conceitos de saúde única vêm crescendo e sendo cada vez mais discutidas na saúde global, sendo inerentemente interdisciplinar e integradora, reunindo as bases da saúde humana, animal e ambiental em um único olhar. Uma análise mais detalhada, no entanto, revela que essa apresentação de emaranhamento depende de uma melhor compreensão dos três espaços conceituais separados e pré-existentes, que deverão interagir de forma conexa e segura (ACHARYA *et al.*, 2020).

De acordo com relato do estudo de Frise e Nuyts (2017), o tema saúde única é de maneira fundamental uma epistemologia ocidental e modernista. Entretanto, alguns apelos para abordagens mais expressivas sugerem que a questão social e política possa ser incluída como temas de produção e existindo o desejo em desenvolver críticas de duas maneiras: primeiro, considerar as maneiras pelas quais conceitua-se relações entre o ser humano, animal e meio ambiente e, segundo, como conceitua-se a saúde. Ao fazer isso, espera-se demonstrar as complicações de humanos, animais e ecossistemas produzindo assim os resultados saudáveis esperados (FRIESE; NUYTS, 2017).

Contextualizar assuntos relevantes e que estão em sinergismo podem contribuir na resolução de alguns desafios que estão sendo discutidos atualmente no mundo. Um assunto recorrente está relacionado à resistência antimicrobiana, que vem se tornando uma das maiores ameaças à saúde pública. Diante disso, vale ressaltar que existem muitas atividades a serem executadas e que visam amenizar essa ameaça, como a resolução dos problemas “do meio”. A detecção precoce de doenças e infecções de origem animal no ambiente pode facilitar a introdução destas nas cadeias alimentares. No entanto, as contribuições relacionadas às fontes de bactérias resistentes aos antimicrobianos não

apresentam clareza e não estão bem estabelecidas. Uso excessivo de antimicrobianos por profissionais da saúde humana e animal são fontes de seleção para estas bactérias e genes de resistência, mesmo que a quantidade maior de antimicrobianos esteja sendo utilizada na produção de animal. Essas bactérias/genes de resistência poderão acometer a saúde humana através dos alimentos, o que torna cada vez mais importante o sinergismo, a interação e a resolução das anomalias de todos os “meios”, ou seja, tratar o ambiente, ocasionado assim a manutenção da saúde humana, animal e ambiental (JOHN *et al.*, 2017).

#### **2.4 Reutilização de cama e os métodos de desinfecção**

O descarte da cama aviária no ambiente de forma indiscriminada sem que haja tratamento prévio pode representar sérios riscos de contaminação química e microbiológica dos recursos hídricos, colocando em risco a saúde e qualidade de vida das pessoas que vivem aos arredores das granjas (ORRICO *et al.*, 2015). Para que a cama apresente inocuidade e segurança em sua reutilização, deverá ser submetida a algum tipo de tratamento a fim de reduzir a contaminação das aves de um lote para outro (ANDRADE, 2017).

É imprescindível que o material reutilizado apresente segurança e esteja livre de patógenos, garantindo assim que não haja problema sanitário e comprometa a saúde das aves. A escolha pelo tipo de cama utilizada é importante, visto que as aves permanecem todo o ciclo produtivo em contato com esta mesma cama. Diferentes materiais podem ser utilizados, como por exemplo: maravalha e casca de arroz; dependendo da disponibilidade em cada região e da época do ano (GRIMES, 2004; VIEIRA *et al.*, 2015).

A reutilização da cama é uma prática comumente adotada em todo o Brasil, sendo realizada em vários lotes durante o mesmo ano produtivo, e se dá pelo alto custo para a reposição. Alguns cuidados e critérios para a sua adoção deverão ser observados, principalmente no que diz respeito aos procedimentos realizados para a desinfecção e controle de patógenos presentes (WALTER, 2000). Alguns mercados consumidores internacionais demandam comprovação da eficiência dos métodos de tratamento para o reuso da cama aviária entre lotes (VAZ *et al.*, 2017). Contudo, existem ainda os processos de certificação para exportações a Comunidade Europeia, que exigem que avaliação periódica dos riscos microbiológicos na reutilização da cama (GLOBAL G.A.P., 2016).

A qualidade da cama utilizada na granja tem influência direta na saúde das aves e na qualidade da carcaça (BRITO *et al.*, 2016; DUNLOP *et al.*, 2016; CAMPOS *et al.*,

2018). A quantidade e os tipos de microrganismos presentes nesse material são influenciados pelo número de vezes que a cama é reutilizada, pelo manejo realizado após a saída do lote (como a fermentação), densidade das aves e período de vazio sanitário (SANTOS *et al.*, 2012; GARCIA *et al.*, 2013).

Visto a grande dificuldade em desenvolver técnicas e metodologias para a eliminação e redução dos patógenos presentes na cama aviária reutilizada como *Salmonella* spp. e *Eimerias* spp., se faz necessário buscar constantemente o desenvolvimento de novos métodos, produtos e técnicas que venham contribuir na eliminação destes e outros patógenos. Na avicultura brasileira, alguns métodos de tratamento de cama já são comumente utilizados, dentre eles a fermentação plana, o enleiramento e a aplicação de cal (CHERNAKI-LEFFER *et al.*, 2002; SILVA *et al.*, 2007; LOPES *et al.*, 2015).

#### 2.4.1 Fermentação Plana

A fermentação da cama aviária é um método de tratamento biológico utilizado em intervalo entre lotes e caracteriza-se pelo processo natural de decomposição da matéria orgânica por meio da atividade dos microrganismos, com interações entre a produção de calor, vapor d'água, gás amônia e dióxido de carbono (MARTINS, 2013). O método de fermentação plana se dá através da colocação de lona plástica impermeável sobre a cama em todo o aviário logo após a saída do lote, em torno de 24 horas depois. A cama poderá ainda ser umedecida antes do enlonamento a fim de favorecer o processo fermentativo quando necessário. Alguns cuidados com relação à vedação da lona devem ser observados, evitando que ocorra perda de oxigênio posterior ao enlonamento, prejudicando o processo fermentativo. Após 10 dias do processo, deverá ocorrer a remoção da lona, retirada de crostas e revolvimento da cama em todo o aviário; finalizando assim o processo de desinfecção da cama (ROCHA; TON, 2015; GEHRING *et al.*, 2020).

A fermentação plana têm mostrado maior eficácia na redução bacteriana e no controle do *Alphitobius diaperinus*. Segundo estudo de Gehring *et al.* (2020), o tratamento da cama aviária com lona de superfície, adição de água e cal durante a fermentação foi capaz de eliminar 100% dos insetos, resultado este obtido em função da significativa elevação da concentração de amônia na cama com o enlonamento.

#### 2.4.2 Fermentação Enleiramento

O método de fermentação em leira compreende na realização do amontoamento de toda a cama no centro do aviário, posteriormente a cama é coberta com lona plástica impermeável por período de 10 a 12 dias até que ocorra o processo fermentativo. Após esse período, a lona é removida e a cama é redistribuída no aviário (SILVA, 2011).

Em estudo realizado por Silva *et al.* (2007), que compararam os métodos de desinfecção de cama aviária: fermentação plana, enleiramento e adição de cal foi possível verificar a maior eficiência do método de fermentação plana. Este método reduziu substancialmente a carga bacteriana de enterobactérias, incluindo *Salmonella* da cama aviária após o tratamento. De acordo com Silva (2011), a fermentação plana pode trazer maior facilidade e vantagens por demandar menor mão de obra aos produtores. No entanto, apesar de ser um processo fermentativo, pode não sofrer elevação significativa de temperatura e produção de  $\text{NH}_3$ , e conseqüentemente ser considerada insuficiente no combate aos patógenos presentes.

#### 2.4.3 Adição de cal

O método químico, que consiste na adição de condicionantes químicos à cama, tem como objetivo melhorar sua qualidade física, química e reduzir a atividade microbiana para o reaproveitamento da cama. O uso de acidificantes reduz o pH e interfere diretamente na volatilização da amônia na cama, alterando o equilíbrio amônio/amônia ( $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$ ), formando mais  $\text{NH}_4$  que não é volátil. Já os alcalinizantes como a cal hidratada, tem sido avaliada quanto à elevação do pH (acima de sete) e a conversão de mais íon amônio da cama em gás amônia, que é liberado para a atmosfera (OLIVEIRA; GODOI, 2010).

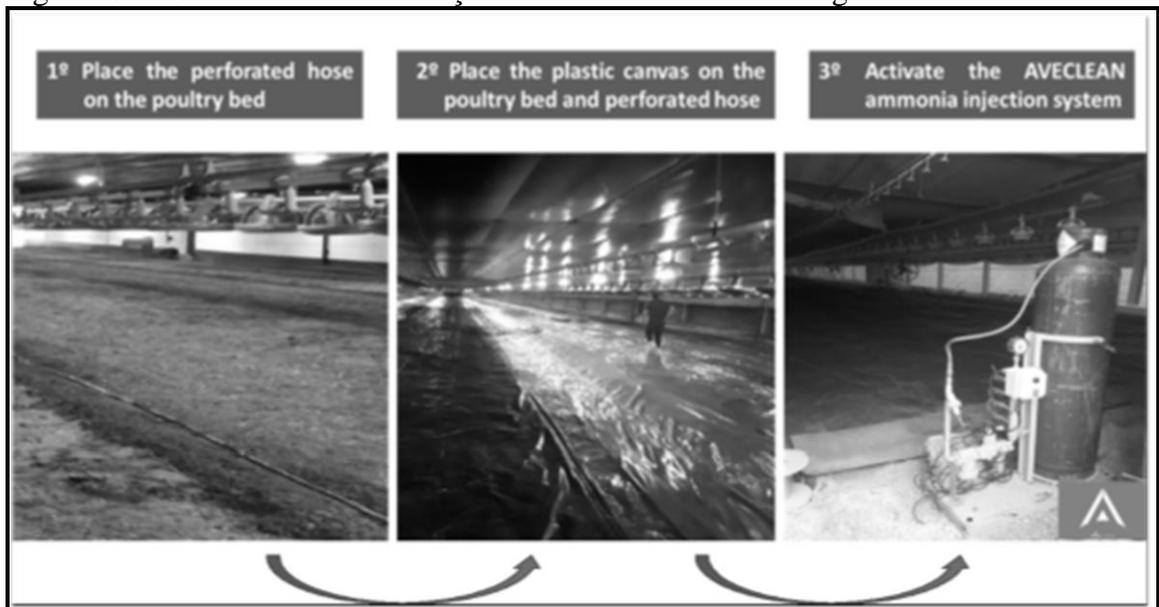
#### 2.4.4 Método lona superfície com injeção de amônia

Estudos demonstram maior eficiência de alguns métodos de desinfecção de cama comparado a outros utilizados na avicultura industrial. De acordo com Silva (2011), a fermentação plana pode trazer maior facilidade e vantagem por demandar menor mão de obra aos produtores. No entanto, apesar de ser um processo fermentativo, pode não ocorrer elevação significativa de temperatura, umidade e conseqüentemente produção de amônia suficiente para eliminar os patógenos presentes. Em concordância com estudos realizados, Gehring *et al.* (2020), revelaram que o método lona na superfície não gera quantidade suficiente de amônia pela fermentação natural dos microrganismos a fim de

eliminar os microrganismos patogênicos, como as salmonelas das camas aviárias. De acordo com o estudo realizado, a concentração de amônia gerada pelo método lona na superfície foi inferior a 1000 ppm, chegando ao máximo 653 ppm em um dos tratamentos. De acordo com Koziel *et al.* (2017), a concentração inibitória mínima de amônia para eliminar *S. Typhimurium*, *Staphilococcus aureus* e outros microrganismos resistentes em carcaças de animais digeridas num período de 24 horas, foi de 1.480 e 7.340 ppm, respectivamente, resultados que colaboram e demonstram que as bactérias podem apresentar diferentes graus de sensibilidade a ação desinfetante da amônia e que a quantidade de amônia gerada pelo método lona na superfície não é insuficiente para eliminar as salmonelas.

Muniz (2021) revelou em estudo recentemente realizado a campo que o método lona superfície com injeção de amônia controlada (10 minutos de injeção de amônia a cada hora por um período de 48 horas) foi eficiente no controle de bactérias Gram negativas em camas aviárias. De acordo com o estudo a concentração utilizada foi de 0,22% de amônia; concentração e tempo suficiente para que houvesse o controle dos microrganismos, eliminando 100% das bactérias Gram negativas na cama aviária. O estudo ainda revela que o tratamento por período de 24 horas não foi totalmente eficiente, eliminando cerca de 60% dos microrganismos apenas. Em estudo semelhante, Mendonça *et al.* (2021) revelaram que o método lona superfície com injeção de amônia controlada (Figura 6) na concentração de 1% foi eficiente para eliminar *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium* e *S. Heidelberg* em 48 horas.

Figura 6 - Sistema de desinfecção de cama aviária com gás amônia controlado



Fonte: Mendonça *et al.*, 2021

## 2.5 Amônia (NH<sub>3</sub>)

A Amônia (NH<sub>3</sub>) é um composto químico comumente utilizado nas indústrias, e de grande aplicabilidade no setor de refrigeração. Ainda, é usada como desinfetante em alguns segmentos na forma de quaternário de amônio (VON WIRÉN; MERRICK, 2004). Relacionado à avicultura, a NH<sub>3</sub> tem origem do acúmulo de excretas das aves, estas que possuem alto teor de ácido úrico. Após sofrerem ação da enzima uricase, são convertidas com ácido alantóico, que é novamente convertido em ureidoglicolato. O ureidoglicolato juntamente com glioxilato e ureia é hidrolisado em NH<sub>3</sub> e gás carbônico (KIM; PATTERSON, 2003).

Os sistemas de produção de frangos de corte favorecem e interferem diretamente na produção de NH<sub>3</sub>, visto que altas densidades de alojamento das aves, o tipo de cama utilizado e o baixo período de intervalo entre lotes podem contribuir para o aumento de NH<sub>3</sub>. Ainda, com relação as dietas adotadas, aproximadamente 55% do nitrogênio presente nas rações de frangos de cortes poderá ser excretado na cama (SILVA, 2011).

Desta forma, também se faz necessário entender a relação do pH da cama. Esse quando abaixo de 7 pode interferir e reduzir a geração de NH<sub>3</sub>, consequentemente aumentando a produção de amônio NH<sub>4</sub>, que não exerce atividade antimicrobiana. Quando observado pH acima de 8, haverá uma maior produção do gás amônia, que estará relacionado à degradação do ácido úrico (PEREIRA; MARCANTE, 2005). Algumas literaturas estimam que cada ave pode gerar aproximadamente 72,6 g/ano de NH<sub>3</sub>, números estes ainda imprecisos e pouco explorados, uma vez que muitos fatores podem interferir nesta projeção (LIU; WANG; BEASLEY, 2006).

Estudos quanto a ação dos desinfetantes sobre oocistos são escassos na literatura, mas de acordo com Horton-Smith; Taylor e Turtle (1940) e Hilbrich (1975), os únicos compostos que apresentaram atividade oocisticida são desinfetantes a base de NH<sub>3</sub>. Em outro estudo com a utilização de hidróxido de amônio, houve a constatação de que foi o desinfetante mais eficaz, utilizado em solução de 0,5 a 1,0% ou através de fumigação, que eliminou entre 93 a 97% de oocistos não esporulados no período de uma hora de tratamento (CHROUSTOVÁ; PINKA, 1989). Harry e Brown (1974), Hilbrich (1975) e Guimaraes *et al.* (2007) relataram que oocistos são refratários aos desinfetantes comumente usados. Diante disso, torna-se mais comum o uso de medicamentos anticoccidianos em doses elevadas, aumentando assim a resistência dos oocistos aos agentes antiparasitários e ainda elevando as ocorrências de resíduos de medicamentos em produtos avícolas (RYLEY, 1980; CHAPMAN, 1984).

Estudos realizados por Peek e Landman (2003) e Harper e Makatouni (2002) com diferentes desinfetantes constataram que compostos como amônia, brometo de metila, dissulfeto de carbono e alguns produtos fenólicos de baixo peso molecular demonstraram atividade frente aos oocistos de *Eimeria* spp.. Porém, estima-se que estes produtos possam apresentar toxicidade, dificultando a utilização na desinfecção de camas de frangos de corte.

#### 2.5.1 Efeito antimicrobiano e anticoccidiano

De acordo com a literatura o mecanismo de ação de  $\text{NH}_3$  intracelular ainda não é claramente compreendido e elucidado. Sabe-se que em células animais pode atingir e atravessar a parede celular bacteriana (WARREN, 1962). Já no interior, acredita-se que  $\text{NH}_3$  atue aumentando o pH intracelular, através de influxo direto, ligação a íons de hidrogênio e no deslocamento da concentração de potássio para fora da célula, o que levaria a desestabilidade da homeostase celular (LUTHER, 2015).

Em estudo recente, a aplicação de íons amônio ( $\text{NH}_4^+$ ) foi avaliada em camas de aviário contaminadas com SH, resultando na ineficiência quanto à eliminação do patógeno. A concentração máxima utilizada foi de 2828 ppm (VOSS-RECH *et al.*, 2017). Entretanto, em outro estudo realizado por Warren (1962), verificou-se que o íon  $\text{NH}_4$  não é capaz de atravessar a parede celular bacteriana diferentemente da  $\text{NH}_3$ , que possui capacidade de atravessar a parede celular devido ao seu baixo peso molecular.

Quanto à emissão de  $\text{NH}_3$  nas camas de frango de corte, estima-se que o efeito bactericida possa ser elevado em camas com pH alcalino devido à maior ativação da uricase (MUNIZ *et al.*, 2014). Porém, sabe-se que a  $\text{NH}_3$  pode ser tóxica, levando as aves sofrerem com irritabilidade e estresse, consequentemente trazer perdas de ganho de peso, aumento de mortalidade e predisposição a doenças respiratórias (WEI *et al.*, 2015).

A utilização de  $\text{NH}_3$  como desinfetante frente a alguns patógenos ainda vem sendo estudada. Em estudo realizado por Himathongkham *et al.* (2001), verificou-se a redução de *Escherichia coli* e de *S. Typhimurium* em sementes de alfafa e de brotos de feijão inoculadas experimentalmente, após 22 horas do tratamento. A ação do gás amônia e de outros gases de baixo peso molecular frente a oocistos de *Cryptosporidium parvum* também já foi estudada, constatando a perda de viabilidade e infectividade após 18 horas de exposição na concentração de 5% (FAYER *et al.*, 1996). Ainda, são descritas experiências que demonstram a ação desinfetante da  $\text{NH}_3$  frente aos oocistos de *Eimeria* spp. não esporulados, ação esta relacionada a grande toxicidade independentemente do

pH da solução. Algumas diluições de  $\text{NH}_3$  líquida foram estudadas e levaram a constatação de que podem ser letais frente aos oocistos de *Eimerias* spp. A solução a 1% eliminou 100% dos oocistos em 24 horas, solução a 5% levou a eliminação dos oocistos em duas horas e, solução a 10% ainda foi capaz de eliminar e inviabilizar os oocistos em 45 minutos (HORTON-SMITH; TAYLOR; TURTLE, 1940).

Diante de alguns estudos, pode-se também observar que o gás de amônia apresenta efeito letal semelhante às soluções de  $\text{NH}_3$ . No estudo de Horton-Smith; Taylor e Turtle (1940), uma concentração de 25 mg/L eliminou 100% dos oocistos em uma hora. Já em concentração de 7,7 mg/L foi igualmente eficaz em período de três horas. Ainda, ocorreu a constatação de que uma fumigação com gás amônia em aviários de frango de corte pode ser eficiente utilizando uma concentração de 8 ppm em condição hermética, sendo o enlonação da cama defendido durante o processo de fumigação com o gás amônia (HORTON-SMITH; TAYLOR; TURTLE, 1940)

De acordo com estudo recente de Mendonça *et al.* (2021), a produção natural de gás amônia em camas de frango de corte não pode ser medida de forma assertiva, revelando ainda que baixas concentrações são insuficientes para exercer ação frente aos microrganismos. Outro fator importante e que deve ser ressaltado é o baixo peso molecular do gás  $\text{NH}_3$ , que pode acarretar rápida volatilização e contribuir na redução de concentração e no tempo de exposição dos microrganismos a  $\text{NH}_3$ . Assim, reforça-se a necessidade de utilização de concentrações altas do gás e de tratamentos mais longos.

### **3 CAPÍTULO I<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Artigo escrito conforme as normas do periódico Poultry Science

## EFEITO DA AMÔNIA GÁS SOBRE *SALMONELLA* HEIDELBERG

### Efeito do gás amônia em cama aviária contaminada com *Salmonella* **Heidelberg**

C. da Rosa \*, V. P. do Nascimento \*, W. R. de Oliveira #, L. B. Rodriguez §,  
L. Daroit §, F. Pilotto \*<sup>1</sup>

\* Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil.

# WR Industria

§ Universidade de Passo Fundo, Brasil

1 Autor correspondente: F. Pilotto

fernandopilotto@upf.br

BR 285, São José, Passo Fundo, RS, Brasil. CEP: 99052-900.

Fone: (+55 54) 3316-8485.

---

**RESUMO** A *Salmonella* Heidelberg é um patógeno emergente na produção avícola brasileira. Os métodos tradicionais utilizados para a desinfecção de camas aviárias reaproveitadas não garantem sua eliminação, possibilitando assim a transmissão deste agente de um lote para outro. O novo método lona na superfície com a injeção de gás amônia de forma controlada tem se mostrado eficiente no seu controle, contudo ainda é desconhecido qual a dose de gás amônia necessária para eliminação da *S. Heidelberg* em camas de aviário reaproveitadas. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do gás amônia em diferentes concentrações em cama de aviário contaminada artificialmente com *Salmonella* Heidelberg. Amostras de cama de aviário esterilizadas foram colocadas em sacos plásticos e contaminadas artificialmente com *Salmonella* Heidelberg. Posteriormente foi realizado a injeção do gás amônia nas concentrações 0,25%, 0,5% e 1%, e, 48 horas após, foi coletado uma amostra de cada repetição e realizado isolamento bacteriano. Todos os tratamentos, inclusive os controles positivos e negativos, foram testados em quadruplicata. Nas amostras tratadas com 0,5% e 1% não foi isolado o patógeno, já na concentração de 0,25%, uma das quatro amostras testadas apresentou positividade. O estudo revela que o gás amônia é eficiente na eliminação de *Salmonella* Heidelberg em cama de aviário nas concentrações igual ou superior a 0,5 % num período de 48 horas.

**Palavras-chave:** Gás amônia, *Salmonella*, cama aviária, frango de corte.

## INTRODUÇÃO

A reutilização da cama aviária é uma prática comumente adotada em todo o Brasil devido à escassez de material, alto custo para reposição e contaminação do meio ambiente. As técnicas comumente utilizadas para a desinfecção de camas de aviário reaproveitadas mostram pouca eficiência no controle de alguns patógenos, como *Salmonella* e, principalmente no impedimento de reinfecção entre lotes, carecendo de maiores estudos e informações (Orrico *et al.*, 2015; Andrade, 2017).

A presença de salmonelas em cama aviária e na cadeia avícola pode ser considerado comum, trata-se de um microrganismo com habitat natural no trato gastrointestinal das aves, podendo implicar na maior disseminação para o meio e possível reinfecção das aves (Vaz *et al.*, 2017; Mendonça *et al.*, 2021).

Por conta da sua grande prevalência, resistência aos antimicrobianos e consequentemente dificuldade no controle, a *S. Heidelberg* vem sendo isolada no Brasil desde 1962 em aves e produtos derivados da carne de frango. Destaca-se como um dos principais sorovares causadores de infecções em humanos no mundo, ocupando a quarta posição dentre os mais isolados (Vieira *et al.*, 2015; Vieira *et al.*, 2009).

Nos últimos anos observou-se uma maior prevalência de *S. Heidelberg* em programas de controle e de monitoramento (Ferrari *et al.*, 2019). Segundo dados da Organização Mundial da Saúde (*World Health Organization – WHO*), em seu programa *Global Salm-Surv* até o ano de 2012, *S. Heidelberg* esteve entre os 15 sorovares mais sorotipificados em amostras de animais, meio ambiente e de alimentação animal. No Brasil é um dos sorovares mais

detectados em seres humanos e mais prevalente em alimentos destinados para alimentação humana. Além disso, *S. Heidelberg* também esteve entre os sorovares mais sorotipificados entre os anos de 2013 a 2014 e 2016 a 2018, de acordo com o Sistema de Alertas Rápidos para Gêneros Alimentícios e Alimentos para Animais. Sua crescente importância tem levado à realização de estudos em razão da forte resistência exercida às drogas antimicrobianas, como ceftiofur e ceftriaxona, limitando as opções de tratamento em casos de salmoneloses (PHACASPC, 2007; Robinsom, 2013; Shah *et al.*, 2017).

Diante de tantas dificuldades no combate a *S. Heidelberg*, torna-se imprescindível a realização de estudos específicos que visam a novas metodologias e ferramentas no controle deste patógeno. Neste contexto, busca-se maior aprofundamento e aperfeiçoamento do conhecimento relacionado à ação do gás amônia frente à cama aviária contaminada com diferentes patógenos.

A amônia é um composto químico comumente utilizado nas indústrias, e de grande aplicabilidade no setor de refrigeração. Também é usada como desinfetante em alguns segmentos, porém na forma de quaternário de amônio (Wirén, 2004).

Em relação à avicultura, a amônia tem origem do acúmulo de excretas das aves, que possuem alto teor de ácido úrico. Após sofrerem ação da enzima uricase, são convertidas em ácido alantóico, e novamente serão convertidas em ureidoglicolato. Após este processo, juntamente com glioxilato e ureia são hidrolisadas em  $\text{NH}_3$  e gás carbônico (Kim and Patterson, 2003). Os sistemas de produção de frangos de corte favorecem a produção de  $\text{NH}_3$ , visto as altas densidades de alojamento das aves, o tipo de cama utilizado e o baixo período

de intervalo entre lotes como fatores contribuintes. Outro fator que pode contribuir são as dietas adotadas, aproximadamente 55% do nitrogênio presente nas rações poderá ser excretado na cama aviária (Silva, 2011; Egute *et al.*, 2010).

O mecanismo de ação de  $\text{NH}_3$  intracelular ainda não é claramente compreendido e elucidado. Sabe-se que em células animais pode atingir e atravessar a parede celular bacteriana (Warren, 1962). Já no interior dela, acredita-se que  $\text{NH}_3$  atue aumentando o pH intracelular através de influxo direto, ligação a íons de hidrogênio e no deslocamento da concentração de potássio para fora da célula, ocasionando desestabilidade da homeostase celular. Desta forma o composto vem sendo estudado frente a diferentes microrganismos, contudo ainda não há de forma efetiva estudos que possam embasar a eficiência do composto frente a *Salmonella* e outros patógenos (Luther, 2015; Decrey *et al.*, 2016; Gehring *et al.*, 2020).

O objetivo deste estudo foi avaliar a ação do gás amônia injetado de forma controlada nas concentrações 0,25%, 0,5% e 1% em camas aviárias contaminadas artificialmente por *S. Heidelberg*.

## MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi realizado junto ao Centro de Diagnóstico e Pesquisa de Sanidade Animal (CDSA) da Universidade de Passo Fundo (UPF) e foi aprovado pela Comissão de Ética Animal da Universidade de Passo Fundo (registro nº 015/2020).

A cepa de *S. Heidelberg* utilizada foi proveniente de um isolado de campo. As amostras de cama aviária utilizadas no experimento tinham sido recicladas durante 11 lotes e foram submetidas a esterilização em autoclave. A amostra

de *S. Heidelberg* foi reativada em caldo BHI e incubada a  $37\pm 1^\circ\text{C}$  por 24 horas. Cinco gotas de  $10\mu\text{L}$  da cultura foram inoculadas em placas de Petri contendo Ágar Padrão de Contagem (PCA) e posteriormente incubadas a  $37^\circ\text{C}/24\text{h}$ . O resultado da contagem foi multiplicado por 20 e pelo fator de diluição, obtendo-se o resultado de  $2,58 \times 10^9$  UFC/ml de *S. Heidelberg*. Ainda foi realizada a identificação bioquímica de *Salmonella* (ISO 6579, 2002).

Amostras de cama contendo 4kg e previamente esterilizadas, foram colocadas em sacos plásticos estéreis e contaminadas com 1 mL de cultura bacteriana contendo  $2,58 \times 10^9$  UFC/ml de *S. Heidelberg*, após foi homogeneizado as amostras em várias direções. A espessura da cama nos sacos plásticos foi de aproximadamente 20 cm, visando simular uma condição semelhante a cama de uma granja. Posteriormente, foi injetado gás amônia nas concentrações 0,25%, 0,5% e 1%.

A mensuração da quantidade de gás amônia injetado nas amostras foi verificada através da redução do peso do cilindro que continha o gás, posicionado sobre uma balança de precisão digital. Todos os tratamentos, inclusive os controles positivos (cama + inóculo) e negativos (cama), foram testados em quadruplicata. Após 48 horas, os sacos plásticos foram abertos em capela de fluxo laminar e foram coletadas 25 g de cama aviária de cada amostra, as quais foram homogeneizadas em 225 mL de caldo peptona de soja 1% com o auxílio de agitador mecânico, permanecendo em estufa a  $37^\circ\text{C}\pm 2^\circ\text{C}$  por 24 horas. Em seguida foram retiradas alíquotas de 0,1 mL e transferidas para 9,9 mL de caldo tetracionato e também para 9 mL de caldo Rappaport-Vassialidis. Os caldos foram incubados em estufa a  $37^\circ\text{C}$  e a  $42^\circ\text{C}$

respectivamente por 24 horas. As amostras foram retiradas e estriadas em Ágar xilose-lisina-tergitol-4, Ágar Macconkey e Ágar BPLS para isolamento de cultura típica de *Salmonella*. Nas placas com crescimento de colônias típicas de *Salmonella* Heidelberg foram realizados testes bioquímicos a fim de confirmar o isolamento.

Para análise estatística dos dados foi utilizado o Teste de Dunn - post-hoc de Kruskal-Wallis ( $P > 0,05$ ).

## RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os resultados obtidos estão representados na Tabela 1.

Tabela 1: Efeito desinfetante do gás amônia em diferentes concentrações em camas de aviário contaminadas com *Salmonella* Heidelberg.

	Amostras Positivas	p-valor
Controle positivo	4 (100%) a	
Controle negativo	0 (0%) b	
Concentração NH <sub>3</sub> - 0,25%	1 (25%) b	0,004
Concentração NH <sub>3</sub> - 0,5%	0 (0%) b	
Concentração NH <sub>3</sub> - 1,0%	0 (0%) b	

Os valores que apresentam as mesmas letras minúsculas não diferem entre si pelo Teste de Dunn - post-hoc de Kruskal-Wallis ( $p > 0,05$ ).

O gás amônia nas concentrações de 0,5 e 1% apresentou 100% de eficácia na eliminação de *S. Heidelberg*. Já na concentração de 0,25 %, embora não tenha sido verificado diferença estatística em relação aos tratamentos 0,5 e 1%, uma das quatro amostras testadas apresentou resultado positivo.

A hipótese de que diferentes concentrações do gás amônia pudessem ser eficientes na eliminação de *S. Heidelberg* em cama aviária contaminada foi confirmada. Os resultados obtidos neste estudo concordam com Mendonça *et al.* (2021) que relataram a eficácia do gás amônia a 1% frente a diferentes sorovares de *Salmonella*, dentre eles *S. Heidelberg*. Neste mesmo trabalho, em

condições de campo, a concentração de aproximadamente 0,24% foi eficaz na eliminação de *S. Heidelberg* em camas de aviário contaminadas por este agente. Contudo, a espessura da cama da granja testada era de 10 cm, enquanto no presente trabalho foi utilizado uma espessura de 20 cm. Estima-se, em função do gás amônia ser volátil, que quanto maior a espessura da cama, maior deverá ser a dose de gás amônia injetado para que as camadas de cama mais profundas possam ser desinfetadas (Chen *et al.*, 2015; Mendonça *et al.*, 2021). Embora em condições de campo, a concentração de salmonelas é maior nas camadas superficiais da cama (Lopes *et al.* 2015).

Voss-Rech, *et al.* (2017) observaram que o método lona na superfície gerou 0,28% de amônia e não foi eficiente na eliminação da *Salmonella* Heildeberg em cama de aviário artificialmente contaminadas. Neste estudo foi utilizado o método de Kjeldhal para detecção da amônia, o qual detecta o nitrogênio da amônia e do amônio presente na cama. Warren (1962) demonstrou que a amônia (NH<sub>3</sub>) passa facilmente pelas membranas celulares, enquanto o amônio (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) tem uma baixa penetração, o que reduz sua ação como desinfetante.

Himathongkham and Riemann (1990) e Koziel, *et al.* (2017) observaram que a concentração inibitória mínima de amônia para eliminar *S. Typhimurium*, *Staphilococcus aureus* e outros microrganismos resistentes em carcaças de animais digeridas em um período de 24 horas, foi 0,148 % e 0,734%, respectivamente, demonstrando que as bactérias apresentam diferentes graus de sensibilidade à ação desinfetante da amônia.

A ação desinfetante da amônia ainda não está bem compreendida, entretanto acredita-se que sua entrada na célula gera uma desestabilidade da homeostase

celular, devido ao aumento do pH intracelular (Warren, 1962). Desta forma, vários são os fatores físico-químicos que podem interferir na eficiência dos métodos de desinfecção de camas reutilizadas (Gehring *et al.*, 2020). Fatores como umidade, temperatura, pressão de infecção microbiana e pH podem interferir diretamente no processo fermentativo e produtivo de gás amônia produzido naturalmente (Turnbull and Snoevenbos, 1973; Trabulsi, 2015). Egute *et al.* (2010) verificaram menor produção de amônia em camas com alta umidade, devido ao aumento da formação de amônio e pela redução de velocidade da atividade microbiana e enzimática (Liu *et al.*, 2006). Traldi *et al.* (2007) e Ottoson *et al.* (2008) relataram que a cama aviária reutilizada apresenta valores de pH e amônia volatilizada mais elevados quando comparados com cama aviária de primeiro lote. Isso pode ser explicado pelo acúmulo de ácido úrico na cama que ocorre conforme aumenta o número de lotes realizados sobre ela. Também, a adição da cal virgem ou hidratado sobre a cama contribui na elevação de seu pH, melhorando a ação da enzima uricase, e, conseqüentemente, elevando a produção de amônia (Kim and Patterson, 2003). Reece *et al.* (1980) observaram que níveis de amônia são baixos na cama quando seu pH for inferior a 7. Este fator acarreta maior produção de amônio, o qual apresenta baixa atividade antimicrobiana (Payne *et al.*, 2007).

Desta forma, a injeção de gás amônia de forma controlada com uma lona plástica sobreposta a cama é um método que poderá melhorar a desinfecção de camas reaproveitadas, isolando fatores como os parâmetros físicos-químicos que interagem e interferem no processo de produção do gás amônia por fermentação microbiana (Mendonça *et al.*, 2021). Além disso, o método

lona na superfície com a injeção de amônia controlada irá reduzir de 10 para 2 dias o período de desinfecção comparado aos métodos tradicionais (adição de cal, lona na superfície e enleiramento), gerando maior lucratividade e viabilidade econômica na produção avícola (Rosa, 2014; Chen *et al.*, 2015; Mendonça *et al.*, 2021).

Os dados deste trabalho demonstraram que a dose de 0,5% de amônia garante a eliminação de *S. Heidelberg* em cama de aviário reaproveitada em uma espessura de 20 cm em um período de 48 horas. Contudo, essa dose pode ser ajustada dependendo da espessura da cama e do tempo de aplicação. Koziel *et al.* (2017) demonstraram que quanto maior o tempo de exposição da amônia a *S. Typhimurium* maior foi seu efeito desinfetante. Os resultados deste trabalho esclarecem por que a técnica lona na superfície não garante a desinfecção da cama. Esse método gera no máximo 0,1% de gás amônia pelo processo de fermentação bacteriana, enquanto o necessário para garantir a eliminação de *Salmonella Heidelberg* deve ser superior a 0,5%. Assim, o presente estudo pode colaborar no aperfeiçoamento do método lona na superfície com injeção de amônia no controle da *S. Heidelberg* em camas reaproveitadas, contribuindo, assim, na produção de alimentos mais seguros ao consumidor.

## REFERÊNCIAS

Andrade, A. 2017. Qualidade físico-química e microbiológica da cama de frango de corte reutilizada e acidificada. MSc. Dissertação. Campus Universitário de Sinop, Univ.Mato Grosso, Mato Grosso, Brasil.

Chen, Z., H. Wang, C. Ionita, F. Luo, and X. Jiang. 2015. Effects of chicken litter storage time and ammonia content on thermal resistance of desiccation-adapted *Salmonella* spp. *Appl. Environ. Microbiol.* 81:6883–6889. Physico-chemical study of poultry litter.

Decrey, L., S. Kazama, and T. Kohn. 2016. Ammonia as an in situ sanitizer: influence of virus genome type on inactivation. *Appl. Environ. Microbiol.* 82:4909–4920.

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. *Rev. Bras. Pesqui. Desenvol* 12:1–6.

Ferrari, R. G., D. K. A. Rosario, A. Cunha-Neto, S. B. Mano, E. E. S. Figueiredo, and C. A. Conte-Junior. 2019. Worldwide Epidemiology of *Salmonella* Serovars in Animal-Based Foods: a Meta-analysis. *Appl. Environ. Microbiol.*

Gehring, V.S., E. D. Santos, B. S. Mendonça, L. R. Santos, L. B. Rodrigues, E. L. Dickel, L. Daroit, and F. Pilotto. *Alphitobius diaperinus* control and physicochemical study of poultry litters treated with quicklime and shallow fermentation. *Poult. Sci.* <https://>

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0032579119578361?via%3Dihub>

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

ISO. International Organization for Standardization 6579. 2002. Microbiology of food and animal feeding stuffs. Horizontal method for the detection of *Salmonella* spp.

Kim W. K., and P. H. Patterson. 2003. Effect of minerals on activity of microbial uricase to reduce ammonia volatilization in poultry manure. *Poult Sci.* 82: 223-231.

Koziel, J. A., T. S. Frana, H. Ahn, T. D. Glanville, L. T. Nguyen, and J. Van Leeuwen. 2017. Efficacy of NH<sub>3</sub> 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

Liu Z., L. Wang, and D. B. Beasley. 2006. **Uma revisão dos modelos de emissão de amônia liberados de casas de frangos de corte** Reunião Anual asae, Sociedade Americana de Engenheiros Agrícolas e Biológicos.

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

Luther A. K. 2015. Ammonia toxicity in bacteria and its implications for treatment of and resource recovery from highly nitrogenous organic wastes. PhD. Diss. Univ. New Jersey State.

Mendonça, B. S., W. R. Oliveira, R. S. Pereira, L. R. Santos, L. B. Rodrigues, E. L. Dickel, L. Daroit, and F. Pilotto. 2021. Use of ammonia gas for *Salmonella* control in poultry litters. *Poult. Sci.* 100:314-318. 10.1016/j.psj.2020.10.008.

Orrico, A. C. A., S. Sgavioli, and R. G. Garcia. 2015. Estratégias para a utilização de camas em aviário. Disponível em: <<http://pt.engormix.com/MA-avicultura/administracao/artigos/estrategias-utilizacao-camas-aviario-t2110/124-p0.htm>>.

Ottoson, J., A. Nordin, D. Von Rosen, B. Vinneras. 2008. Salmonella reduction in manure by the addition of urea and ammonia. *Bioresour. Technol.* 99(6): 1610-1615.

Payne, J. B., J. E. Osborne, P. K. Jenkins, and B. W. Sheldon. 2007. Modeling the growth and dead kinetics of *Salmonella* in poultry litter as a function of pH and water activity. *Poult. Sci.* 86:191-201. doi:10.1093/ps/86.1.191

Public Health Agency of Canada – PHACASPC - *Salmonella* Heidelberg. 2007. Ceftiofur-related resistance in human and retail chicken isolates.

Disponível em: [http://www.phacaspc.gc.ca/cipars-picra/heidelberg/pdf/heidelberg\\_e.pdf](http://www.phacaspc.gc.ca/cipars-picra/heidelberg/pdf/heidelberg_e.pdf). Acesso em: maio 2020.

Rech, D. V. 2017. Impacto de tratamentos de cama aviária reutilizada na viabilidade e infectividade de micro-organismos. MSc Diss. Faculdade de Medicina Veterinária, Fed. Univ. Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil.

Reece, F. N., B. D. Lott, and J. W. Deaton. 1980. **Amônia na atmosfera durante a ninhada afeta o desempenho de filhotes de frango** *Poult. Sci.*, 59:486-488.

Robinson, S. 2013. The Big Five: Most Common *Salmonella* Strains in Foodborne Illness Outbreaks. *Food Safety News*. Disponível em: <http://www.foodsafetynews.com/2013/08/the-five-most-common-salmonella-strains/#.UsbJ5dJDunI> Acesso em: março 2020.

Rosa, P. S. 2014. Cama para frangos de corte. Produção de frangos de corte, 2 ed. FACTA: Campinas, 9:153-180.

Shah, D. H., N. C. Paul, W. C. Sicho, R. Crespo, and J. Guard. 2017. Population dynamics and antimicrobial resistance of the most prevalent poultry-associated *Salmonella* serotypes. *Poult. Sci.*, 96:687–702. <https://doi.org/10.3382/ps/pew342>

Silva, V. S. 2011. Métodos e segurança sanitária na reutilização de cama de aviários. Páginas 175-200 in 22 Palhares, J. C. P., A. Kunz. (Ed.) Manejo ambiental na Avicultura. 1.ed. 23 Concórdia: Embrapa Suínos e Aves.

Trabulsi J.B and Alterthum F. Microbiologia. 6 ed. São Paulo. Atheneu, 2015.

Traldi, A. B., M. C. Oliveira, K. F. Duarte, and V. M. B. Moraes. 2007. **Avaliação de probióticos na dieta de frangos de corte criados em cama nova ou reutilizada** Rev. Bras. Zootec. 36:660-665.

Turnbull, P. C., and G. H. Snoeyenbos. 1973. The roles of ammonia, water activity, and pH in the salmonellacidal effect of long-used poultry litter. *Avian diseases*. 17(1):72-86.

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

Vieira, A. R., A. B. Jensen, S. M. Pires, S. Karlsmose, H. C. Wegener, D. M. A. Lo Fo Wong, and WHO GSS Members. 2009. WHO Global Foodborne Infections Network Country Databank – A resource to link human and non-human sources of Salmonella. [Poster] ISVEE Conference, Durban, South Africa. Disponível em: <[www.who.int/gfn/activities/CDB\\_poster\\_sept09.pdf](http://www.who.int/gfn/activities/CDB_poster_sept09.pdf)>.

Vieira, M. F. A., I. F. F. Tinoco, B. M. Santos, K. R. A. Inoue, and M. A. S. A. Mendes. 2015. Sanitary quality of broiler litter reused. *Engenharia Agrícola, Jaboticabal*. 35(5):800-807.

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

Von Wirén, N., and M. Merrick. 2004. Regulation and function of ammonium carriers in bacteria, fungi, and plants. *Molecular Mechanisms Controlling Transmembrane Transport*. Pages 95-120 In: *Topics In Currents Genetics*. Springer, Berlin, Heidelberg.

WHO - World Health Organization. *Salmonella* (non-typhoidal). 2017.  
Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs139/en>. Acesso  
em: Setembro 2020.

## 4 CAPÍTULO II<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Artigo escrito conforme as normas do periódico Poultry Science

## **EFEITO DA AMÔNIA GÁS SOBRE *EIMERIA SPP***

### **Efeito do gás amônia em cama aviária contaminada com *Eimeria spp***

C. da Rosa <sup>\*</sup>, V. P. do Nascimento <sup>\*</sup>, W. R. de Oliveira <sup>#</sup>, L. B. Rodriguez <sup>§</sup>,

L. Daroit <sup>§</sup>, F. Pilotto <sup>\*2</sup>

\* Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil.

# WR Industria

§ Universidade de Passo Fundo, Brasil

1 Autor correspondente: F. Pilotto

fernandopilotto@upf.br

BR 285, São José, Passo Fundo, RS, Brasil. CEP: 99052-900.

Fone: (+55 54) 3316-8485.

---

**RESUMO** A coccidiose aviária é uma das doenças mais prevalentes na avicultura mundial. Possui grande importância econômica na cadeia avícola, acarretando elevação dos custos de produção devido às perdas zootécnicas e ao uso de anticoccidianos. As práticas utilizadas para o controle desta patologia na criação das aves estão fundamentadas principalmente na utilização de antimicrobianos, os quais tem gerado aumento de resistência das *Eimerias* e de outros microrganismos. Frente a isso, se faz necessário a busca por novos modelos e estratégias de controle. Diversos trabalhos denotam que as *Eimerias* spp apresentam sensibilidade ao gás amônia. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do gás amônia em diferentes concentrações em cama aviária contaminada artificialmente com oocistos de *Eimeria* spp não esporulados. Amostras de cama de aviário esterilizadas foram colocadas em recipientes contaminadas artificialmente com oocistos de *Eimeria* spp não esporulados. Em seguida as amostras foram alocadas dentro de sacos plásticos e realizado a injeção do gás amônia nas concentrações 0,2%, 0,4%, 0,8%, 1% e 1,2%. As amostras permaneceram em contato com o gás amônia durante 1 hora dentro de saco plástico, depois foram armazenadas em ambiente com aeração natural e temperatura de 25°C. Após 48 horas, foi realizado a contagem de oocistos esporulados e não esporulados de cada amostra utilizando a técnica modificada de Gordon e Whitlock (1939). Todos os tratamentos, inclusive os controles positivos e negativos, foram testados em quadruplicata. As dosagens testadas do gás amônia inibiram em 100% a esporulação dos oocistos em cama de aviário. O estudo revela que o gás amônia é eficiente na eliminação de *Eimeira* spp em cama de aviário na concentração igual ou superior a 0,2 %, após 1 hora de exposição. Os

resultados deste trabalho são promissores e contribuirão no desenvolvimento de novas metodologias para o controle da coccidiose aviária.

**Palavras-chave:** Gás amônia, Eimerias, cama aviária, frango de corte.

## INTRODUÇÃO

A coccidiose aviária é uma doença comum na avicultura industrial; causada pelo protozoário *Eimeria* spp. A enfermidade acomete plantéis de matrizes, aves de postura e principalmente frangos de corte; ocasiona perdas nos índices zootécnicos das aves (Assis *et al.*, 2013) e gera um prejuízo global de aproximadamente 10,4 bilhões por ano (Blake *et al.*, 2020).

*Eimerias* spp são parasitas intracelulares e apresentam características próprias, como a presença de complexo apical formado por anel apical, conóide, micronemas, roptrias e micróporo. Os conóides são responsáveis pela penetração na célula, e os demais compostos por secretarem as substâncias enzimáticas (Kawazoe, 2009). Logo após a infecção, os protozoários causam danos na mucosa intestinal e, conseqüentemente redução na absorção dos nutrientes da dieta (Gabriel *et al.*, 2006; Pinheiro *et al.*, 2014).

São descritas diferentes espécies de *Eimerias* spp que podem acometer a saúde das aves, porém as espécies mais prevalentes no Brasil em frangos de corte são *E. acervulina*, *E. máxima* e *E. tenella* e nas aves de postura comercial, além das citadas, são encontradas outras espécies como *E. necatrix*, *E. brunetti*, *E. praecox* e *E. mitis* (Kawazoe, 2009). Na maioria dos casos de coccidiose, pode-se verificar a forma subclínica. Quando observados casos agudos, as aves apresentam sintomas de maior relevância como diarreia mucoide ou sanguinolenta, desidratação, despigmentação da pele, prostração, perda de peso, susceptibilidade a infecções secundárias e morte (Pinheiro *et al.*, 2014).

Os oocistos de *Eimeria* spp são bastante resistentes ao meio ambiente, e apresentam multiplicação rápida em condições favoráveis de temperatura, umidade e oxigênio no ambiente (Lovato *et al.*, 2018). Também, a crescente utilização de medicamentos preventivos via ração (anticoccidianos) estão promovendo maior preocupação com o desenvolvimento de resistência antimicrobiana e presença de resíduos de medicamentos na carne (Lovato *et al.*, 2018; Ojimekwe *et al.*, 2018).

Neste contexto, busca-se métodos alternativos ao uso de anticoccidianos para o controle da coccidiose. O gás amônia tem demonstrado ser eficaz na destruição de oocistos de *Eimeria* spp. em concentrações elevadas (Horton-Smith *et al.*, 1940; Chroustova and Pinka, 1986; Fayer, 1996; Lorenzoni, 2020).

A amônia é um composto químico comumente utilizado nas indústrias, e de grande aplicabilidade no setor de refrigeração, apresentando baixo custo. Também é usada como desinfetante em alguns segmentos, porém na forma de quaternário de amônio (Wirén, 2004). Na avicultura, a amônia tem origem na fermentação microbiana do ácido úrico presente na cama aviária. O ácido úrico após sofrer ação da enzima uricase dos microrganismos, é convertido em amônia e gás carbônico (Kim and Patterson, 2003).

Seu mecanismo de ação ainda não é claramente compreendido, sabe-se que em células animais pode atravessar facilmente a parede celular. Já no seu interior, acredita-se que  $\text{NH}_3$  atue aumentando o pH intracelular através de influxo direto, ligação a íons de hidrogênio e no deslocamento da concentração de potássio para fora da célula, o que levaria a desestabilidade da homeostase celular (Warren, 1962; Lovato *et al.*, 2018).

O novo método de desinfecção de cama aviária com lona na superfície e injeção de gás amônia controlada na concentração de 1% tem demonstrado eficácia na eliminação de *S. Heidelberg*, *S. Typhimurium* e *S. Enteritidis* em testes realizados *in vitro* e de campo (Mendonça *et al.*, 2021). Desta forma vem sendo estudado o composto frente a diferentes microrganismos, contudo ainda não há de forma efetiva estudos que possam embasar a sua eficiência frente a *Eimeria* spp e outros microrganismos (Luther, 2015; Decrey *et al.*, 2016; Gehring *et al.*, 2020).

O objetivo deste estudo foi avaliar a ação do gás amônia injetado de forma controlada em diferentes concentrações em cama de aviário contaminada artificialmente com *Eimerias* spp.

## MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Centro de Diagnóstico e Pesquisa de Sanidade Animal (CDSA) da Universidade de Passo Fundo (UPF) e foi aprovado pela Comissão de Ética Animal da Universidade de Passo Fundo (registro nº 015/2020).

Dezesseis pintos de corte com 10 dias de idade, da linhagem Cobb 500, vacinados para doença de Marek, Gumboro, Bronquite Infecciosa e Bouda Aviária, foram alojados no CEPAGRO - UPF em piso coberto por maravalha e em condições de bem-estar. Eles receberam ração a base de milho e farelo de soja sem anticoccidianos e tiveram acesso a água potável. No 12º dia de idade foi realizado a inoculação de vacina com oocistos esporulados por via oral nas aves (Costa, 2009). Os oocistos esporulados de *Eimeria* spp. utilizados foram oriundos de vacina viva atenuada Bio-Coccivet R, contendo as seguintes cepas: *E. acervulina*; *E. brunetti*; *E. maxima*; *E. necatrix*; *E.*

*praecox*; *E. tenella* e *E. mitis*, as quais foram isoladas de cepas de campo no Brasil.

As aves receberam inoculação experimental de 0,6 mL de vacina contendo  $20 \times 10^5$  oocistos esporulados através de uma cânula esofágica que foi acoplada a uma seringa de 1 mL. Após 144 horas da inoculação foi realizado a coleta das fezes das aves e feito a quantificação dos oocistos em esporulados e não esporulados presentes, seguindo a técnica modificada de Gordon e Whitlock (1939). Foram contabilizados 125.000 oocistos/grama de fezes e 100% destes apresentavam-se na fase não esporulada. Todos os procedimentos e materiais coletados foram realizados e mantidos respectivamente, em temperatura de 4°C a 7°C. Após a quantificação e avaliação dos oocistos não esporulados, foi preparado o inóculo dos oocistos através da diluição do volume total de fezes (600 mL) em solução de dicromato de potássio 2,5%.

Amostras de cama aviária, provenientes da criação de frangos de corte, contendo 0,5 kg e previamente esterilizadas foram depositadas em recipientes plásticos estéreis. Após, as amostras foram contaminadas com 25 mL de inóculo contendo 125.000 oocistos/mL de *Eimeria spp*, e foram homogeneizados em várias direções. A espessura da cama nos recipientes plásticos foi de aproximadamente 20 cm, visando simular uma condição semelhante a cama de uma granja avícola. Posteriormente, as amostras foram colocadas em saco plástico e receberam a injeção de gás amônia nas concentrações 0,2%, 0,4%, 0,8%, 1% e 1,2%. A mensuração da dose de gás amônia injetado nas amostras foi verificada através da redução do peso do cilindro que continha o gás, posicionado sobre uma balança de precisão

digital. Após 1 hora, os sacos plásticos foram abertos e as amostras mantidas em temperatura de 25°C a fim de estimular a esporulação dos oocistos. Todos os tratamentos, inclusive os controles positivos (cama + inóculo) e negativos (cama), foram testados em quadruplicata. Após 72 horas, em capela de fluxo laminar, foi realizada a coleta de 50 gramas de cama aviária de cada amostra, as quais foram submetidas a técnica modificada de Gordon e Whitlock (1939) para isolamento e quantificação dos oocistos. Ainda foi realizada avaliação morfológica dos oocistos de *Eimeria* spp. através de microscópio óptico. Os dados foram avaliados pelo Teste de Dunn – post-hoc do Teste de Kruskal-Wallis ( $P > 0,05$ ) e a comparação entre as médias pelo Teste de Mann-Whitney ( $P > 0,05$ ).

## RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os resultados obtidos no experimento estão demonstrados na Tabela 1.

Tabela 1- Efeito desinfetante do gás amônia em diferentes concentrações em camas de aviário contaminadas com *Eimeria* spp.

	Número de oocistos Esporulados/grama de fezes ( $\bar{x} \pm s$ )	Número de oocistos Não-esporulados/grama de fezes ( $\bar{x} \pm s$ )	p-valor
Controle positivo	105617,00 ± 656,39 aA	0,00 ± 0,00 aB	< 0,001
Concentração NH <sub>3</sub> - 0,2%	0,00 ± 0,00 bA	72202,00 ± 107,09 bB	< 0,001
Concentração NH <sub>3</sub> - 0,4%	0,00 ± 0,00 bA	66297,25 ± 112,40 cB	< 0,001
Concentração NH <sub>3</sub> - 0,8%	0,00 ± 0,00 bA	46004,00 ± 1536,76 dB	< 0,001
Concentração NH <sub>3</sub> - 1,0%	0,00 ± 0,00 bA	33995,00 ± 627,37 eB	< 0,001
Concentração NH <sub>3</sub> - 1,2%	0,00 ± 0,00 bA	25214,25 ± 131,55 fB	< 0,001
p-valor	< 0,001	< 0,001	-----

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

As concentrações de gás amônia (0,2%, 0,4%, 0,8%, 1% e 1,2%) inibiram em 100% a esporulação de oocistos de *Eimeria* spp. em camas de aviário reaproveitadas ( $P < 0,001$ ). No controle positivo houve esporulação dos oocistos e no controle negativo não foi verificada presença de oocistos, como

era esperado. Também se observou que, conforme a concentração do gás amônia foi aumentando, menor foi a contagem de oocistos não esporulados ( $P < 0,001$ ). Acredita-se que essa menor contagem se deve à rápida eliminação dos oocistos pelo gás amônia, o que pode ter ocasionado sua deterioração. O método Gordon e Whitlock (1939) utilizado necessita integridade da parede dos oocistos a fim de que estes flutuem, quando expostos a uma solução hiper saturada de glicose para serem identificados. A hipótese esperada de que o gás amônia em diferentes concentrações pudesse apresentar ação inibitória de esporulação sobre oocistos de *Eimeria* spp em cama aviária contaminada, foi confirmada concordando com os resultados encontrados na literatura.

Horton-Smith *et al.* (1940), utilizando concentração de 25 ppm de gás amônia eliminou 100% dos oocistos em uma hora. Já em concentração de 7,7 ppm foi igualmente eficaz em período de três horas. Também foi revelado que a fumigação com gás amônia em aviários de frango de corte pode ser eficiente utilizando uma concentração de 8 ppm em condição hermética, sendo a colocação de lona na superfície da cama defendido durante o processo de fumigação com o gás amônia. Ainda no mesmo estudo, diferentes diluições de amônia líquida foram letais frente aos oocistos de *Eimeria* spp. A solução a 1% eliminou 100% dos oocistos em 24 horas, solução a 5% eliminou os oocistos em 2 horas e, a solução a 10% foi capaz de eliminar e inviabilizar os oocistos em 45 minutos.

Chroustova and Pinka (1986) relataram, que o hidróxido de amônio e gás amônia na concentração de 0,5% durante 24 horas, inibiram a esporulação

dos oocistos. Esses autores concluem que a ação da amônia está relacionada à grande toxicidade independentemente do pH da solução.

Fayer *et al.* (1996) revelaram a eficiência do gás amônia e outros compostos de baixo peso molecular frente aos oocistos de *Cryptosporidium parvum*, levando à perda da viabilidade e infectividade com tratamento de 5% em 18 horas.

Lorenzoni (2020) relata a sensibilidade dos oocistos de *Eimeria* spp no meio ambiente, principalmente quando se encontram fora do hospedeiro por período de duas ou mais semanas. O estudo também defende a necessidade do uso de protocolo eficiente de desinfecção de cama aviária reaproveitada, a fim de reduzir a quantidade de oocistos no ambiente, e ainda um programa de vacinação. Essa estratégia pode gerar resultados positivos, trazendo novas alternativas quanto ao controle da coccidiose aviária.

De acordo com Dai Prá *et al.* (2009) e Muniz *et al.* (2014), a utilização de métodos de desinfecção de camas reaproveitadas (adição de cal, enleiramento e lona na superfície) atuam no pH, na volatilização da amônia e na retenção de nitrogênio que, conseqüentemente mantém a cama com baixa umidade, dificultando a esporulação dos oocistos de *Eimeria* spp. Entretanto estes fatores devem interagir de forma eficiente a fim de elevar a produção de amônia, a qual exerce ação antimicrobiana frente aos microrganismos (Oliveira *et al.*, 2004; Ferreira *et al.*, 2004; Soliman *et al.*, 2018).

Em concordância com o presente estudo, Garcés-Gudiño *et al.* (2018) relataram maior quantidade de oocistos em cama nova em relação à cama reaproveitada de frangos de corte. A maior produção de amônia em cama reaproveitada pode ser responsável por esta redução no número de oocistos.

O estudo também reforça os resultados obtidos por Chapman and Johnson (1992) e Assis *et al.* (2013), que relevaram redução significativa no número de oocistos de *Eimeria acervulina* quando a cama foi submetida ao tratamento de fermentação com enleiramento e lona plástica por 10 dias.

Outro fator importante está relacionado aos relatos de Kawazoe (2009), os quais indicam a resistência da parede do oocisto de *Eimeria* spp. à proteólise e impermeabilidade a substâncias solúveis em água, incluindo os diferentes desinfetantes comumente utilizados na cadeia avícola. Entretanto, o autor também relatou a eficiência de alguns compostos químicos de baixo peso molecular na eliminação dos oocistos, como o gás de amônia, brometo de metila e alguns compostos fenólicos. Kim e Patterson (2003) relatam que a adição da cal virgem ou hidratado sobre a cama contribui na elevação de seu pH, melhorando a ação da enzima uricase e, conseqüentemente elevando a produção de amônia.

Reece *et al.* (1980) and Payne *et al.* (2007) observaram que níveis de amônia são baixos na cama quando seu pH for inferior a 7, e este fator contribui para maior produção de amônio, composto que apresenta baixa atividade antimicrobiana. Mendonça *et al.* (2021), utilizando o método lona na superfície com injeção controlada de gás amônia, verificou que a concentração de 1% é eficiente para eliminar *S. Heidelberg*, *S. Typhimurium* e *S. Enteritidis* em camas de aviário contaminadas.

Desta forma, a injeção de gás amônia de forma controlada com lona plástica sobreposta a cama é um método que poderá melhorar a desinfecção de camas reaproveitadas, isolando os parâmetros físico-químicos que interagem e interferem no processo de produção do gás amônia natural por fermentação

microbiana (Mendonça *et al.*, 2021). Além disso, o método lona na superfície com a injeção de amônia irá reduzir de 10 para 2 dias o período de desinfecção em relação aos métodos tradicionais (adição de cal, lona na superfície e enleiramento), gerando maior lucratividade e viabilidade econômica na produção avícola (Rosa *et al.*, 2014; Mendonça *et al.*, 2021).

Os dados deste trabalho demonstraram que concentrações iguais ou superiores a 0,2% de amônia garantem a eliminação e inibição de esporulação de oocistos de *Eimeria* spp em camas de aviário reaproveitadas em uma espessura de 20 cm em um período de 1 hora. Assim, o presente estudo pode colaborar no aperfeiçoamento do método lona na superfície com injeção de amônia no controle de *Eimeria* spp. em camas aviárias reaproveitadas, e contribuir para a redução do uso de anticoccidianos oferecendo aos consumidores um alimento mais seguro, livre de resíduos e microrganismos resistentes aos antimicrobianos.

## REFERÊNCIAS

- Assis, R. C. L., F. L. Luns, and M. C. Cury. 2013. Desinfecção com amônia quaternária associada à fermentação não potencializa o controle de coccidiose em cama de frango. *Ciência Rural*. 43:1459-1463.
- Blake, P. D., J. Knox, B. Dehaeck, B. Huntington, T. Rathinam, V. Ravipati, S. Ayoade, W. Gilbert, A. O. Adebambo, I. D. Jatau, M. Raman, D. Parker, J. Rushton, and F. M. Tomley. 2020. Re-calculating the cost of coccidiosis in chickens. *Vet. Research, França*. 51:115:1-14.
- Chapman, H. D., and Z. B. Johnson. 1992. Oocysts of *Eimeria* in the litter of broilers reared to eight weeks of age before and after withdrawal of lasalocid or salinomycin. *Poult. Sci.* 71:1342-1347.
- Chroustová, E., and K. Pinka. 1989 The Efficiency of Disinfectants on the Oocysts of *Eimeria tenella*. *Veterinary Research Institute, EUA*. 5:141-149. Disponível em: <https://actavet.vfu.cz/56/1/0141/>. Acesso em: 10 jun. 2020
- Costa C. A. F., and D. P. Paiva. 2009. Cultivo in vivo, in vitro e diagnóstico específico de *Eimeria* spp. de *Gallus Gallus*. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica.
- Dai Prá, M. A., E. K. Correa, V. F. Roll, E. G. Xavier, D. C. N. Lopes, F. F. Lourenço, J. T. Zanusso, and A. P. Roll. 2009. Uso de cal virgem para o controle de *Salmonella* spp. e *Clostridium* spp. em camas de aviário. *Ciência Rural*. 39:1189-1194.

Decrey, L., S. Kazama, and T. Kohn. 2016. Ammonia as an in situ sanitizer: influence of virus genome type on inactivation. *Appl. Environ. Microbiol.* 82:4909–4920.

Fayer R., T. K. Graczyk, M. R. Cranfield, and J. M. Trout. 1996 Gaseous disinfection of *Cryptosporidium parvum* oocysts. *Appl Environ Microbiol.* 62:3908–39.

Ferreira, H. A., M. C. Oliveira, and A. B. Traldi. 2004. Efeito de condicionadores químicos na cama de frango sobre o desempenho de frangos de corte. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia.* 56:542-546.

Gabriel, L., S. Mallet, M. Leconte, G. Fort, and M. Naciri. 2006. Effects of whole wheat feeding on the development of coccidial infection in broiler chickens until market-age. *Animal Feed Sci. and Tec.* 129:279-303.

Garcés-Gudiño, J., R. Merino-Guzmán, and A. L. Cevallos-Gordón. 2018. Litter reuse reduces *Eimeria* spp. oocyst counts and improves the performance in broiler chickens reared in a tropical zone in Ecuador. *Europe Poult. Sci.* 82.

Gehring, V. S., E. D. Santos, B. S. Mendonça, L. R. Santos, L. B. Rodrigues, E. L. Dickel, L. Daroit, and F. Pilotto. 2020. *Alphitobius diaperinus* control and physicochemical study of poultry litters treated with quicklime and shallow fermentation. *Poult. Sci.* <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0032579119578361?via%3Dihub>

Gordon H. M. C. L., and H. V. Whitlock. 1939. A new technique for counting nematode eggs in sheep faeces. *Journal of the Council for Scientific and Industrial Research* 12:50-53.

Horton-Smith, C., E. L. Taylor, and E. E. Turtle. 1940. Ammonia Fumigation for Coccidial Desinfection. *Journal article: Vet. Record.* 52:829-832.

Kawazoe, U. 2009. Coccidiose. In: Berchieri Junior A. e Macari, M. *Doenças das Aves.* 2. Ed. Fundação APINCO de Ciências e Tecnologia Avícola (APINCO), Campinas- SP, cap. 7:391-423.

Kim W. K., and P. H. Patterson. 2003. Effect of minerals on activity of microbial uricase to reduce ammonia volatilization in poultry manure. *Poult. Sci.* 82:223-231

Lorenzoni, G. 2020. Avian Coccidiosis. Extension Report. Univ. Pennsylvania State.

Lovato, M. 2018. Coccidiose. Páginas 141-149 em *Doenças das Aves.* Lovato, M., and H. F. Dos Santos. São Paulo: Kindle Direct Publishing.

Luther A. K. 2015. Ammonia toxicity in bacteria and its implications for treatment of and resource recovery from highly nitrogenous organic wastes. PhD. Diss. Univ. New Jersey State.

Mendonça, B. S., W. R. Oliveira, R. S. Pereira, L. R. Santos, L. B. Rodrigues, E. L. Dickel, L. Daroit, and F. Pilotto. 2021. Use of ammonia gas for *Salmonella* control in poultry litters. *Poult. Sci.* 100:314-318. 10.1016/j.psj.2020.10.008.

Muniz, E., D. Mesa, R. Cuaspa, A. M. Souza, and E. Santin. 2014. Presence of *Salmonella* spp. in reused broiler litter. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*. 27:12-17.

Ojimekwe, A. E., D. E. Emedhem, G. O. Agu, F. O. Nduka, and A. E. Abah. 2018. Populations of *Eimeria tenella* express resistance to commonly used anticoccidial drugs in southern Nigeria. *Int Journal of Vet. Sci. and Med.* 6:192- 200.

Oliveira, M. C.; H. A. Ferreira, and L. C. Cancherini. 2004. Efeito de condicionadores químicos sobre a qualidade da cama de frango. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 56:536-541.

Payne, J. B., J. E. Osborne, P. K. Jenkins, and B. W. Sheldon. 2007. Modeling the growth and death kinetics of *Salmonella* in poultry litter as a function of pH and water activity. *Poult. Sci.* 86:191-201. doi:10.1093/ps/86.1.191.

Pinheiro, B., A. Da Silva, M. Cavalcante, I. Mendonça, and A. Conde Júnior. 2014. Coccidiose em Frangos de Produção. *Revista Científica de Med. Vet.* Ano XII, Núm. 22.

Reece, F. N., B. D. Lott, and J. W. Deaton. 1980. **Amônia na atmosfera durante a ninhada afeta o desempenho de filhotes de frango** *Poult. Sci.* 59:486-488

Rosa, P. S. 2014. Cama para frangos de corte. *Produção de frangos de corte*, 2 ed. FACTA: Campinas. 9:153-180.

Soliman, E. S., N. H. Sallam, and E. M. Abouelhassan. 2018. Effectiveness of poultry litter amendments on bacterial survival and *Eimeria* oocyst sporulation. *Vet. World*. 11: 1064-1073.

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

Von Wirén, N., and M. Merrick. 2004. Regulation and function of ammonium carriers in bacteria, fungi, and plants. *Molecular Mechanisms Controlling Transmembrane Transport*. Pages 95-120 In: *Topics In Currents Genetics*. Springer, Berlin, Heidelberg.

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os dados deste trabalho demonstraram que a dose de 0,5% de  $\text{NH}_3$  garante a eliminação de *Salmonella* Heidelberg em cama de aviário reaproveitada em uma espessura de 20 cm e em um período de 48 horas. Contudo, essa dose pode ser ajustada dependendo da espessura da cama e do tempo de aplicação. Ainda, demonstra que concentrações iguais ou superiores a 0,2% de  $\text{NH}_3$  garantem a eliminação e inibição de esporulação de oocistos de *Eimeria* spp. em camas de aviário reaproveitadas também com espessura de 20 cm em um período de 1 hora.

Os resultados deste trabalho esclarecem por que a técnica lona na superfície não garante a total desinfecção da cama. Esse método gera no máximo 0,1% de gás amônia pelo processo de fermentação bacteriana, enquanto o necessário para garantir a eliminação de *S. Heidelberg* e oocistos de *Eimerias* spp. deve ser igual ou superior a 0,5% e 0,2% respectivamente. Assim, o presente estudo pode colaborar no aperfeiçoamento do método lona na superfície com injeção de amônia controlada para o combate da *S. Heidelberg* e *Eimeria* spp. em camas reaproveitadas. Este método pode contribuir para a produção de alimentos mais seguros e na redução do uso de anticoccidianos, oferecendo ao consumidor um alimento livre de resíduos e microrganismos resistentes aos antimicrobianos.

## REFERÊNCIAS

- ABBAS, R. Z. *et al.* Immunomodulatory activity of *Pinus radiata* extract against coccidiosis in broiler chicken. **Pakistan Veterinary Journal**. Pakistan. v. 37, p. 145-149. Mar. 2017.
- ACHARYA, K. P. *et al.* Health approach in Nepal: scope, opportunities and challenges. **One Health**. v. 8, p. 1-4. Aug. 2019.
- ACHARYA, K. P. *et al.* One-health approach: A best possible way to control rabies. **One Health**. v. 10, p. 1-9. Dec. 2020.
- ANDRADE, N. J. **Higiene na indústria de alimentos: avaliação e controle da adesão e formação de biofilmes bacterianos**. São Paulo: Varela, 2008. 412 p.
- 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, 2017.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL. **Relatório Anual 2020**. São Paulo, 32 p. 2020. Disponível em: <[https://abpa-br.org/wp-content/uploads/2020/05/abpa\\_relatorio\\_anual\\_2020\\_portugues\\_web.pdf](https://abpa-br.org/wp-content/uploads/2020/05/abpa_relatorio_anual_2020_portugues_web.pdf)>. Acesso em: set. 2020.
- BACK, A. **Manual de doenças de aves**. 2. ed, Cascavel, PR: Integração, 2010, 311 p.
- BACK, A.; ISHIZUKA, M. M. **Principais doenças de notificação obrigatória da organização mundial de saúde animal**. São Paulo: Fundação Cargill, 2010, 239 p.
- BERCHIERI, J. A. *et al.* **Doenças das aves**. 2.ed. Campinas: FACTA, 2009, 1104 p.
- BLAKE, P. D. *et al.* Re-calculating the cost of coccidiosis in chickens. **Veterinary Research**, United Kingdom v. 51, p. 115-129, Sept. 2020

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada n°. 14, de 28 de fevereiro de 2007. Aprova o regulamento técnico para produtos saneantes com ação antimicrobiana harmonizado no âmbito do Mercosul. **Diário Oficial [da] União**, Brasília DF, mar. 2007. Seção 1, p. 29.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Programa Nacional de Monitoramento da Prevalência e da Resistência Bacteriana em Frangos**. Brasília: ANVISA, 2008, 186 p.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada n°. 40, de junho de 2008. Aprova o regulamento técnico para produtos saneantes com ação antimicrobiana harmonizado no âmbito do Mercosul. **Diário Oficial [da] União**, Brasília DF, maio 2009. Seção 1, p. 57.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n° 04, 30 de dezembro de 1998. Atos legais. Normas para registro e fiscalização de estabelecimentos avícolas. **Diário Oficial [da] União**, Poder Executivo, Brasília DF, 30 dez. 1998, n° 251, Seção 1, p. 30.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n°. 20, de 21 de outubro de 2016. **Diário Oficial [da] União**, Brasília DF, 25 out. 2016. Seção 1, art. 4°.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Manual técnico de diagnóstico laboratorial de *Salmonella* spp.**: diagnóstico laboratorial do gênero *Salmonella*. Brasília: Fundação Oswaldo Cruz, 2011, 64 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Vigilância Epidemiológica. **Guia de vigilância epidemiológica**. Brasília, 2019.

BRASIL. Secretaria da Agricultura, Pecuária e Desenvolvimento Rural do Rio Grande do Sul. **Relatório Radiografia da Agropecuária Gaúcha 2019**. Porto Alegre, 2020, 27 p. Disponível em: <<https://www.agricultura.rs.gov.br/upload/arquivos/201909/04160605-revist-final-revisada.pdf>>. Acesso em: nov. 2020.

BRITO, D. A. P. *et al.* Desempenho produtivo e rendimento de carcaça de frangos criados em diferentes materiais de cama aviária. **Ciência Animal Brasileira**, Maranhão, v. 17, n. 2, p. 192-197, abr./jun. 2016.

BROWN-JAQUE, M.; CALERO-CACERES, W.; MUNIESA, M. Transfer of antibiotic-resistance genes via phage-related mobile elements. **Plasmid**, Spain, v. 79, p. 1–7, Jan. 2015.

CAMPOS, M. F. F. S. *et al.* Identificação parasitológica da cama de frango reutilizada em uma granja avícola. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, Maranhão, v. 25, n. 1, dez. 2018.

CARDOSO, A. L. S. P. *et al.* Ocorrência de *Salmonella* spp. Em carcaças de frango provenientes de abatedouros do estado de São Paulo, Brasil, no período de 2000 a 2010. **Revista Científica de Medicina Veterinária**, São Paulo, n. 4 p. 1-13, jan. 2015.

CERCA, N. **Biofilmes: na saúde, no ambiente, na indústria**. Porto: Publindústria, 2012. 416 p.

CERVANTES, H. M. Antibiotic-free poultry production: is it sustainable? **Journal of Applied Poultry Research**, New Jersey, v. 24, p. 91-97, Mar. 2015.

CHAPMAN, H. D. Drug resistance in avian coccidia (a review). **Veterinary Parasitology**, United Kingdom v. 15, p. 11-27. July 1984.

CHAPMAN, H. D. Rotation programmes for coccidiosis control. **International Poultry Production**, v. 15, p. 7–9, 2007.

CHAPMAN, H. D.; JEFFERS T. K. Vaccination of chickens against coccidiosis ameliorates drug resistance in commercial poultry production. **International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance**, USA, v. 4, p. 214-217, Dec. 2014.

CHERNAKI-LEFFER A. M. *et al.* Isolamento de enterobactérias em *Alphitobius diaperinus* e na cama de aviários no oeste do estado do Paraná, Brasil. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, Campinas, v. 4, n. 3, p. 243–247, set./dez. 2002.

CHROUSTOVÁ, E.; PINKA, K. The efficiency of disinfectants on the oocysts of *Eimeria tenella*. **Veterinary Research Institute**, USA, v. 56, n. 1, p. 141-149, may1989. Disponível em: <<https://actavet.vfu.cz/56/1/0141/>>. Acesso em: 10 jun. 2020

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**, Paraná, v.14, n. 27, p. 319-341. dez. 2015.

DAVIDSON, P. M.; HARRISON M. A. Resistance and Adaptation to Food Antimicrobials, Sanitizers, and Other Process Controls. **Food Technology**, USA. v. 56, n. 1. Nov. 2002

DAVIS, A.; SHARP, J. Rethinking One Health: Emergent human, animal and environmental assemblages. **Social Science & Medicine**. United Kingdom, v. 258, p. 1-8. Aug. 2020

DESOUKY, A. Y., EL-MIDANY, S. A. Evaluation of the efficacy of some different disinfectants commonly used in poultry farms against coccidial oocysts. **Egyptian Veterinary Medical Society of Parasitology Journal**, Egypt, v. 1, p. 151- 157. 2003

DUNLOP, M. W. *et al.* Water activity of poultry litter: Relationship to moisture content during a grow-out. **Journal of Environmental Management**, Australia, v. 172, p. 201-206. May 2016.

DUTTA, P. *et al.* Gross/histopathological impact of *Salmonella Gallinarum* isolated from layer chickens in Jaipur and their antibiograma assay. **International Journal of Advanced Veterinary Science and Technology**, India, v. 4, p. 153-159. Apr. 2015.

DUTIL, L. *et al.* Ceftiofur Resistance in *Salmonella enterica* Serovar Heidelberg from Chicken Meat and Humans, Canada. **Emerging Infectious Diseases Journal**. v. 16, p. 48-54. Jan. 2010.

EDGAR, S. A. Sporulation of oocysts at specific temperatures and notes on the prepatent period of several species of avian coccidia. **Journal of Parasitology**. v. 41, n. 2, p. 214-216. Apr. 1955.

EL-DAKHLY, K. H. M. *et al.* *In vitro* study of disinfectants on the embryonation and survival of *Toxascaris leonina* eggs. **Journal of Helminthology**. v. 92, n. 5, p. 530-534. Sep. 2018.

EUROPEAN COMMISSION. **The rapid alert system for food and feed safety alerts 2016 annual report**. Luxembourg, Nov. 2017. 64 p.

EUROPEAN COMMISSION. **The rapid alert system for food and feed safety alerts 2018 annual report**. Luxembourg, Nov. 2019. 53 p.

FATOBA, A. J.; ADELEKE, M. A. Transgenic Eimeria parasite: A potential control strategy for chicken coccidiosis. **Acta Tropica**. South Africa, v. 205, p. 1-6. Feb. 2020.

FAYER, R. *et al.* Gaseous disinfection of *Cryptosporidium parvum* oocysts. **Applied and Environmental Microbiology**. v. 62, p. 3908-3909. Oct. 1996.

FEDERATION OF VETERINARIANS OF EUROPE. **FVE position paper on coccidiostats or anticoccidials**. Brussels. doc. 040. 6 p. June 2016.

FERRARI, R. G. *et al.* Worldwide Epidemiology of Salmonella Serovars in Animal-Based Foods: a Meta-analysis. **Applied and Environmental Microbiology**. v. 85, p. 1-21. Apr. 2019.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION, WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Influenza and other emerging zoonotic diseases at the human animal interface**. *In: Animal production and health proceedings*. Verona, Italy, p. 27-29 Apr. 2010.

FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da segurança dos alimentos**. 2 ed. Porto Alegre: Artmed, 2002. 620 p.

FRAZIER, W. C. **Microbiologia de los Alimentos**. Zaragoza, Espanha: Acribia, 1972. 539 p.

FRIESE, C.; NUYTS, N. Post humanist critique and human health: how nonhumans (could) figure in public health research. **Critical Public Health**. v. 27, p. 303–313. Mar. 2017.

GABRIEL, L. *et al.* Effects of whole wheat feeding on the development of coccidial infection in broiler chickens until market-age. **Animal Feed Science and Technology**, v. 129, n. 3-4, p. 279-303, Sept. 2006.

GADELHAQ, S. M.; ARAFA, W. M.; ABOLHADID, S. M. *In vitro* activity of natural and chemical products on sporulation of *Eimeria* species oocysts of chickens. **Veterinary Parasitology**. v. 251, n. 15, p. 12-16. Feb. 2018.

GARCIA, R. G. *et al.* Alternativas para a composição de cama de frango. **Agrarian**. Dourados. v. 6, n. 19, p. 81-89, out. 2013.

GEHRING, V.S. *et al.* *Alphitobius diaperinus* control and physicochemical study of poultry litters treated with quicklime and shallow fermentation. **Poultry Science**. v. 99, n. 4, p. 2120-2124. Apr. 2020.

GIESSEN, E. F. K. Disinfection in Poultry Medicine - Aims and Means, 48, **Lohmann information**. v. 48, n. 2, p. 3-16. Oct. 2013.

GLOBAL G.A.P. Integrated Farm Assurance Livestock Base. **Benchmarking Cross-Reference Checklist: Control Points and Compliance Criteria - Poultry**. 2 ed. Cologne, Germany, Apr. 2016. v. 5.

GRIMES, J. L. Alternatives litter materials for growing poultry. **North Carolina Poultry Industry Newsletter**. v. 1, n. 2. July 2004.

GRIMONT, P. A. D.; WEILL, F. X. Antigenic Formulae of the *Salmonella* Serovars. **WHO Collaborating Center for Reference and Research on Salmonella**. 9<sup>th</sup> ed. France: Institute Pasteur, 2007. 167 p.

GOGARTEN, J. P.; TOWNSEND, J. P. Horizontal gene transfer, genome innovation and evolution. **Nature Reviews Microbiology**. v. 3, p. 679-687. Aug. 2005.

GOMES, H. A. Manejo de jejum pré-abate, perdas e qualidade de carcaças. *In: XVII Simpósio Brasil Sul de Avicultura e VIII Brasil Sul Poultry Fair, 2016, Chapecó. Anais. Concórdia, Santa Catarina: Embrapa Suínos e Aves, 2016. p. 23-32.*

GUASTATELLI, E. A. L.; SOARES, N. M. Colibacilose aviária. **Arquivos do Instituto Biológico**. Comunicado Técnico. São Paulo, n. 150. jan. 2011.

GUIMARAES JÚNIOR, J. S. *et al.* In vitro evaluation of the disinfection efficacy on *Eimeria tenella* unsporulated oocysts isolated from broilers. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**. Jaboticabal, v. 16, n. 2, p. 67-71. abr./jun. 2007.

GYLES, C. L. Antimicrobial resistance in selected bacteria from poultry. **Animal Health Research Reviews**, v. 9, n. 2, p. 149-158, Dec. 2008.

HALD, T. *et al.* A Bayesian approach to quantify the contribution of animal-food sources to human salmonellosis. **Risk Analysis**, v. 24, n. 1, p. 225-269, Feb. 2004.

HARPER, C. G.; MAKATOUNI, A. Consumer perception of organic food production and farm animal welfare. **British Food Journal**. United Kingdom, v. 104, n. 3/4/5, p. 287-299. Apr. 2002.

HARRY, E. G., BROWN, W. B. Fumigation with Methyl Bromide, Applications in the poultry industry, a Review. **World's Poultry Science Journal**. v. 30, n. 3, p. 193-216. Sep. 1974.

HILBRICH, P. Disinfection tests on *Eimeria tenella* oocysts. **Berliner und Munchener Tierärztliche Wochenschrift**. v. 88, p. 144-148. Apr. 1975.

HIMATHONGKHAM S. *et al.* Reduction of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella typhimurium* in artificially contaminated alfalfa seeds and mung beans by fumigation with ammonia. **Journal of Food Protection**. v. 64, n. 11, p. 1817-1819. Nov. 2001.

HOFER, E.; SILVA FILHO, S. J.; REIS, E. M. F. Prevalência de sorovares de *Salmonella* isolados de aves no Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. Rio de Janeiro, v. 17, n. 2, p. 55-62, abr./jun. 1997.

HORTON-SMITH, C.; TAYLOR, E. L.; TURTLE, E. E. Ammonia Fumigation for Coccidial Desinfection. **Veterinary Record**. v. 52 p. 829-832. 1940

ITO, N. *et al.* Saúde gastrointestinal, manejo e medidas para controlar as enfermidades gastrointestinal *In*: MACARI, M. *et al.* **Produção de frangos de corte**. Campinas: FACTA, 2004. cap. 13, p. 237-248.

JAENISH, F. R. F. *et al.* Importância da higienização na produção avícola. **Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento**. Comunicado Técnico. Concórdia, dez. 2004. Disponível em: [http://www.cnpa.embrapa.br/sgc/sgc\\_publicacoes/cot363.pdf](http://www.cnpa.embrapa.br/sgc/sgc_publicacoes/cot363.pdf)

JOHN, A. H. *et al.* The agri-food chain and antimicrobial resistance: A review. **Trends in Food Science & Technology**. United Kingdom, v. 69, part A, p. 131-147. Nov. 2017.

JONES, T. F. *et al.* Salmonellosis outcomes differ substantially by serotype. **Journal of Infectious Diseases**. v. 198, n. 1, p. 109-114. July 2008.

KADYKALO, S. *et al.* The value of anticoccidials for sustainable global poultry production. **International Journal of Antimicrobial Agents**. v. 51, n. 3, p. 304-310, Mar. 2018.

KAWAZOE, U. *et al.* Characterization and histopathological observations of a selected Brazilian precocious line of *Eimeria acervulina*. **Veterinary Parasitology**. Brazil. v. 131, n. 1/2, p. 5-14. July 2005.

KAWAZOE, U. Coccidiose. *In*: BERCHIERI JUNIOR A.; MACARI, M. **Doenças das aves**. 2. ed. Campinas: APINCO, 2009. cap. 7, p. 391-423.

KIM, W. K.; PATTERSON, P. H. Effect of minerals on activity of microbial uricase to reduce ammonia volatilization in poultry manure. **Poultry Science**. USA, v. 82, n. 2, p. 223-231. Feb. 2003.

KOLUMAN, A.; DIKICI, A. Antimicrobial resistance of emerging foodborne pathogens: Status quo and global trends. **Critical Reviews in Microbiology**, v. 39, n.1, p. 57-69. May 2013.

KOSKI, P.; KUUSELA, A. J. Matança de *Gyrodactylus salaris* por calor e desinfecção química. **Acta Veterinaria Scandinavica**. v. 58, n. 21, p. 1-6. Mar. 2016.

LERTWORAPREECHA, M.; SUTTHIMUSIK, S.; TONTIKAPONG, K. Antimicrobial Resistance in Salmonella enterica Isolated from Chicken, and Vegetables in Southern Thailand. **Jundishapur Journal of Microbiology**. v. 6, n. 11, p. 36-41. 2013.

LIU, Z.; WANG, L.; BEASLEY, D. B. A review of emission models of ammonia released from broiler houses. *In*: ASABE Annual International Meeting. 2006, Portland. **Presentation**. Portland: North Carolina State University, 2006.

LOPES, M. *et al.* An assessment of the effectiveness of four in-house treatments to reduce the bacterial levels in poultry litter. **Poultry Science**. v. 94, n. 1, p. 2094-2098. Sept. 2015.

LOVATO, M. Coccidiose. *In*: LOVATO, M.; DOS SANTOS, H. **Doenças das Aves**. São Paulo: Kindle Direct Publishing, 2018. p. 141-149.

LUTHER, A. K. **Ammonia toxicity in bacteria**. 2015. Dissertation (Doctor of Philosophy) – Environmental Science, The University of New Jersey, New Jersey, 2015.

MACHADO, T. R. N. et al. Avaliação da resistência de *Salmonella* à ação de desinfetantes ácido peracético, quaternário de amônio e hipoclorito de sódio. **Revista Instituto Adolfo Lutz**. São Paulo, v. 69, p. 475-81. 2010.

MARTINS, R. S. **Efeito da fermentação da cama de aviário na qualidade da cama, na ambiência e no desenvolvimento de pododermatites em frangos de corte**. 2013. Dissertação (Mestrado) - Pós-Graduação em agroecossistemas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis. fev. 2013.

MATHIS, G. *et al.* Effect of lasalocid or salinomycin administration on performance and immunity following coccidia vaccination of commercial broilers. **Journal of Applied Poultry Research**. v. 23 n. 4, p. 577–585. Dec. 2014.

MCDONELL, G.; RUSSELL, A. D. Antiseptics and disinfectants: activity, action and resistance. **Clinical Microbiology**. v. 12, p. 147-179. Jan. 1999.

MENDONÇA, E. P. **Características de virulência, resistência e diversidade genética de sorovares de *Salmonella* com impacto em saúde pública, isolados de frangos de corte no Brasil**. 2016. Tese (Doutorado) – Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, maio 2016.

MENDONÇA, B. S. *et al.* Use of ammonia gas for Salmonella control in poultry litters. **Poultry Science**. v. 100, p. 314-318. 2021. DOI: 10.1016/j.psj.2020.10.008.

MERIANOS, J. J. Quaternary ammonium antimicrobial compounds. *In*: BLOCK, S. S. **Disinfection, sterilization and preservation**. 4<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1991. p. 225-253.

MORAES, M. S. V. *et al.* Isolament of aerobic mesofilic and thermofilic spores in equipments of poultry slaughter and their resistance against the chemists disinfectants. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 17, p. 325-329. Dec. 1997

MUNIZ, E. C. **Salmonelas paratíficas em aves: avaliação da resposta imunológica e controle por meio de probióticos**. 2014. Tese (Doutorado) - Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2014.

MUNIZ, E. D. *et al.* Presence of *Salmonella* spp. in reused broiler litter. **Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias**. v. 27, n. 1, p. 12-17. Jan./Mar. 2014.

MUNIZ, F. R. **Redução de bactérias gram negativas em camas de aviário tratadas com lona na superfície e gás amônia**. 2020. Dissertação (Mestrado) – Pós-Graduação em Bioexperimentação, Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, 2020.

MURER, L. Salmoneloses. *In*: LOVATO, M.; SANTOS, H. F. **Doenças das Aves**. São Paulo: Kindle Direct Publishing, jun. 2018, p. 107.

NANSHAN, Q. *et al.* Observation and experiment station of veterinary drugs and diagnostic techniques of Guangdong Province. **Guangdong Academy of Agricultural Sciences**. China. Jan. 2020.

NETO, G. J. O espetáculo dos números do frango permanece em cartaz. **Anualpec 2011**: Anuário da pecuária brasileira. São Paulo: Instituto FNP, 378 p. 2011.

OJIMELUKWE, A. E. *et al.* Populations of *Eimeria tenella* express resistance to commonly used anticoccidial drugs in southern Nigeria. **International Journal of Veterinary Science and Medicine**. v. 6, n. 2, p. 192-200. Jun. 2018.

OLIVEIRA, M. C.; GODOI, C. R. Tratamento da cama de frango sobre o desempenho das aves e qualidade da carcaça e da cama – Revisão de literatura. **PUBVET**. Londrina, v. 4, n. 7, ed. 112, art. 755. jan. 2010.

ORRICO, A. C. A.; SGAVIOLI, S.; GARCIA, R. G. Estratégias para a utilização de camas em aviário. **Avicultura**. Dourados, set. 2015. Disponível em: <[http://pt.engormix.com/MA-avicultura/administracao/artigos/est\\_rategias-utilizacao-camas-aviario-t2110/124-p0.htm](http://pt.engormix.com/MA-avicultura/administracao/artigos/est_rategias-utilizacao-camas-aviario-t2110/124-p0.htm)>. Acesso em: mar. 2020.

PEEK, H. W., LANDMAN, W. J. Resistance to anticoccidial drugs of Dutch avian *Eimeria* spp. field isolates originating from 1996, 1999 and 2001. **Avian Pathology**. v. 32, n. 4, p. 391-340. Feb. 2003.

PEEK, H. W.; LANDMAN W. J. Higher incidence of *Eimeria* spp. field isolates sensitive for diclazuril and monensin associated with the use of live coccidiosis vaccination with Paracox-5 in broiler farms. **Avian Diseases**. v. 50, n. 3, p. 434-439. Sep. 2006.

PEEK, H. W.; LANDMAN, W. J. M. Coccidiosis in poultry: anticoccidial products, vaccines and other prevention strategies. **The Veterinary Quarterly**. Animal Health Service, The Netherlands. v. 31, n. 3, p. 143-161. Sep. 2011.

PELCZAR, M. *et al.* **Microbiologia**. São Paulo: McGraw-Hill do Brasil, 1980. Volume I

PEREIRA L. P. F.; MERCANTE C. T. J. A amônia nos sistemas de criação de peixes e seus efeitos sobre a qualidade da água. **Boletim do Instituto de Pesca**. São Paulo, v. 31, n. 1, p. 81-88. jun. 2005.

PEREIRA, P. E. R. **Bem-estar, qualidade de carne de peito e integridade intestinal de frangos de corte**. 2010. 62 f. Dissertação (Mestrado) – Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade Estadual Júlio de Mesquita, 2010.

PINHEIRO, B. *et al.* Coccidiose em frangos de produção. **Revista Científica de Medicina Veterinária**. São Paulo, n. 22, p. 1-11. jan. 2014.

PROJETO APPCC INDÚSTRIA. **Elementos de apoio para o sistema APPCC**. Brasília: SENAI/ND, 1999, 371p.

PUBLIC HEALTH AGENCY OF CANADA. **Salmonella Heidelberg – Ceftiofur-related resistance in human and retail chicken isolates**. Canada. 14 p. 2006.

PUBLIC HEALTH AGENCY OF CANADA. **Salmonella Heidelberg - Ceftiofur-related resistance in human and retail chicken isolates**. Canada. 2007.

RAO, S. **Antibiotic Susceptibility Testing**. p. 1-2. 2013. Disponível em: <<http://www.microrao.com>> Acesso em: abr. 2020.

REZENDE, C. S. *et al.* Sorovares de Salmonella isolados de carcaças de frangos de corte abatidos no Estado de Goiás, Brasil, e perfil de resistência a antimicrobianos. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**. Portugal. v. 100, p. 199-203, dez. 2005.

ROBINSOM, S. The Big Five: Most common *Salmonella* strains in foodborne illness outbreaks. **Food Safety News**. Aug. 2013. Disponível em: <<http://www.foodsafetynews.com/2013/08/the-five-most-common-salmonella-strains/#.UsbJ5dJDunI>>. Acesso em: mar. 2020.

ROCHA, P. A. S.; TON, A. P. S. Reutilização de cama de aviário: Efeito do tratamento térmico no desempenho e desenvolvimento de pododermatites em frangos de corte, na qualidade da cama e ambiência. *In: VII Mostra da Pós-Graduação*. Universidade Federal do Mato Grosso. out. 2015.

RODRIGUES, D. Perspectivas atuais e falhas no diagnóstico antigênico de *Salmonella* spp: importância no reconhecimento dos sorovares circulantes, emergentes e exóticos. *In: Seminário internacional sobre Salmonellosis aviarias. Anais*. Rio de Janeiro: UBABEF, p. 28-30. jun. 2011.

ROMÃO, C. M. C. A. Desinfecção e esterilização química. *In: TEIXEIRA, P.; VALLE, S. Biossegurança: uma abordagem multidisciplinar*. Rio de Janeiro: FIOCRUZ, 1996; p. 133- 162.

ROSSI, F.; ANDREAZZI, D. B. **Resistência bacteriana: interpretando o antibiograma**. São Paulo: Atheneu, 2005. 118 p.

ROSSONI, E. M. M; GAYLARDE, C. C. Comparison of sodium hypochlorite and peracetic acid as sanitising agents for stainless steel food processing surfaces using epifluorescence microscopy. **International Journal of Food Microbiology**. v. 61, n. 1, p. 81-85. Oct. 2000.

RYLEY, J. F. Drug resistance in coccidian. **Advances in Veterinary Science and Comparative Medicine**. v. 24, p. 99-120. 1980.

SAMAHA, H. A. T. *et al.* Assessment efficiency of some chemical disinfectants commonly used against coccidia in poultry Farms. **Alexandria Journal of Veterinary Sciences**. v. 39, n. 1, p. 82-90. 2013.

SANTOS, M. J. B. *et al.* Manejo e tratamento de cama durante a criação de aves. **Revista Eletrônica Nutritime**, v. 9, n. 3, p. 1801-1815 –maio/jun. 2012.

SANTOS, T. M. B.; LUCAS, J.; SAKOMURA, N. K. Effects of broiler stocking density and poultry litter reuse in broiler performance and poultry litter production. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**. v. 100, p. 45-52. 2005.

SCHLUNDT, J. Emerging food-borne pathogens. **Biomedical and Environmental Science**. v. 14, n. 1/2, p. 44-52. May 2001.

SCHWARZ, S. *et al.* Multi-resistance. Newsletter to the National Reference Laboratories for Antimicrobial Resistance. **DTU Food - National Food Institute**. n. 4, p. 1-4. 2010.

SESTI, L. C. A. Biossegurança em granjas de frangos de corte: conceitos e princípios gerais. *In*: Simpósio Brasil Sul de Avicultura, 2004, Chapecó. **Anais**. Chapecó: Núcleo Oeste de Médicos veterinários, 2004, p. 55-72.

SHAH, D. H. *et al.* Population dynamics and antimicrobial resistance of the most prevalent poultry-associated *Salmonella* serotypes. **Poultry Science**. v. 96, n. 3, p. 687-702. Mar. 2017.

SHIVARAMAIAH, C. *et al.* Coccidiosis: recent advancements in the immunobiology of *Eimeria* species, preventive measures, and the importance of vaccination as a control tool against these Apicomplexan parasites. **Veterinary Medicine Research and Reports**. v. 5, p. 23-34. Feb. 2014.

SILVA, V. S. *et al.* Efeito de tratamentos sobre a carga bacteriana de cama de aviário reutilizada em frangos de corte. **Comunicado Técnico 467**. Concórdia: Embrapa Suínos e aves. dez. 2007, 10 p.

SILVA, V. S. Métodos e segurança sanitária na reutilização de cama de aviários. *In*: PALHARES, J. C. P.; KUNZ, A. **Manejo ambiental na Avicultura**. Concórdia: Embrapa Suínos e Aves, 2011. cap. 5, p. 175-200.

SNYDER, R. P. *et al.* Restoration of anticoccidial sensitivity to a commercial broiler chicken facility in Canada. **Poultry Science**. v. 100, n. 2, p. 663-674. Feb. 2020.

TAVARES, W. **Manual de antibióticos e quimioterápicos anti-infecciosos**. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 2001. 792 p.

TONDO, E. C.; RITTER, A. C. *Salmonella* and Salmonellosis in Southern Brazil: a review of the last decade. *In*: MONTES, A. S.; SANTOS, P. E. (Eds.). ***Salmonella: classification, genetics and disease outbreaks***. Nova Science Publishers, 2012. p. 175-191.

UNITED STATES OF AMERICA. Centers for Disease Control and Prevention. **Food net data on the incidence of infection with pathogens transmitted commonly through food**. *In*: Morbidity and mortality weekly Report. 2008. v. 57, n. 14, p. 366-370. Disponível em: <[http://www.who.int/salmsurv/en.\(2008\)](http://www.who.int/salmsurv/en.(2008))>. Acesso em: maio 2020.

UNITED STATES OF AMERICA. Centers for Disease Control and Prevention. ***Salmonella***. 2014. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/salmonella/>> Acesso em: mar. 2020.

UNITED STATES OF AMERICA. Centers for Disease Control and Prevention. **National enteric disease surveillance: salmonella annual report**. Atlanta, 2016. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/nationalsurveillance/pdfs/2016-Salmonella-report-508.pdf>>. Acesso em: mar. 2020.

VAZ, C. S. L. *et al.* Interventions to reduce the bacterial load in recycled broiler litter. **Poultry Science**. v. 96, n. 8, p. 2587-2594. Aug. 2017.

VERTOMMEN, M. H. Situação da coccidiose na Europa. *In*: Simpósio Internacional de Coccidiose, 2004, Santos. **Anais**. Santos: FACTA, 2004. p. 61-84.

VIEIRA, A. R. *et al.* WHO Global foodborne infections network country databank – a resource to link human and non-human sources of *Salmonella*. *In*: ISVEE Conference, 2009, South Africa. **Poster**. Durban, South Africa, 2009. Disponível em: <[www.who.int/gfn/activities/CDB\\_poster\\_sept09.pdf](http://www.who.int/gfn/activities/CDB_poster_sept09.pdf)>. Acesso em: abr. 2020.

VIEIRA, M. F. A. *et al.* Sanitary quality of broiler litter reused. **Engenharia Agrícola**. Jaboticabal, v. 35, n. 5, p. 800-807. set./out. 2015.

VON WIRÉN, N.; MERRICK, M. Regulation and function of ammonium carriers in bacteria, fungi, and plants. **Molecular Mechanisms Controlling Transmembrane Transport**. Berlin, p. 95-120. Feb. 2004.

VOSS-RECH, D. Impact of treatments for recycled broiler litter on the viability and infectivity of microorganisms. **Veterinary Microbiology**. v. 203, p. 308-314. Mar. 2017.

WALTER, L. Manejo da cama de frangos de corte e aspectos microbiológicos no ambiente de produção. *In*: Seminário internacional sobre coccidiose e qualidade intestinal, 2000, Campinas. **Anais**. Campinas. p. 44-54, 2000.

WARREN, K. S. Ammonia toxicity and pH. **Nature**. v. 195, p. 47-49. Jul. 1962.

WEI, F. X. Ammonia concentration and relative humidity in poultry houses affect the immune response of broilers. **Genetics and Molecular Research**. v. 14., n. 2, p. 3160-3169. Apr. 2015.

WIEST, J. M. Desinfecção e desinfetantes. *In*: GUERREIRO, M. G. *et al.* **Bacteriologia Especial: com interesse em saúde animal e saúde pública**. Porto Alegre: Sulina, 1984, cap. 5, p. 51-66.

WILLIAMS, R. B. A compartmentalised model for the estimation of the cost of coccidiosis to the world's chicken production industry. **International Journal for Parasitology**. v. 29, n. 8, p. 1209-1229. Aug. 1999.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Global network global foodborne infections network. **Global Salm Surv**. 2016. Disponível em: <[http://thor.dfvf.dk/pls/portal/GSS.COUNTRY\\_DATA\\_SET\\_REP.show\\_parms](http://thor.dfvf.dk/pls/portal/GSS.COUNTRY_DATA_SET_REP.show_parms)> Acesso em: abril de 2020.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. *Salmonella*. 2017a. Disponível em: <[http://www.who.int/foodsafety/areas\\_work/foodborne-diseases/salmonella/en/](http://www.who.int/foodsafety/areas_work/foodborne-diseases/salmonella/en/)>. Acesso em: ago. 2020.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. *Salmonella, non-typhoidal*. 2017b. Disponível em: <[http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs139/en](http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs139/en/)>. Acesso em: set. 2020.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. *Salmonella*. 2018. Disponível em:  
<[https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-\(non-typhoidal\)](https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-(non-typhoidal))>.  
Acesso em: set. 2020.

ZAHARAN, O. **Studies on the methods of control of rabbit coccidiosis**. 1979. Thesis  
(Doctor of Philosophy) - Faculty of Veterinary Medicine, Cairo University. Cairo, 1979.