

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ  
COORDENAÇÃO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
CÂMPUS DOIS VIZINHOS

JEFERSON POLASSO

**AVALIAÇÃO DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE ÓXIDO DE CÁLCIO E A  
ASSOCIAÇÃO COM ÁCIDO PERACÉTICO SOBRE A ATIVIDADE  
ANTIBACTERIANA EM *Salmonella* HEIDELBERG EM CAMA DE AVIÁRIO DE  
FRANGO DE CORTE**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO 2

DOIS VIZINHOS- PR  
2018

JEFERSON POLASSO

**AVALIAÇÃO DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE ÓXIDO DE CÁLCIO E A ASSOCIAÇÃO COM ÁCIDO PERACÉTICO SOBRE A ATIVIDADE ANTIBACTERIANA EM *Salmonella* HEIDELBERG EM CAMA DE AVIÁRIO DE FRANGO DE CORTE**

Trabalho de Conclusão do Curso Superior em Ciências Biológicas – Licenciatura, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, câmpus Dois Vizinhos, como requisito parcial para aprovação na disciplina Trabalho de Conclusão de Curso 2.

Orientador: Prof. Dr. Cleverson Busso.

DOIS VIZINHOS- PR  
2018



Ministério da Educação

Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Câmpus Dois Vizinhos

Coordenação do Curso Ciências Biológicas



---

## TERMO DE APROVAÇÃO

Trabalho de Conclusão de Curso nº \_\_

**Avaliação de diferentes concentrações de óxido de cálcio e a associação com ácido peracético sobre a atividade antibacteriana em *Salmonella* Heidelberg em cama de aviário de frango de corte.**

por

**Jeferson Polasso**

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi apresentado às 13 horas e 30 minutos do dia 20 de junho de 2018, como requisito parcial para obtenção do título de biólogo (Curso Superior em Ciências Biológicas – Licenciatura, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Dois Vizinhos). O candidato foi arguido pela banca examinadora composta pelos membros abaixo assinados. Após deliberação, a banca examinadora considerou o trabalho APROVADO.

---

Prof. Dra. Marcela Tostes Frata

UTFPR - DV

---

Prof. Dr. Cleverson Busso

Orientador

UTFPR – Dois Vizinhos

---

Prof. Dr. Wagner Freitas

UTFPR - DV

---

Prof. Dra. Marcielle Felippi

Coordenadora do Curso de Ciências  
Biológicas

UTFPR – Dois Vizinhos

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a todos que me ajudaram durante o decorrer dos meus experimentos, primeiramente a Deus, por ter determinado o sucesso deste trabalho.

Dedico eternamente à pessoa mais maravilhosa que já conheci em toda minha vida, a pessoa que sempre esteve comigo em todos os momentos tristes ou felizes, me ensinou a andar, falar me protegeu com todo o amor que uma pessoa possa ter com a outra, me incentivou sempre a nunca desistir das coisas, e infelizmente não viveu tempo suficiente para ver seu querido filho se formar, é por isso que dedico com muito amor e carinho a você minha querida e amada mãe, vou sempre se lembrar de você minha rainha Marilene de Fátima Polasso, em memória.

Agradeço também ao meu pai que sempre esteve comigo nos momentos de dificuldade, a toda minha família, que não mediram esforços para me ajudar. Ao meu orientador professor Dr. Cleverson Busso por ter me orientado nesse trabalho e ter me ajudado nos experimentos, o meu muito obrigado de coração.

Agradeço à empresa a BRF pelo apoio, ao supervisor Robison Biesek, por ter me orientado no trabalho, ao médico veterinário Lourenço Sausen por ter dado dicas de como fazer meu experimento, à gerente agropecuária Tatiana Petry onde me auxiliou nas análises e autorizado no trabalho, ao pessoal do laboratório de patologia de Concórdia- SC por ter realizados as análises, enfim a todos que me ajudaram dentro da empresa, colegas, sanitaristas e coordenadores.

Agradeço muito à Joice Aparecida Leão médica veterinária do laboratório Mercolab de Cascavel-PR, onde me orientou e me enviou materiais que foram extremamente importantes, o meu muito obrigado.

Agradeço à minha companheira, amiga, confidente e que sempre está por perto para me ajudar, ensinar, apoiar e dar força nos momentos difíceis, grato de coração tudo o que fez por mim, minha esposa Marina Wust Vasconcelos, muito obrigado por tudo meu amor.

Enfim, a todos meus amigos e colegas que fizeram parte da minha vida acadêmica, fiz grandes amigos durante esse longo período de graduação.

## RESUMO

POLASSO, Jeferson. **Avaliação de diferentes concentrações de óxido de cálcio e a associação com ácido peracético sobre a atividade antibacteriana em *Salmonella* Heidelberg em cama de aviário de frango de corte.** 2018. 29 f. Trabalho de Conclusão de Curso (TCC 2) (Graduação em Ciências Biológicas – Licenciatura), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Dois Vizinhos, 2018.

A *Salmonella* Heidelberg é uma bactéria patogênica que vem demonstrando ser um grande problema sanitário para a avicultura. Deste modo, o presente trabalho busca avaliar a ação antibacteriana de diferentes concentrações de óxido de cálcio (cal) em associação ou não com ácido peracético (AP) sobre *S. Heidelberg*. Para isso, o experimento foi realizado *in vitro*, com cama de aviário autoclavada, onde foi inoculada *S. Heidelberg* na proporção de  $1,5 \times 10^8$  UFC/mL (unidades formadoras de colônias) para esse experimento foram utilizados 8 tratamentos com 50g de cama em cada um deles sendo estes: T1 1% de cal, T2 2%, T3 3%, T4 1% de cal + 3% de AP, T5 2% de cal + 3% de AP, T6 3% de cal + 3% de AP, T7 uma testemunha sem a cal e AP, T8 uma testemunha só com a cama inoculada. Esse experimento ficou em estufa com temperatura controlada em torno de 37°C para haver crescimento microbiano em um tempo estipulado de 12 dias, durante esse período foram coletadas amostras dos experimentos, no dia do experimento e posteriormente com 4, 8 e 12 dias, totalizando 64 amostras. Em todas as amostras, foram coletados 5g de cama e enviadas ao laboratório para análises de presença ou ausência de *Salmonella* Heidelberg. Foram feitas medições de pH no segundo dia após a montagem do experimento e após a última coleta dos 12 dias. O uso da cal virgem na concentração a partir de 1% mostrou-se efetivo, devido o aumento de pH e diminuição de umidade, já a associação com ácido peracético não se constatou diferenças nos resultados, onde as amostras também foram semelhantes a cal. Com isso podemos afirmar que para a ação de óxido de cálcio como agente antibacteriano devemos utilizar dosagens acima de 1%, sempre pesando a cama de aviário para constatar seu peso.

**Palavras-chave:** Avicultura. Bactéria patogênica. Tratamento. Cal virgem.

## ABSTRACT

POLASSO, Jeferson. **Evaluation of different concentrations of calcium oxide and the association with peracetic acid on antibacterial activity in *Salmonella Heidelberg* in broiler poultry litter.** 2018. 29 f. Course Completion Work (TCC 2) (Undergraduate Degree in Biological Sciences - Licenciatura), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Dois Vizinhos, 2018.

*Salmonella Heidelberg* is a pathogenic bacterium that has been proving to be a major sanitary problem for poultry farming. Thus, the present work seeks to evaluate the antibacterial action of different concentrations of calcium oxide (lime) in association or not with peracetic acid (AP) on *S. Heidelberg*. For this, the experiment was carried out in vitro with an autoclaved aviary bed, where *S. Heidelberg* was inoculated in the proportion of  $1.5 \times 10^8$  CFU / mL (colony forming units). For this experiment, 8 treatments were used with 50 g bed in each one of them being: T1 1% lime, T2 2%, T3 3%, T4 1% lime + 3% AP, T5 2% lime + 3% AP, T6 3% lime + 3% AP, T7 one control without lime and AP, T8 one control only with inoculated bed. This experiment was kept in a temperature controlled oven at 37 ° C for microbial growth at a stipulated time of 12 days. During this period, samples were collected from the experiments, on the day of the experiment and then at 4, 8 and 12 days, totalizing 64 samples. In all samples, 5 g of bed were collected and sent to the laboratory for analysis of the presence or absence of *Salmonella Heidelberg*. PH measurements were made on the second day after the experiment was set up and after the last 12 day collection. The use of virgin lime in the concentration from 1% was effective, due to the increase of pH and decrease of humidity, and the association with peracetic acid did not show differences in results, where the samples were also similar to lime. With this we can say that for the action of calcium oxide as an antibacterial agent we must use dosages above 1%, always weighing the bed of aviary to verify its weight.

Key words: Poultry farming. Pathogenic bacteria. Treatment. Lime virgin.

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO .....	8
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	10
2.1	<i>Salmonella</i> CARACTERÍSTICAS GERAIS .....	10
2.3	<i>Salmonella enterica</i> SOROVAR HEIDELBERG .....	11
2.4	CONTROLES DE <i>Salmonella</i> sp NA AVICULTURA .....	12
3	OBJETIVOS.....	16
3.1	OBJETIVO GERAL .....	16
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	16
4	MATERIAL E MÉTODOS.....	17
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES .....	21
6	CONCLUSÃO .....	25
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	26

## 1 INTRODUÇÃO

A proteína animal está entre as inúmeras fontes de alimento mais consumidas no mundo, sendo a carne de frango, a proteína de maior destaque. No ano de 2016, o Brasil ocupa o segundo lugar no *ranking* mundial em produção de carne de frango, com estimativas superiores a 13 milhões de toneladas, ficando atrás apenas do EUA com 18,2 milhões de toneladas. Referindo-se às exportações, o Brasil ocupa o primeiro lugar com 4,4 milhões de toneladas, e em seguida, encontram-se o EUA com 3 milhões de toneladas (ABPA, 2017).

A região sul do Brasil, o ano de 2016 se destaca na produção de carne de frango, sendo responsável por 63,63% da produção nacional. O Estado do Paraná é responsável por 33,46% dessa produção, pois a maioria dos produtores é de pequeno e médio porte, onde a avicultura se torna viável em pequenas propriedades, ocupando a mão de obra familiar, evitando o êxodo rural (ABPA, 2017).

Segundo Prá et al. (2009), devido à alta quantidade de aviários no Brasil, há uma grande necessidade de matéria-prima para a produção das aves, a matéria mais utilizada é a cama de aviário, mas devido seu alto custo de produção faz-se necessário o uso de um elevado número de lotes sobre a mesma cama. Essas condições de reúso podem contribuir para a presença de microrganismos patogênicos, como a bactéria *Salmonella* no ambiente de produção.

Analisando esse contexto, é necessário grande controle de qualidade nos processos de produção, visto que segundo os dados da Organização Mundial da Saúde (OMS), a *Salmonella* é um agente bacteriano frequentemente responsável por casos de doenças transmitidas por alimento no mundo todo. Alimentos tais como a carne, ovos e leite são as principais fontes contaminadas por esta bactéria (NASCIMENTO et al., 2012).

A espécie *Salmonella* Heidelberg pode resultar de leves a moderadas infecções, mas se não tratada a enfermidade, a bactéria pode causar complicações como septicemia, miocardite, infecções extras intestinais e em casos mais graves da doença, pode levar à morte (DUTIL et al., 2010).

Para manter a viabilidade econômica em criações nas granjas é necessário a reutilização das camas por vários lotes subsequentes. O método de tratamento da



cama com a cal virgem é muito utilizado após a entrega do lote, onde é incorporado na cama como tratamento que é realizado juntamente com o vazio sanitário que dura 12 dias desde a entrega do lote até o recebimento dos pintinhos para o próximo lote. Este procedimento visa reduzir as contaminações através do processo de alcalinização, onde os íons OH<sup>-</sup> saponificam os lipídios que envolvem externamente as bactérias e vírus envelopados, ocorrendo a destruição dessas estruturas de superfícies (PRÁ et al., 2009).

A partir deste contexto, este trabalho tem como objetivo avaliar diferentes concentrações de cal virgem no tratamento de cama, para verificar a eficácia antimicrobiana das mesmas, analisando também, o fator tempo na ação da cal.

Para produzir alimentos de qualidade e livre de microrganismos patógenos é indispensável que haja baixa quantidade de bactérias no processo de criação e industrialização. Desse modo, é preciso métodos de controle eficazes, para reduzir a quantidade bacteriana na granja e a utilização de cal virgem se faz necessário devido à sua ação antimicrobiana, mas é indispensável identificar dosagens apropriadas para não haver desperdício ou favorecer o desenvolvimento de resistência da *Salmonella* Heidelberg e outros microrganismos.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 *Salmonella*: CARACTERÍSTICAS GERAIS

A *Salmonella* é uma bactéria de gênero pertencente à família Enterobacteriaceae, contendo duas espécies, *Salmonella enterica* e *Salmonella bongori*. A *Salmonella enterica* é subdividida em seis subespécies: *S. enterica*, *S. salamae*, *S. arizonae*, *S. diarizonae*, *S. houtenae* e *S. indica* (FORSHELL; WIERUP, 2006).

Existem 2.610 diferentes sorotipos identificados nas subespécie, sendo distribuídos em subespécie *enterica* (1.547 sorovares); subespécie *salamae* (513 sorovares); subespécie *arizonae* (100 sorovares); subespécie *diarizonae* (341 sorovares); subespécie *houtenae* (73 sorovares); subespécie *Indica* (13 sorovares); *Salmonella bongori* (23 sorovares); os quais não reconhecem a espécie proposta *Salmonella subterranea* tendo sido a mesma inserida como sorovar da espécie *bongori* (GUIBOURDENCHE et al., 2010).

Este gênero de bactéria em geral é um bacilo gram negativo, aeróbio e anaeróbio facultativo, sendo um patógeno que se comporta como intracelular e sua movimentação se dá por flagelos peritríqueos, com exceções de algumas salmonelas como *Salmonella Pullorum* e *Salmonella Gallinarum* que são imóveis (FORSHELL; WIERUP, 2006).

Na espécie *S. enterica*, alguns sorotipos se destacam, como *Salmonella Gallinarum*, *Pullorum*, *Enteritidis* e *Typhimurium*. As mesmas são monitoradas pelo Plano Nacional de Sanidade Avícola – PNSA através da instrução normativa nº78 de 03 de novembro de 2003 (BRASIL, 2003), que fiscaliza o patógeno em matrizes de frango de corte e o Programa de Redução de Patógenos (PRP) estabelecido pela instrução normativa nº 70 de 06 de outubro de 2003 (BRASIL, 2003), que fiscaliza abatedouros onde essas cepas são isoladas com maior frequência em produtos avícolas e em casos de infecções alimentares (CARVALHO, 2012). A *Salmonella* está entre as três principais cepas isoladas, que são encontradas em pessoas com toxinfecções alimentares na região Norte Americana, já em outras regiões do mundo é pouco encontrada (MENCONI et al., 2011).

O gênero *Salmonella* pode sobreviver por anos no meio ambiente, podendo ser resistente à dessecação e congelamento. O que facilita sua resistência, seu contato com o ambiente e a interação com o hospedeiro é a camada de lipopolissacarídeos (LPS), responsável por proporcionar que a *Salmonella* seja resistente há vários ambientes e condições, como ambientes secos com poeira, fezes, acidez do estômago, lúmen do intestino, espaços extracelulares dos tecidos do hospedeiro e dentro de macrófagos (SUO et al., 2010).

Em condições laboratoriais o crescimento ótimo se dá numa temperatura ótima de 37°C a 43°C, mas é possível crescer em temperatura de 7°C a 45°C. No entanto, são sensíveis a exposição de raios solares e a maioria de desinfetantes como fenóis, clorados e iodados devido estes terem alto grau de ação bactericida (BOROWSKY et al., 2006). A bactéria cresce em um pH entre 6,5 e 7,5 com tolerância de pH de 4,5 e 9,0 (TORTORA et al., 2003).

Diante esses motivos, a *Salmonella* se adapta com facilidade no ambiente em condições extremas, conseguindo sobreviver tanto em pH ácido como pH alcalino, tendo resistência à desidratação e à baixas temperaturas até mesmo o congelamento, mas são destruídas a temperatura de 60°C por 5 min e pela maioria dos desinfetantes utilizados comumente, como amônia quaternária e hipoclorito de sódio e compostos fenólicos (BONI, 2007). Em cama de aves a *Salmonella* Heidelberg sobrevive por meses, podendo também se manter por um longo tempo nos equipamentos pertencentes ao galpão, no solo e nas excretas de animais silvestres (BONI, 2007).

### 2.3 *Salmonella enterica* SOROVAR HEIDELBERG

A *Salmonella* Heidelberg pertence à subespécie *Salmonella enterica* subespécie *enterica*, do sorotipo B que prevalece na região norte americana como Canadá e Estados Unidos, já em países Europeus é considerada rara (CURY, 2013). Entre o sorotipo de *Salmonella*, a *S. Heidelberg* é causadora de infecções alimentares em humanos, que viabiliza seu isolamento em aves e produtos finais, no entanto, este isolamento vem aumentando consideravelmente nos últimos tempos (RAGHIANTE et al., 2010).

A *S. Heidelberg* pode resultar em infecções leves a moderadas, mas se não tratada à bactéria pode causar complicações como septicemia, miocardite, infecções

extras intestinais e em casos mais graves da doença, pode levar à morte (DUTIL et al., 2010). No Brasil, desde 1962 a *S. Heidelberg* vem sendo isolada e relatada em produtos de origem avícola (BORSOI et al., 2011).

*S. Heidelberg* pertence ao grupo de *Salmonella* paratíficas. Este sorotipo não é de especificidade em aves, ou seja, não é específica de aves e causa doenças em humanos, através da ingestão de carne e ovos de aves contaminadas, causando enorme prejuízo à indústria e perigo à saúde pública. A grande diversidade que esse grupo possui facilita sua adaptação a vários hospedeiros (BERNDT et al. 2007). A bactéria causa alterações semelhantes na mucosa intestinal das aves, comparadas com *Salmonella* Enteritidis, apesar de que aves infectadas por *S. Heidelberg* excretam menos bactérias, comparada com *S. Enteritidis* (BORSOI et al., 2011).

Em um estudo com 15 cepas de *S. Heidelberg* isoladas de plantas frigoríficas foi avaliado a permanência no processamento em plantas frigoríficas. Nas amostras coletadas foi observada a formação de um biofilme em placas de poliestireno, potencializando sua permanência em abatedouros de aves (RODRIGUES et al., 2009).

As contaminações por *S. Heidelberg* apresentam crescimento no campo, provocando aumento de positividade na indústria e de modo consequente no produto final, prejudicando a comercialização e exportação. Com a formação de biofilme e hidrofobicidade as práticas comuns de biossegurança são desafiadas para o controle da *Salmonella* (SANSEN, 2015). A formação de biofilme e alta hidrofobicidade, é reconhecida como características especiais quando comparado a outros sorotipos isolados (RODRIGUES et al., 2009).

#### 2.4 CONTROLES DE *Salmonella* sp NA AVICULTURA

Boas práticas de produção devem ser adotadas para um bom controle de contaminações por sorovares de *Salmonella*. Na cadeia produtiva de aves, a biossegurança é fundamental, sendo uma ferramenta que visa proteger toda a corrente que compõem a produção. Em casos de contaminações de sorovares de maior importância econômica ou saúde pública, devem ser adotadas ações específicas como uso de antibióticos, aditivos alimentares e controles de visitas (BARROW, 2007).

Algumas medidas devem ser praticadas para a boa sanidade da granja, entre elas podemos citar controle de roedores, controle de visitas, não ter criação de outras aves silvestres na propriedade, inclusive pássaros domésticos e deve se adotar programas de higiene e desinfecção. Devido à alta quantidade de matéria orgânica nas instalações avícolas, é importante lembrar que desinfetantes são prejudicados em sua ação, devido os desinfetantes não agirem sobre matéria orgânica, entretanto, não se deve reutilizar a cama sem tratamento (BERCHIERI JÚNIOR; FREITAS NETO, 2009).

Diante da grande quantidade de aviários no Brasil e a sua importância para a economia, a necessidade de insumos para a avicultura cresce a cada dia, a cama já é reutilizada a cada lote devido seu alto custo para reposição, com isso a necessidade de manejo da mesma para diminuir a presença de microrganismos como *Salmonella* é de extrema importância (CHERNAKI-LEFFER et al., 2002).

Para manter a viabilidade econômica em criações nas granjas de corte, é necessária a reutilização de camas por vários lotes subsequentes. A partir deste modelo de criação, deve ser realizado tratamento de cama adequado, para que a carga bacteriana presente nela seja controlada (PRÁ et al., 2009). O uso de fermentação da cama tem-se demonstrado uma opção vantajosa, uma vez que, a utilização de cobertura da cama com lonas plásticas induz a redução de enterobactérias, além de controlar vetores como o cascudinho (*Alphitobius diaperinus*) devido à temperatura alta alcançada pela fermentação, somada à liberação de amônia, altamente tóxica em altas concentrações (SILVA et al., 2007).

A cama do aviário é estruturada por uma cobertura de aproximadamente 5 cm, onde a mesma fica espalhada sobre o piso do aviário. É obtida através de raspagens de madeira consideradas maravalha ou serragem, de pinus, eucalipto, madeira de lei, casca de arroz, bagaço de cana, sabugo de milho ou palha (ÁVILA et al., 1992; OLIVEIRA et al., 2003).

Os métodos utilizados após a entrega do lote é o tratamento da cama, realizada juntamente com o vazio sanitário, sendo o período entre os lotes. Neste momento é tratada com ácidos orgânicos, uso de revira associada com amontoamento da cama e o uso da cal virgem ou óxido de cálcio (PRÁ et al., 2009). A cada ciclo de produção a cama pode ser renovada ou reutilizada entre quatro a seis lotes de frango, onde o período de criação varia em média no geral 45 dias, e a

quantidade pode variar de 12 a 15 aves por metro quadrado do aviário (FERREIRA et al., 2004).

Existem alguns fatores que aumentam a temperatura da cama e a proliferação microbiana, uma delas é a umidade, que em elevada quantidade leva à fermentação e à liberação de nitritos, nitratos, amônia e sulfato de hidrogênio (McWARD; TAYLOR, 2000). Para os microrganismos a sua adaptação ao meio e o seu equilíbrio dinâmico, é o que irá determinar seu desenvolvimento e a sua maior ou menor competitividade (CORRÊA et al., 2009).

Estudos realizados por PRÁ et al., (2009) demonstraram que diferentes níveis da cal virgem adicionados sobre a cama aumentam o pH. Após 12 dias da utilização do cal sobre a cama, um valor de pH é obtido respectivamente, dependendo das quantidades utilizadas em seus tratamentos, T1 (pH 8,95 para 0,0g de cal/m<sup>2</sup>), T2 (pH 9,91 para 300g de cal/m<sup>2</sup>), T3 (pH 10,75 para 600g de cal/m<sup>2</sup>), T4 (pH 11,11 para 900g de cal/m<sup>2</sup>). Resultado que interfere diretamente na microbiota da cama, incluindo o gênero *Salmonella* onde em pH acima de 9,5 reduz a viabilidade celular destes microrganismos (McWARD; TAYLOR, 2000; FERREIRA et al., 2004).

PRÁ et al., (2009), conclui em seu experimento que o número de UFC (Unidades Formadoras de Colônias) de *Salmonella* spp. e *Clostridium* spp. teve uma redução de 82 e 97 % com a aplicação do cal virgem na dosagem de 300g m<sup>2</sup>, enquanto que no uso de 600 e 900g m<sup>2</sup> teve uma redução de 100%, onde essas duas dosagens tiveram uma resposta excelente ao comparar com o controle (antes da aplicação). No tratamento controle não foram encontradas diferenças significativas durante as coletas, desse modo a cama permaneceu contaminada durante o período experimental. Neste contexto, tratamentos a partir de 300g m<sup>2</sup> são eficientes para controle das *Salmonellas* spp. e *Clostridium* spp. pois a elevação do pH pela cal, torna o meio inóspito para as bactérias, onde este mineral ainda atua no controle de água livre diminuindo a atividade de água da cama do aviário (FERREIRA et al., 2004).

Quando é usada a cal virgem no processo de alcalinização, os íons OH<sup>-</sup> saponificam os lipídios que envolvem externamente as bactérias e vírus envelopados, ocorrendo a destruição dessas estruturas de superfícies. Quando o pH é superior a 10 o peptidoglicano bacteriano sofre uma desorganização, os nucleotídeos sofrem hidrólise e já pH acima de 12 micobactérias entram em atuação (PRÁ et al., 2009 apud RODRIGUEZ; ELIAS, 1999).

O uso de ácido peracético vem aumentando, devido a muitas restrições de outros desinfetantes como glutaraldeído, encontrar um substituto para ação sanitizante vem se tornando crucial. O ácido peracético (acetil hidroperóxido ou ácido peroxiacético) pode ser encontrado na forma líquida incolor ou em pó de cor branca, com um odor avinagrado, oxidante, com características corrosivas para metais, pH ácido e com baixas concentrações tem ação positiva contra microrganismos. A desinfecção do ácido se dá pela oxidação das estruturas celular, isto é, liberação de oxigênio ativo que interage com ligações de enxofre nas proteínas, enzimas e quaisquer metabólitos de microrganismos, desfavorecem função osmótica e transporte através de lipoproteínas da membrana citoplasmática e causando a lise celular. Uma das grandes vantagens de se usar ácido peracético é a biodegradabilidade, pois após o uso se transforma em ácido acético, água e oxigênio (NASCIMENTO et al., 2015).

A importância de produzirmos alimento de qualidade e livre de microrganismos patogênicos é indispensável à baixa quantidade de bactérias em nosso processo de criação, desse modo precisamos de métodos de controle e tratamentos no processo, para reduzir a quantidade bacteriana na granja, e a utilização de cal virgem se faz necessário devido sua atividade conhecida, e a associação com ácido peracético se torna uma boa alternativa para suplementar a ação da cal e a sua quantidade de uso que este trabalho procurou demonstrar.

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar diferentes concentrações de óxido de cálcio e a associação desta substância com ácido peracético sobre a atividade antibacteriana em *Salmonella* Heidelberg em cama de aviário de frango de corte.

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Avaliar a presença ou ausência de *Salmonella* Heidelberg com o uso de diferentes concentrações de cal virgem e associação com ácido peracético;

Verificar o pH das amostras no início e final dos experimentos após o uso da cal virgem e associação com ácido peracético;

Encontrar a concentração ideal de óxido de cálcio, que seja eficiente para ação antibacteriana de *Salmonella* Heidelberg em cama de aviário de frango de corte;

Analisar a influencia da utilização de ácido peracético em associação com a cal virgem;

Comparar a ação da cal virgem sobre à *Salmonella* Heidelberg em diferentes concentrações;



## 4 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no laboratório de Microbiologia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná - UTFPR, Campus Dois Vizinhos – Paraná. As amostras coletadas foram encaminhadas para o laboratório de análises patológicas da BRF em Concordia-SC para análises de presença ou ausência de *Salmonella* Heidelberg, pois estas não foram possíveis realizar na universidade.

A cama para o experimento foi coletada em um aviário de frango de corte de um produtor rural de Dois Vizinhos-PR. O procedimento de coleta se conduziu da seguinte forma: foi demarcada uma área de 1,0m de comprimento por 1,0m de largura e 13,5cm de altura, deste sendo realizados a coleta, armazenamento e pesagem da cama, obtendo um volume de 53 kg/m<sup>3</sup>. Em seguida, uma amostra de 5 kg da cama foi encaminhada ao laboratório da UTFPR para ser autoclavada a 15 psi, 121°C por 20 minutos para eliminação de microrganismos contaminantes.

A cepa de *Salmonella* Heidelberg foi cedida por uma empresa privada, com transporte e armazenamento em condições adequadas para o sorotipo. A cal virgem foi adquirida por doações de produtores que já o utilizam e o ácido peracético foi comprado comercialmente. Todos os itens foram armazenados em ambiente adequado e seco no laboratório de microbiologia da UTFPR Dois Vizinhos.

A *Salmonella* foi repicada em placa contendo ágar Mueller Hinton (MH) para crescimento por 24 horas, sendo posteriormente inoculadas em 250 mL de caldo MH por mais 24 horas para então serem aplicadas nos experimentos. Para saber a quantidade a ser inoculada foi medida a absorbância do meio utilizando a escala nefelométrica de Mc Farland. Nesta escala a turbidimetria a 0,5 corresponde a  $1,5 \times 10^8$  UFC/mL. O inóculo foi então ajustado para conter  $9 \times 10^8$  UFC/mL, o que foi posteriormente inoculado na cama de aviário autoclavada. Após os ajustes da quantidade de células, 2 mL do meio contendo as bactérias foram transferidos para tubos tipo *ependorf* e posterior centrifugação. Após a formação de *pellet* foi retirado o meio de cultura, e adicionado 2 mL de água salina e homogenizado com auxílio do agitador formando uma mistura que foi toda borrifada em 14 dos 16 erlenmeyers utilizados para o experimento com 50 gramas de cama em cada, os dois erlenmeyers restantes ficaram como controles contendo somente a cama autoclavada.

O desenho experimental consistiu em oito tratamentos em duplicatas: 2

controles, 3 concentrações de cal virgem e 3 concentrações da associação de cal com ácido peracético. O grupo controle contém dois frascos somente com a cama autoclavada e outra duplicata com o inóculo. O tratamento com a cal foi adicionado concentrações de 1, 2 e 3% separadamente em duplicatas. Os erlenmeyer contendo a associação de cal mais ácido seguem a mesma concentração do tratamento com a cal adicionados 3% do ácido em cada erlenmeyer.

Esse experimento ficou em estufa com temperatura controlada em torno de 37°C por 12 dias para crescimento microbiano, realizando coletas de 5g no dia da montagem do experimento e posteriormente com 4, 8 e 12 dias, totalizando 64 amostras até o final do experimento, sendo armazenadas em sacos nasco e enviadas ao laboratório para teste de presença ou ausência de *S. Heidelberg*.

Foi realizada medição de pH das amostras dos erlenmeyers no início do experimento, para verificar a eficiência da cal, em relação à mudança do pH do meio, onde para a medição do pH foi feito com a ajuda de pHmetro digital, sendo retirada uma alíquota de 5g da amostra de cama e diluída em 50 mL de água destilada para fazer a medição.

Os exames laboratoriais seguiram a ISO 6579: 2017 para verificar a positividade. As amostras foram pré-enriquecidas em meio não seletivo com água peptonada tamponada e incubadas à 37°C +/- 1°C por 18h +/- 2 horas. Após incubação foi inoculado 100µL dividido em 3 gotas na placa com ágar MSR/V (Rappaport-Vassiliadis modificado) e incubado a 41,5°C +/- 1°C por 24h +/- 3h, as placas negativas foram reincubadas por mais 24 horas +/- 3 horas, as positivas apareceram crescimento suspeito de *Salmonella*, este caracterizado como um cinza-esbranquiçado formando uma área com halo significativo ao redor do local inoculado.

Posteriormente, foi semeado em placa de XLD (Xilose lisina Desoxicolato) e VB (Verde brilhante) e Incubado a 37°C +/- 1°C por 18 horas +/- 2 horas. Em ágar XLD as colônias têm um centro preto e uma zona levemente transparente de cor avermelhada, devido à mudança de cor do indicador, sorotipos de *Salmonella* H<sub>2</sub>S negativas (por exemplo, *S. paratyphi* A) são de cor rosa, com um tom mais escuro, *Salmonella* lactose positiva são amarelas com ou sem escurecimento, em ágar VB as colônias apresentam-se incolores ou de cor rosada, entre translúcidas a ligeiramente opacas, quando rodeadas por microrganismos fermentadores de

lactose, podem apresentar-se de cor verde amarelada, após foi utilizado culturas isoladas/puras para confirmação bioquímica e sorológica.

A confirmação bioquímica foi por meio de inoculação em meios específicos onde às colônias selecionadas foram inoculadas e incubadas a 37°C +/- 1°C por 24 horas +/- 3 horas. Os meios utilizados são Ágar Tríplice Açúcar Ferro (TSI), caldo Descarboxilase 0,5% L-Lisina, ágar Uréia, ágar Nutriente (AN) tubo e placa de NA, caldo triptofano (triptona 1%),  $\beta$ -galactosidade (orto-nitrofenil- $\beta$ -D-galactopiranosídeo – disco ONPG), demonstrados no quadro 1.

Quadro 1. Leitura bioquímica preliminar:

BIOQUÍMICO		S. Typhi	S. Paratyphi A	S. Paratyphi B	S. Paratyphi C	<i>Salmonella</i> spp. subespécie I
TSI	Ácido glicose	+	+	+	+	+
	Gás glicose	-	+	+	+	+
	Ácido lactose	-	-	-	-	-
	Ácido sacarose	-	-	-	-	-
	H <sub>2</sub> S	+	-	+	+	+
LISINA	Descarboxilação	+	-	+	+	+
caldo triptofano	Indol	-	-	-	-	-
URÉIA	Urease	-	-	-	-	-
B- galactosidade		-	-	-	-	-

Fonte: ISO 6579 2017

A confirmação sorológica é feita com detecção da presença de *Salmonella* O-, Vi- e H- e antígenos, é testada através de aglutinação em lâmina, se houver positividade somente no antissoro “O” polivalente (não nos grupos), o resultado é dado como Positivo para *Salmonella* spp. Se houver reação negativa (não aglutinação), é avaliado novamente todo o resultado bioquímico e se nem todos estiverem compatíveis com *Salmonella*, o resultado é tido como “Negativo para *Salmonella* spp”.

Em seguida, após a detecção da positividade da amostra foi realizado outro exame para tipificação de *Salmonella* spp, através de técnica biomolecular de micro arranjo utilizando kit CHECK&TRACE de PCR por micro arranjo de origem Holandesa fabricada pela DSM, onde se consegue obter na tipificação até 100 subtipos de *Salmonella enterica*. Primeiramente foi utilizado ágar de isolamento não seletivo caldo de nutriente e adicionado 100uL de solução-tampão ( Lysis Buffer) em

um tubo eppendorf de 1,5 mL, em seguida foi retirado uma pequena quantidade de células de uma única colônia cultivada em uma placa de ágar XLD usando o palito que acompanha o kit. As células foram colocadas em suspensão na solução-tampão (Lysis Buffer) e deixadas em temperatura ambiente durante 2 minutos, o palito foi girado entre os dedos polegar e o indicador para liberar as células na solução-tampão e, em seguida, os tubos foram fechados. Na próxima etapa foi realizado a extração do DNA, transferindo os tubos de 1,5 mL com as células em suspensão para um bloco de aquecimento e incubado a 99°C durante 15 minutos, o termomisturador é utilizado para este propósito com programação de 99°C e 400 rpm. Essa incubação de 15 minutos a 99°C lisa as células e libera o DNA na solução-tampão (*Lysis Buffer*). Esse extrato de DNA bruto pode ser usado diretamente para o CHECK & TRACE *Salmonella*.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

O uso de óxido de cálcio (cal virgem) mostrou-se eficiente para controle de *Salmonella* Heidelberg em cama de aviário de frango de corte, esta observação foi constatada pela ausência da bactéria nas amostras contendo a substância (Tabela 1). A associação de ácido peracético com a cal não apresentou ser mais eficiente, pois também teve o mesmo resultado de ausência no final do experimento e manteve positividade nas amostras de 4 dias. As análises de ausência ou presença de *Salmonella* foram realizadas com 4, 8 e 12 dias em todas as amostras (Tabela 1).

Com esses resultados podemos verificar que os controles 01 e 02, ou seja, somente a cama de aviário autoclavada se mantiveram negativas no decorrer do experimento, significando que a cama foi bem autoclavada apresentando-se livre de *Salmonella* Heidelberg. As amostras 03 e 04 mantiveram-se positivas até a segunda coleta. No entanto, a amostra 04 apresentou-se negativa a partir da terceira e quarta coletas, provavelmente por uma falha na homogeneização, ou ainda, redução do número de células viáveis o que pode ter dificultado no processo de contagem nas análises.

Das amostras 5 a 16 todas foram positivas na 1ª coleta, garantido que o inóculo foi efetivo e que a cal e a associação com ácido não teve ação de imediato após a aplicação. A medida do pH realizada no segundo dia do experimento nessas amostras foi em média de 12,48 (Tabela 2). No entanto, observa-se que as amostras 11 e 12 apresentaram um pH inicial inferior à média e que nestas amostras houve a presença de *Salmonella* mesmo na segunda e terceira coleta respectivamente (Tabela 1). Segundo Prá e colaboradores (2009) em pH superior a 10, a parede celular bacteriana começa a sofrer uma desorganização sendo que o pH superior a 12 é o mais efetivo.

Tabela 1 – Análises das coletas presença ou ausência de *Salmonella* Heidelberg

Amostra	Composição	1ªcoleta	2ªcoleta	3ªcoleta	4ªcoleta
		1 dia	4 dias	8 dias	12 dias
1	Controle 01	-	-	-	-
2	Controle 02	-	-	-	-
3	Inóculo 01	+	+	+	+
4	Inóculo 02	+	+	-	-
5	Cal 1% 01(0,530Kg/m <sup>2</sup> )	+	-	-	-
6	Cal 1% 02(0,530Kg/m <sup>2</sup> )	+	-	-	-
7	Cal 2% 01(1.06Kg/m <sup>2</sup> )	+	-	-	-
8	Cal 2% 02(1.06Kg/m <sup>2</sup> )	+	-	-	-
9	Cal 3% 01(1.59Kg/m <sup>2</sup> )	+	-	-	-
10	Cal 3% 02(1.59Kg/m <sup>2</sup> )	+	-	-	-
11	Cal 1%01(0,530Kg/m <sup>2</sup> )+3%Ácido(1.59Kg/m <sup>2</sup> )	+	+	+	-
12	Cal 1%02(0,530Kg/m <sup>2</sup> )+3%Ácido(1.59Kg/m <sup>2</sup> )	+	+	-	-
13	Cal 2%01(1.06Kg/m <sup>2</sup> )+3%Ácido(1.59Kg/m <sup>2</sup> )	+	-	-	-
14	Cal 2%02(1.06Kg/m <sup>2</sup> )+3%Ácido(1.59Kg/m <sup>2</sup> )	+	-	-	-
15	Cal 3%01(1.59Kg/m <sup>2</sup> )+3%Ácido(1.59Kg/m <sup>2</sup> )	+	-	-	-
16	Cal 3%02(1.59Kg/m <sup>2</sup> )+3%Ácido(1.59Kg/m <sup>2</sup> )	+	+	-	-

Amostras + e - para *Salmonella* Heidelberg, e amostras de cal/m<sup>2</sup> referente a uma cama de 53 Kg/m<sup>2</sup>.

Quando se considera apenas o grupo tratamento (amostras 5 a 16) observa-se que a partir das coletas realizadas com 4 dias, houve 75% de ausência de bactérias nas análises. Na coleta de 8 dias foram verificados 91,66% de ausência e com 12 dias 100%. A ausência de crescimento bacteriano além de ser causada pelo aumento do pH também é promovida pelo controle de água livre resultando na diminuição da atividade de água da cama do aviário (FERREIRA et al., 2004).

Os resultados encontrados por Prá et al. (2009), demonstraram que diferentes níveis da cal virgem adicionados sobre a cama aumentam o pH. No entanto, os

melhores resultados foram obtidos aos 12 dias da utilização da cal sobre a cama, com variação do pH dependendo das quantidades utilizadas em seus tratamentos: T1 (pH 8,95 para 0,0g de cal/m<sup>2</sup>), T2 (pH 9,91 para 300g de cal/m<sup>2</sup>), T3 (pH 10,75 para 600g de cal/m<sup>2</sup>), T4 (pH 11,11 para 900g de cal/m<sup>2</sup>), resultado esses que tivemos com 4 dias de aplicação, devido à maior alcalinidade atingida com as concentrações testadas. Entretanto PRÁ et al., (2009), obteve 100 % de redução do número de UFC (Unidades Formadoras de Colônias) de *Salmonella* spp. e *Clostridium* spp. com uma aplicação de 600 e 900g/m<sup>2</sup> nos 12 dias de aplicação, resultado este que também foi observado neste experimento.

Estudos realizados por LUCCA et al. (2012), avaliou diferentes tratamentos químicos em cama de aviário de frango de corte, os produtos que utilizou foram o hidróxido de cálcio (500g/m<sup>2</sup>), sulfato de alumínio (500g/m<sup>2</sup>), sulfato de cálcio (1000g/m<sup>2</sup>), sulfato de cálcio 48% + filossilicato expandido 28% (500g/m<sup>2</sup>). Foram coletadas amostras da cama a cada sete dias para determinação do pH, umidade e contagem bacteriana. O pH medido até a terceira semana o hidróxido de cálcio se manteve mais alcalino que os demais, isso devido ser sua característica, mas a partir da terceira semana o pH começa a ser igualada aos demais. Para o controle de enterobactérias totais em cama aviária, o sulfato de cálcio associado ao Filossilicato é eficaz. Na redução de umidade todos os produtos foram eficazes até a terceira semana, a partir desta fase as aves já estão maiores e eliminam mais umidade sobre a cama, havendo necessidade de mais uma aplicação de produto.

A aparente ineficiência do ácido peracético apontada nesta pesquisa, se deve provavelmente ao seu uso como produto em pó e não em solução aquosa. E a mistura de produtos ácidos e alcalinos que possivelmente ocorra à neutralização de ambos, e a mudança brusca de pH não ocorram. A aplicação do produto em pó foi necessária uma vez que em solução aquosa poderia afetar a estrutura da cama de aviário e conseqüentemente prejudicando os animais. A atividade desinfetante do ácido peracético é decorrente da oxidação celular através da liberação de oxigênio ativo que interage com ligações de enxofre nas proteínas, enzimas e outros metabólitos celulares (NASCIMENTO et al., 2015).

Tabela 02- Análises de pH das amostras

Amostra	Composição	pH inicial	pH final
1	Controle 01	9,2	9,1
2	Controle 02	9,1	9,0
3	Inóculo 01	9,0	9,0
4	Inóculo 02	9,1	9,1
5	Cal 1% 01(0,530Kg/m <sup>2</sup> )	12,3	9,3
6	Cal 1% 02(0,530Kg/m <sup>2</sup> )	12,3	9,4
7	Cal 2% 01(1.06Kg/m <sup>2</sup> )	12,7	9,9
8	Cal 2% 02(1.06Kg/m <sup>2</sup> )	12,6	9,5
9	Cal 3% 01(1.59Kg/m <sup>2</sup> )	13	10,2
10	Cal 3% 02(1.59Kg/m <sup>2</sup> )	13,1	10,2
11	Cal 1%01(0,530Kg/m <sup>2</sup> )+3%Ácido(1.59Kg/m <sup>2</sup> )	10,2	10,3
12	Cal 1%02(0,530Kg/m <sup>2</sup> )+3%Ácido(1.59Kg/m <sup>2</sup> )	10,2	10,5
13	Cal 2%01(1.06Kg/m <sup>2</sup> )+3%Ácido(1.59Kg/m <sup>2</sup> )	12,2	10,1
14	Cal 2%02(1.06Kg/m <sup>2</sup> )+3%Ácido(1.59Kg/m <sup>2</sup> )	12,1	10,4
15	Cal 3%01(1.59Kg/m <sup>2</sup> )+3%Ácido(1.59Kg/m <sup>2</sup> )	12,1	10,2
16	Cal 3%02(1.59Kg/m <sup>2</sup> )+3%Ácido(1.59Kg/m <sup>2</sup> )	12	10,6

---

Amostras de pH do início e final do experimento.



## 6 CONCLUSÃO

De acordo com os resultados podemos concluir que a partir de 1% de Oxido de cálcio é possível controlar *Salmonella* Heidelberg em cama de aviário e a associação com ácido peracético não demonstrou interferência nos resultados, provavelmente devido a sua não utilização em condição aquosa.

Diante destas concentrações avaliadas, é interessante que seja utilizada uma quantidade de 1 % de óxido de cálcio, considerando o peso da cama de aviário encontrado em uma de área de 1 m<sup>2</sup>, e não utilizar uma quantidade do produto apenas considerando a área em m<sup>2</sup>.

A adição de oxido de cálcio (cal virgem) foi extremamente efetivo para o aumento de pH e desta forma atuando como agente bactericida contra *S. Heidelberg*.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL (ABPA).2016. Relatório Anual 2016. Disponível em: <[http://abpabr.com.br/storage/files/versao\\_final\\_para\\_envio\\_digital\\_1925a\\_final\\_abpa\\_relatorio\\_anual\\_2016\\_portugues\\_web1.pdf](http://abpabr.com.br/storage/files/versao_final_para_envio_digital_1925a_final_abpa_relatorio_anual_2016_portugues_web1.pdf)>. Acesso em: 15 ago. 2017.

ÁVILA, V.S. et al. **Cama de aviário: materiais, reutilização, uso como alimento e fertilizante.** Concórdia: EMBRAPA-CNPSA, 1992.

BARROW, P. A. *Salmonella* infections: immune and non-immune protection with vaccines. **Avian Pathol**, v. 36, n. 1, p. 1-13, fev. 2007.

BERCHIERI JÚNIOR, A.; FREITAS NETO, O. C. Salmoneloses aviárias. Seção. 4, p. 435-454. In: BERCHIERI JÚNIOR, A. et al., **Doenças das Aves**. 2. ed. Campinas: FACTA, 2009.

BERNDT, A. et al. Chicken Cecum Immune Response to *Salmonella* Enterica Serovars of Different Levels of Invasiveness. **Infecte Imunes**, Washington, v. 75, n. 12, p. 5993-6007, 2007.

BONI, H. F. K. **Ocorrência de *Salmonella* spp. na cadeia avícola da região central de Mato Grosso do Sul.** 2007. 42 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal). Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, Campo Grande, 2007.

BOROWSKY, L. M. et al. Sensibilidade e resistência de amostras de *Salmonella* Typhimurium isoladas de suínos abatidos no Rio Grande do Sul/Brasil frente aos desinfetantes químicos quaternário de amônio e iodo for. **Ciência Rural**, v. 36, p.1474-1479, 2006.

BORSOI, A. et al. Behavior of *Salmonella* Heidelberg and *Salmonella* Enteritidis strains following Broiler Chick inoculation: evaluation of cecal morphometry, liver and cecum bacterial counts and fecal excretion patterns. **Brasil J Microbiologia**, v. 42, p. 266-273, 2011.

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**, v.4, p.243-247, 2002.

CURY, Humberto A. **Avaliação de aditivos na água de bebida para controle de *Salmonella enterica* subespécie *enterica* sorovar Heidelberg em frangos de corte.** 2013. 60p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias), Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2013.

CORRÊA, E. K. et al. Condicionamento ambiental e desempenho de suínos em crescimento e terminação criados sobre piso com leito de cama. **Revista Brasileira de Zootecnia-Brazilian Journal of Animal Science**, v. 29, p. 2072-2079, 2000.

DUTIL, L. et al. Ceftiofur Resistance in *Salmonella enterica* Serovar Heidelberg from Chicken Meat and Humans, Canada. **Emerging Infectious Diseases**, v. 16, n. 1, p. 48-54, 2010.

FERREIRA, H. A. et al. Efeito de condicionadores químicos na cama de frango sobre o desempenho de frangos de corte. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 56, p. 542-546, 2004.

FORSHELL, L. P.; WIERUP, M. *Salmonella* contamination: a significant challenge to the global marketing of animal food products. **Revue Scientifique et Technique International Office of Epizootics**, Paris, v. 25, n. 2, p. 541-554, 2006.

FREITAS, J. B.; SANTOS, A. Evolução de sorovares modelo de banco de cepas. SEMINÁRIO INTERNACIONAL SOBRE SALMONELOSE AVIÁRIA. **Anais**. MAPA, 2011.

GUIBOURDENCHE, M. et al. Supplement 2003 e 2007 (No. 47) to the White-Kauffmann-Le Minor scheme. **Research in Microbiology**, Atlanta, GA, v. 161, [S. n], p. 26-26, Oct. 2009. Supplementum 47.

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

MENCONI, A. et al. Effect of lactic acid bacteria probiotic culture for the treatment of *Salmonella enterica* serovar Heidelberg in neonatal broiler chickens and turkey poults. **Poultry Science**, n. 90, p. 561-565, 2011.

Mc WARD, G. W.; TAYLOR D. R. Acidified clay litter amendment. **Journal Applied Poultry Research**, v.9, p.518-529, 2000.

NASCIMENTO, A. C. et al. Estabilidade do ácido peracético no processo de desinfecção prévia à lavagem. **Revista Associação Paulista Cirurgião Dentista**, v.69, p.367-382, 2015.

NASCIMENTO, V. P. et al. Exigências internacionais na qualidade microbiológica da carne de frangos para exportação. Dê um número de página ou outro detalhe para se achar com facilidade este artigo dentro dos anais deste evento. In: simpósio brasil sul de avicultura. **Anais**. Chapecó, 2012.

\_\_\_\_\_. Salmonelose aviárias: uma revisão. In: Simpósio de Produção de Matrizes de Corte, 1. **Anais**. Chapecó: 1995. p.93-99

\_\_\_\_\_; SANTOS, L. R. *Salmonella* Enteritidis: controle, implicações em saúde pública e na qualidade dos produtos de origem avícola. In: simpósio brasil sul de avicultura, 6., 2005, Chapecó **Anais**. Chapecó, SC: Núcleo Oeste de Médicos Veterinários, 2005. p.46-57.

OLIVEIRA, M. C. et al. Teor de matéria seca, pH e amônia volatilizada da cama de frango tratada ou não com diferentes aditivos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, p. 824-829, 2003.

PRÁ, M. A. et al. Uso de cal virgem para o controle de *Salmonella* spp. e *Clostridium* spp. em camas de aviário. **Ciência Rural**, v. 39, p. 1189-1194, 2009.

RAGHIANTE, F. et al., Tempo de penetração da *Salmonella* Heidelberg através da casca de ovos comerciais brancos e vermelhos. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 12, n. 4, p. 215-219. 2010.

RODRIGUES, L. B. et al., Avaliação da hidrofobicidade e da formação de biofilme em poliestireno por *Salmonella* Heidelberg isoladas de abatedouro avícola. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 37, n. 3, p. 225- 230, 2009.

SAUSEN, L. **Uso de Blend de ácidos orgânicos no controle da disseminação de *Salmonella* Heidelberg em frangos de corte.** 2015. 64 f. Dissertação (Mestrado em Produção e Nutrição Animal), Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, 2015.

SILVA, V. S. et al. **Efeito de tratamentos sobre a carga bacteriana de cama de aviário reutilizada em frangos de corte.** Concórdia: Embrapa Suínos e Aves, 2007.

SUO, B. et al. A multiplex real-time polymerase chain reaction for simultaneous detection of *Salmonella* sp., *Escherichia coli* o 157 and *Listeria monocytogenes* in meat products. **Foodborne Pathogen Dis**, v. 7, n. 6, p. 619-628, 2010.

TORTORA, G. J. et al. **Microbiologia.** 6.ed. Porto Alegre: Artmed, 2003.