MARIA FERNANDA DE CASTRO BURBARELLI

Avaliação do desempenho de frangos de corte e microbiota das instalações em dois programas de limpeza e desinfecção

Pirassununga

2012

MARIA FERNANDA DE CASTRO BURBARELLI

Avaliação do desempenho de frangos de corte e microbiota das instalações em dois programas de limpeza e desinfecção

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Produção Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências

Departamento:

Nutrição e Produção Animal

Área de Concentração:

Nutrição e Produção Animal

Orientador:

Prof. Dr. Ricardo de Albuquerque

Pirassununga
2012

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

BIBLIOTECA VIRGINIE BUFF D'ÁPICE
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
E ZOOTECNIA DA USP
21/5/12

Conferido Somente Ficha
Catalografica

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virginie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T.2583
FMVZ

Burbarelli, Maria Fernanda de Castro
Avaliação do desempenho de frangos de corte e microbiota das instalações em dois programas de limpeza e desinfecção / Maria Fernanda de Castro Burbarelli. -- 2012.
121 f. : il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Nutrição e Produção Animal, Pirassununga, 2012.

Programa de Pós-Graduação: Nutrição e Produção Animal.
Área de concentração: Nutrição e Produção Animal.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo de Albuquerque.

1. Biosseguridade. 2. Desinfetantes. 3. Produção. 4. Sanidade. I. Título.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

Comissão de Ética no uso de animais

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Avaliação da eficiência produtiva em lotes de frangos de corte relacionados com programas de limpeza e desinfecção", protocolado sob o nº 2029/2010, utilizando 1920 (um mil novecentos e vinte) frangos de corte, sob a responsabilidade do(a) Prof. Dr. Ricardo de Albuquerque, está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da "Comissão de Ética no uso de animais" da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e foi aprovado em reunião de 04/5/2011.

We certify that the Research "Evaluation of production efficiency of broilers related to cleaning and disinfection programs", protocol number 2029/2010, utilizing 1920 (one thousand, nine hundred and twenty) broilers, under the responsibility Prof. Dr. Ricardo de Albuquerque, agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by "Ethic Committee in the use of animals" of the School of Veterinary Medicine and Animal Science of University of São Paulo and was approved in the meeting of day 05/04/2011.

São Paulo, 05 de maio de 2011.

Profa. Dra. Denise Tabacchi Fantoni
Presidente

Av. Prof. Dr. Orlando Marques de Paiva, nº87
Cidade Universitária "Armando de Salles Oliveira"
São Paulo/SP - Brasil
05508-270

Fax: +55.11 3032-2224 / 3091-7757
Fone: + 55 11 3091-7671/7676
E-mail: fmvz@usp.br
http://www.fmvz.usp.br

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome: BURBARELLI, Maria Fernanda de Castro

Título: Avaliação do desempenho de frangos de corte e microbiota das instalações em dois programas de limpeza e desinfecção.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Produção Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências

Aprovado em: ____/____/_____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Dedico a todos aqueles que fizeram parte desta jornada, contribuindo na realização de um sonho, sem vocês nada disto seria possível! Obrigada!

Em especial aos meus pais e avós, amo vocês!

Agradecimentos

Agradeço a Deus por todos os momentos vividos, desafios superados e pela saúde necessária para estes.

Aos meus Pais Arlei e Neusa, pois sem a sua ajuda jamais teria realizado o sonho de ser Médica Veterinária. Aos meus avós, Olímpio e Pedrina que foram minha inspiração.

A Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo. Ao departamento de Nutrição e Produção animal VNP.

Ao Professor Ricardo pela orientação, exemplo e paciência.

A Profa. Andrezza e Prof. Ricardo responsáveis pelo laboratório de Higiene Zootécnica da FZEA que gentilmente cederam suas instalações para realização das análises laboratoriais dos experimentos, além do apoio, conselhos e orientação.

A Fapesp pela Bolsa e Auxilio Pesquisa oferecidos para execução do projeto.

A imensa lista de pessoas especiais que ajudaram na execução do projeto:

Carlos Eduardo – Cadu que ajudou diretamente na execução do projeto e me aguentou em todos os momentos de estresse e em que tudo parecia que iria por água abaixo.

Jessica Russo que realizou parte do estágio obrigatório no Setor de Avicultura esteve presente na parte inicial deste projeto, diariamente.

Karoline Lelis – Garga, Thaiane Kasmanas – Broza, Pedro Paulo Godoy – Pani, Marcela Monne, estagiários e alunos de iniciação científica, amigos, que estiveram presentes no manejo de campo e análises laboratoriais(além de lavar os milhares de tubos de ensaio que utilizamos) tornando dias intermináveis em possíveis, e claro, pelas inúmeras risadas.

Antônio Roberto – China, funcionário do aviário sempre atencioso e prestativo, com um “causo” novo para contar.

Pedro Ribeiro, pela paciência para a realização das análises estatísticas dos dados experimentais obtidos e auxilio nos intermináveis dias de controles.

João Guilherme – Pé de Pano, pela amizade e bagunças de quase 2 anos dividindo casa, pelo auxilio com a Fapesp no início do mestrado e na realização dos programas de limpeza e desinfecção.

Nayara Tavares, pelo auxílio no programa PAE e com as intermináveis tabelas dos experimentos. (só não me venha com tirar penas de novo hein...)

Professor Roberto Bordin, pela orientação desde a graduação e cooperação na realização do projeto.

Diko Becker, pelo fornecimento do material utilizado no experimento e cooperação na realização do projeto.

A Profa. Estela que gentilmente cedeu o galpão onde foram realizados todos os experimentos.

Ao pessoal do Laboratório de Higiene Zootécnica em especial aqueles que auxiliaram nas análises dos Aspergillus Spp.: Érika, Silvia, Marcelo e Euder.

Ao pessoal do aviário Edinho, Antônio, Felipe, Carol, Claudio e Vanessa pela cooperação na realização do experimento.

Aos funcionários da fábrica de ração Cláudio, Rahel, Zé, Nhonho, e do abatedouro experimental, sempre prestativos.

Aos funcionários da Elétrica da CCPS que nos atenderam nas emergências.

Aos funcionários do bandejão pois a fome era imensa após o manejo diário.

Ao Tadele pelo transporte das amostras de água até o laboratório em Campinas.

Ao Bigode, pelo transporte da ração e dos pintinhos utilizados no experimento.

Aos colegas de grupo de trabalho e amigos Pedro, Esther, Gustavo e Cadu na correção da dissertação, pois depois de tanto tempo lendo as mesmas informações é impossível identificar os erros.

A todos os amigos que estiveram na viagem para a ALPA no Uruguay, a melhor viagem, com ótimas companhias: Marina, Rafael, João, Nayara, Nataly, Fernanda, Iaçanã, Mayara, Beatriz e Pedro Paulo

Aos demais orientados do Prof. Ricardo, Gustavo e Maria Teresa, pelo auxílio na realização dos experimentos.

Aos vizinhos, amigos e agregados da república Hard Roça: Nara, Maurício – Xibungo, Eduardo – Frodo, Caio, Flavio Perna, Rodrigo – Komixão, Teresa – Novilha, Marina – Nina, Esther, Eduardo – Dudu, Barbara – Babi e Flávio pela companhia, jantas, churrascos e toda diversão.

A 75ª Turma da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, alunos durante o Programa PAE.

A Carla que mantém nossa república habitável.

As meninas da faxina do departamento VNP sempre animadas, fazendo chá e café para nós, Suelen, Cida, Dona Maria, Cecília.

A Pança minha cadelinha, que me fez companhia enquanto escrevia nas madrugadas.

Aos 2.500 frangos que fizeram parte dos experimentos que doaram suas vidas em favor da pesquisa.

E finalmente a todos aqueles que um dia leram este trabalho ou parte dele, pois aprendi que um dos intuitos da pesquisa é disseminar conhecimento, e se com o presente estudo alguém conseguir retirar algum tipo de aprendizado, por mínimo que seja, ficarei muito feliz em ter alcançado um dos meus objetivos!

RESUMO

BURBARELLI, M. F. C. **Avaliação do desempenho de frangos de corte e microbiota das instalações em dois programas de limpeza e desinfecção.** [Cleaning and disinfecting: poultry performance and microbiologyof facilities]. 2012. 121 f Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paluo, Pirassununga, 2012.

O presente estudo teve como objetivos observar a influência de programas de limpeza e desinfecção sobre o desempenho de frangos de corte e na microbiologia das instalações. Foram realizados dois experimentos, ambos com 960 pintos de corte criadosaté 42 dias. No primeiro experimento o piso foi forrado com maravalha nova. No segundo a cama foi reutilizada, proveniente do primeiro experimento. Os tratamentos foram: comum: retirada da matéria orgânica e lavagem da instalação com água; europeu: remoção seca da matéria orgânica, lavagem com água sob pressão, aplicação do detergente alcalino, enxague, secagem, e aplicação de dois desinfetantes(glutaraldeído+formaldeído e paraclorometacresol). Os dados de desempenho avaliados foram consumo de ração, ganho de peso, peso final, conversão alimentar, viabilidade e índice de eficiência produtiva. As análises microbiológicas realizadas foram contagem total de microrganismos, quantificação de *Clostridium Spp., E. Coli, Salmonella Spp. e Aspergillus Spp*. através de “suabes” de piso, parede, comedouros, bebedouros e cortinas. Foram ainda coletadas amostras de cama, ração e água para avaliação microbiológica. As analises estatísticas foram realizadas pelo teste F para desempenho e teste de Kruskal-Wallis para microbiologia ambos com índice de significância ($p>0,05$)através do procedimento GLM do programa SAS . No primeiro experimento não houve diferença estatística significativa para desempenho e avaliações microbiológicas. No segundo experimento notou-se melhor desempenho dos animais do tratamento Europeu e redução da carga microbiológica. A limpeza e desinfecção possuem influências positivas no desempenho de frangos de corte.

Palavras–chave: Biosseguridade. Desinfetantes. Produção. Sanidade.

ABSTRACT

BURBARELLI, M. F. C. **Cleaning and disinfecting: poultry performance and microbiologyof facilities**. [Avaliação do desempenho e da microbiologia das instalações de frangos de corte submetidos a dois programas de limpeza e desinfecção]. 2012.121 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2011.

Thisstudy aimed toobserve the influenceof programsof cleaning and disinfecting in performanceof broilersand microbiologyof the facilities. Two experiments were conducted, both with960 chicksof one dayraised from until42 days. In thefirst experiment, thefloor wascovered withnew woodshavings. Inthesecondthe litter wasreused. The treatments were:Common: removal of organic matterand washingplant;European: removal of dry organic matter, wash with water under pressure, application ofalkaline detergent,rinsing,drying,and application oftwo disinfectants. The performance parameters were*feed intake, weight gain, finalweight, feed conversion,feasibilityand scoreproductiveefficiency*. Microbiological analyzesweretotal count ofmicroorganisms, quantification of*Clostridiumspp., E.Coli, Salmonellaspp. and Aspergillusspp.*through suabesfloor, wall, feeders, drinkers andcurtains. Were alsocollectedsamples oflitter,feed andwater formicrobiological evaluation. Thestatistical analyzeswereperformedby the F testfor performance andKruskal-Wallis test for microbiologyboth witha significance level ($p>0.05$)using thecomputer programSASPROCGLM. In the first experimentthere was nostatistically significanteffectsfor performanceand microbiological analyzes. In the second experimentit was notedbetter poultry performance ofEuropeantreatmentand reduction ofmicrobialload. The cleaningand disinfectionhavepositive influenceson performanceof broilers.

Keywords: Animal Health. Biosecurity. Disinfectants. Production.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Biosseguridade como elos de uma corrente..... 21

Figura 2 - Box para criação dos frangos antes do alojamento das aves, comedouro e bebedouro infantis, campânula para aquecimento com lâmpada de infravermelho..... 48

Figura 3 - Lavagem do galpão com água sob baixa pressão, tratamento Comum..... 50

Figura 4 - Galpão e utensílios após a limpeza e desinfecção do tratamento Comum..... 50

Figura 5 - Bebedouros infantis imersos em solução de detergente para posterior enxague e desinfecção, Tratamento Europeu..... 52

Figura 6 - Lavagem do galpão com água sob pressão, tratamento Europeu..... 52

Figura 7 - Aplicação de solução desinfetante no galpão e demais utensílios do tratamento Europeu..... 53

Figura 8 - Calçados exclusivos e pedilúvio na entrada do galpão..... 54

Figura 9 - Coleta de "suabes" de paredes..... 56

Figura 10 - Coleta de suabe de cortinas..... 56

Figura 11 - Diluição seriada das amostras de suabe coletadas..... 57

Figura 12 - Análise microbiológica da cama, homogeneização com água peptonada para posterior diluição..... 58

Figura 13 - Semeadura das amostras em placas de Petri, espalhamento com alça de Drigalsky..... 59

Figura 14 - Análise de bioluminescência, aparelho luminômetro para análise dos “suabes” específicos..... 60

Figura 15 - Placas contendo meio *E.Coli* Cromatogênico, colônias azuis típicas de *E.Coli*..... 63

Figura 16 - Placa de Petri contendo meio RCA, contagem de colônias de *Clostridium*..... 65

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição percentual e valores nutricionais calculados das rações para as diferentes fases..... 49

Tabela 2 - Parâmetros de desempenho obtidos no experimento 1 - alojamento com cama nova..... 68

Tabela 3 - Parâmetros de desempenho obtidos no experimento 2 - alojamento com cama reutilizada. 71

Tabela 4 - Microbiologia e bioluminescência, avaliação do ambiente e equipamentos antes do início do primeiro experimento..... 75

Tabela 5 - Microbiologia e bioluminescência, avaliação do ambiente e equipamentos após a realização dos processos de limpeza e desinfecção do primeiro experimento..... 76

Tabela 6 - Microbiologia e bioluminescência, avaliação do ambiente e equipamentos aos 7 dias de vida dos animais do primeiro experimento..... 79

Tabela 7 – Microbiologia e bioluminescência, avaliação do ambiente e equipamentos aos 14 dias de vida dos animais do primeiro experimento..... 80

Tabela 8 - Microbiologia e bioluminescência, avaliação do ambiente e equipamentos aos 28 dias de vida dos animais do primeiro experimento..... 83

Tabela 9 – Microbiologia e bioluminescência, avaliação do ambiente e equipamentos aos 42 dias de vida dos animais do primeiro experimento..... 84

Tabela 10 - Microbiologia e bioluminescência, avaliação do ambiente e equipamentos antes do início do segundo experimento..... 88

.

Tabela 11 - Microbiologia e bioluminescência, avaliação do ambiente e equipamentos após a realização dos procedimentos de limpeza e desinfecção do segundo experimento..... 90
Tabela 12 - Microbiologia e bioluminescência, avaliação do ambiente e equipamentos aos 7 dias de vida dos animais do segundo experimento..... 91
Tabela 13 - Microbiologia e bioluminescência, avaliação do ambiente e equipamentos aos 14 dias de vida dos animais do segundo experimento..... 92
Tabela 14 - Microbiologia e bioluminescência, avaliação do ambiente e equipamentos aos 28 dias de vida dos animais do segundo experimento..... 93
Tabela 15 - Microbiologia e bioluminescência, avaliação do ambiente e equipamentos aos 42 dias de vida dos animais do segundo experimento..... 94
Tabela 16 - Análise microbiológica da Cama utilizada no primeiro experimento, cama nova..... 98
Tabela 17 - Análise microbiológica da cama utilizada segundo experimento, cama reutilizada..... 99
Tabela 18 - Análise microbiológica da ração utilizada primeiroexperimento. 102
Tabela 19 - Análise microbiológica da ração utilizada segundo experimento. 103
Tabela 20 - Frequência de *Aspergillus Spp*. nas amostras coletadas no primeiro experimento para pisos, paredes, comedouros, bebedouros e cortinas..... 105

Tabela 21 - Frequência de *Aspergillus Spp*. nas amostras coletadas no primeiro experimento para pisos, paredes, comedouros, bebedouros e cortinas. 107
Tabela 22 - Frequência de *Aspergillus Spp*. nas amostras coletadas no primeiro e segundo experimentos para ração e cama. 108
Tabela 23 - Frequência de adequação da água de bebida dos animais coletada no bebedouro a RESOLUÇÃO CONAMA Nº. 396, de 03 de Abril de 2008, o Ministério da Agricultura e Abastecimento, através do Anexo II do Oficio Circular Conjunto DFIP – DSA nº 1 / 2008, de 16/09/ 2008..... 111

LISTA DE ABREVIAÇÕES E SIGLAS

°C – graus Celsius

µL – microlitros

AFPA – *Aspergillus flavus parasiticus* ágar

APC – Agentes promotores de crescimento

ATP – trifosfato de adenosina

bar – unidade de pressão 1 bar equivalente a 14,5 psi

BPP – Boas Práticas na Produção

Ca – cálcio

CA – Conversão Alimentar

cm² - centímetros quadrados

CR – Consumo de Ração

DFIP - Departamento de Fiscalização de Insumos Pecuários

DRC – doença respiratória crônica

EDTA - ácido etilenodiamino tetra-acético

g – gramas

g/L – gramas por litros

GP – Ganho de Peso

HCl – ácido clorídrico

kg – quilograma

L – litros

m – metros

met+cis – relação metionina cistina

Min. – Mineral

P – Fósforo

ppm – partes por milhão

PSI – "*pound force per square inch*" ou libra força por polegada quadrada

PV – Peso Vivo

RCM – Ágar Clostridium Reforçado

RLU – Unidades de Luz Relativa

TSI – Triple sugar iron

Trat. Cm – Tratamento Comum

Trat. Eu – Tratamento Europeu

UBA – União Brasileira de Avicultura

UBABEF/ABEF - Associação Brasileira dos Produtores e Exportadores de Frangos

UFC – Unidade formadora de colônia

USDA - United States Department of Agriculture

Viab – Viabilidade

Vit. – Vitamínico

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 18
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 21
2.1 BIOSSEGURIDADE NA AVICULTURA 21
2.2 BANIMENTO E ALTERNATIVAS AO USO DE PROMOTORES DE CRESCIMENTO NA PRODUÇÃO AVÍCOLA 23
2.3 PROCEDIMENTOS DE TROCA DE CAMA, LIMPEZA E DESINFECÇÃO DE ESTABELECIMENTOS AVÍCOLAS. 24
2.3.1 Procedimentos de Limpeza 25
2.3.2 Procedimentos de Desinfecção 26
2.3.4 Reutilização da cama 27
2.4 TIPOS DE DESINFETANTES E SUA IMPORTÂNCIA EM UM PROGRAMA DE BIOSSEGURIDADE 29
2.4.1 Importância dos desinfetantes em um programa de biosseguridade 29
2.4.2 Tipos de desinfetantes utilizados na avicultura 31
2.4.2.1 Compostos Fenólicos 31
2.4.4.2 Amônia quaternária 32
2.4.2.3 Biguanidas (Clorexidina) 33
2.4.2.4 Compostos de Cloro 33
2.4.2.5 Aldeídos (Formaldeído, glutaraldeído) 34
2.4.2.6 Iodados 35
2.4.2.7 Agentes Oxidantes 35
2.5 PRODUTIVIDADE E SANIDADE AVÍCOLA 36
2.6 SAÚDE INTESTINAL E DESEMPENHO DE FRANGOS DE CORTE 37
2.6.1 Clostridioses e enterotoxemias clostridianas 38
2.6.2 Salmonelose Aviária 39
2.6.3 Escherichia Coli 41
2.7 IMPORTÂNCIA DO SISTEMA RESPIRATÓRIO NA PRODUTIVIDADE AVÍCOLA 41
2.7.1 Colibacilose e aerosaculites 42
2.7.2 Aspergillus e suas implicações na avicultura 43
3 OBJETIVOS 46

3.1 OBJETIVOS GERAIS 46
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS 46
4 HIPÓTESE 46
5 MATERIAL E MÉTODOS 47
5.1 INSTALAÇÕES, EQUIPAMENTOS E ANIMAIS 47
5.2 TRATAMENTOS - SISTEMAS DE LIMPEZA E DESINFECÇÃO E TIPO DE CAMA 49
5.3MANEJO DIÁRIO 53
5.2 Dados de desempenho 55
5.3 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS 55
5.5.1 Coleta de Amostras para análises microbiológicas. 55
5.6 CONTAGEM TOTAL DE MICRORGANISMOS 57
5.7 Avaliação para presença de E. Coli nas amostras 59
5.8 AVALIAÇÃO DA PRESENÇA DE *SALMONELLA SPP* NAS AMOSTRAS 61
5.9 AVALIAÇÃO DA PRESENÇA DE *CLOSTRIDIUM SPP*. 62
5.10. AVALIAÇÃO DA PRESENÇA DE *ASPERGILLUS SPP* 62
5.11 AVALIAÇÃO QUANTITATIVA TRIFOSFATO DE ADENOSINA (ATP) COM LUMINÔMETRO 64
5.12 ANÁLISES DE ÁGUA 65
5.13 ANÁLISES ESTATÍSTICAS 66
5.13.1 Dados de desempenho 66
5.13.2 Dados de Microbiologia 67
6 RESULTADOS E DISCUSSÃO 68
7 CONCLUSÕES 113
REFERÊNCIAS 114

1 INTRODUÇÃO

No ano de 2009, segundo o Relatório Anual da UBABEF, 2009/2010, foram exportadas 3,63 milhões de toneladas de frangos e a receita foi de US$ 5,8 bilhões. Registrou-se uma queda nas exportações de 0,3% em relação ao ano de 2008 e na receita houve um decréscimo de 16,33%. Estes fatos podem ser explicados pela retração na economia mundial devido à crise financeira internacional, com a redução de preços, de encomendas de clientes importantes como Rússia, Japão e Venezuela, e pela valorização do real frente ao dólar americano. Os estados de Santa Catarina, Paraná, Rio Grande do Sul e São Paulo foram os maiores exportadores nacionais com 27,14%, 26,27%, 21,19% e 7,51% respectivamente do total exportado pelo País. (ABEF, 2009).

Em 2010, a produção de carne de frango chegou a 12,230 milhões de toneladas obtendo um crescimento de 11,38% em relação a 2009, quando foram produzidas 10,980 milhões de toneladas. Com este desempenho o Brasil se aproxima da China, o segundo maior produtor mundial, cuja produção de 2010 teria somado 12,550 milhões de toneladas, abaixo apenas dos Estados Unidos, com 16,648 milhões de toneladas, de acordo com USDA

Do volume total de frangos produzido pelo país, 69% foi destinado ao consumo interno, e 31% para exportações, o consumo per capita de carne de frango foi de 44kg/hab em 2010. (UBABEF, 2011)

Para atender mercados competitivos, há exigência por uma elevada produtividade gerando a necessidade de precisão na genética, manejo, nutrição e sanidade.

Como efeito de desafios sanitários em toda a indústria animal, muita atenção tem se voltado aos métodos de prevenção. Dentro deste contexto a biosseguridade tem se tornado o foco de atenção da maioria dos produtores de animais e indústrias de alimentos. Esta prática visa atender a relação custo/benefício de produção, maximizar a capacidade produtiva e ainda promover a oferta de um produto de boa qualidade sanitária atendendo as exigências do consumidor interno e externo.

Os procedimentos de limpeza e desinfecção fazem parte de uma das etapas mais importantes dentro do ciclo de produção avícola, estando presente em todas as fases de criação.

Para um programa de sucesso são necessários: produtos de comprovada eficácia, adequados às características próprias da instalação e equipamentos, mão-de-obra qualificada e treinada, conhecedora da necessidade de uma perfeita atuação nas atividades de limpeza e desinfecção, e o conhecimento dos agentes etiológicos instalados na propriedade.

A realização rotineira de um processo de higienização detalhado é condição indispensável para a manutenção do nível de sanitário do plantel, pois, através da redução da carga microbiana nas instalações, equipamentos e consequentemente no ambiente do sistema de produção, seguramente se reduzirá o risco de ocorrência de doenças bem como o controle ou a erradicação de enfermidades presentes (OUROFINO, 2004).

Em 1999, a Comunidade Européia baniu o uso de tilosina, virginamicina, espiramicina e bacitracina de zinco como APCs. Esta atitude foi parte de um plano para o banimento total do uso de APCs em 2006. O banimento dos APCs na Europa é uma manifestação óbvia do princípio de precaução. Também indica, indiretamente, que os dirigentes europeus veem a possibilidade de recuperação das perdas inerentes à retirada dos APCs, sobretudo com o uso de boas práticas de criação (FIORENTINI, 2005a).

Os conhecimentos atuais demonstram que as dependências que abrigam aves, são locais de intensa multiplicação de agentes infecciosos, com o que se rompe o equilíbrio existente entre os animais e os microorganismos de seu meio ambiente. A adoção de programas de limpeza e desinfecção geralmente é bem aceita pelos criadores de aves. Sua aplicação constante, entretanto, é realmente difícil. Um dos principais motivos dessa dificuldade é o fato de que, comparado com outras medidas, o custo do processo é imediato, enquanto que seus benefícios somente aparecem com o tempo e são difíceis de mensurar.

Limpeza e desinfecção é um conjunto de atividades e técnicas, comumente conhecido como “Programa de Limpeza e Desinfecção” que deve ser específico para cada situação ou ambiente. No meio zootécnico, é um componente indispensável para se alcançar eficiência e lucratividade (MULLER, 2007).

Apesar das influências dos procedimentos de limpeza e desinfecção na saúde das aves estarem bastante evidentes, pouco se estuda sobre a relação direta destas práticas com o desempenho de frangos de corte, juntamente com o estudo da eficiência destes programas na eliminação de microrganismos existentes nas instalações de frangos de corte, por isto torna-se evidente a necessidade de estudos avaliando a eficiência dos procedimentos de limpeza e desinfecção e sua correlação com os índices produtivos obtidos.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 BIOSSEGURIDADE NA AVICULTURA

Biosseguridade pode ser definida como um conjunto de normas e práticas que visam à proteção das aves e ovos contra patógenos, evitando a sua transmissão e introdução resultando na melhoria da produtividade da granja (SESTI,2005).

O programa de biosseguridade tem como objetivos diminuir o risco de infecções, aumentar o controle de higidez nos plantéis, minimizar a contaminação do ecossistema e resguardar a saúde do consumidor final do produto (JAENISCH, 2003).

O programa deve ser representado na verdade como uma corrente (Figura 1) onde cada elo possui absolutamente a mesma importância na manutenção da resistência da corrente. Isto é, a resistência de uma corrente é sempre igual à resistência de seu elo mais fraco. Cada um dos elos, ou componentes do um programa deve ser trabalhado, melhorado, modificado, atualizado em acordo com as características específicas de cada sistema de produção. Somente será efetivo e abrangente se todos os componentes estiverem equilibrados. (SESTI, 2005).

Figura 1 – Biosseguridade como elos de uma corrente (SESTI, 2005)

Fonte: SESTI,2005

O programa de biosseguridade é composto por um conjunto de medidas e procedimentos de cuidados com a saúde do plantel aplicados em todas as etapas da criação, em interação com os diversos setores que compõem o sistema produtivo. A adoção dos procedimentos para a implantação do programa requer um elevado grau de conscientização de todas as pessoas envolvidas no processo de produção, uma vez que pequenos detalhes são importantes para o sucesso no controle da saúde do plantel. (JAENISCH, 2003).

Segundo Mendes et al. (2004), para o sucesso do programa de biosseguridade, deve-se identificar as possíveis fontes de contaminação a que estão sujeitos os frangos de corte. As principais fontes de contaminação em uma granja de frangos de corte são:

- Pessoas: operários, técnicos, motoristas, visitantes;
- Veículos: caminhões de pintos, ração ou frangos, veículos de técnicos e visitantes;
-Equipamentos: todo equipamento necessário à criação de frangos de corte indevidamente higienizados;
-Pintos de um dia: ave introduzida no aviário já albergando algum microrganismo patogênico seja este de origem da própria reprodutora, ou por contaminação no incubatório;
- Roedores, aves silvestres e insetos: podem portar e introduzir microrganismos no aviário;
- Ração: matéria prima contaminada para produção de ração;
- Água: não potável;
-Cama: matéria prima nova pode conter produtos tóxicos e cama reutilizada proveniente de lotes com antecedentes de doenças;

2.2 BANIMENTO E ALTERNATIVAS AO USO DE PROMOTORES DE CRESCIMENTO NA PRODUÇÃO AVÍCOLA

Na produção avícola, o principal objetivo é a obtenção de alta produtividade, aliada à qualidade dos produtos finais. Para isso, utilizam-se aditivos alimentares, como os antibióticos, com a função de promover o crescimento das aves(GONZALES et al., 2000).A manutenção da flora desejável tem sido há algum tempo obtida com o uso de promotores de crescimento, os quais deprimem os microrganismos considerados indesejáveis e proporcionam um meio favorável para aqueles considerados desejáveis (PAIVA, 2006).

O uso indiscriminado dos antibióticos na alimentação animal desde o princípio da década de 50 pode ter resultado no desenvolvimento de populações bacterianas resistentes. Além disso, grupos de consumidores apresentam restrição ao consumo de carnes de aves criadas com rações contendo antibióticos, em particular no mercado externo (GONZALES et al., 2000).

Alguns resíduos de drogas possuem seus metabólitos evidenciados como agentes predisponentes ao câncer para os consumidores. Além disso, os antibióticos podem não surtir efeito quando for necessário utilizá-los, devido ao efeito de resistência adquirida pelas bactérias. O uso de drogas estratégicas para a saúde humana tem sido limitado na Europa por favorecer o desenvolvimento de resistência bacteriana, restringindo significativamente os tipos de antibióticos permitidos na produção animal.Resíduos desta natureza na carne inviabilizam seu consumo, sendo os antibióticos considerados uma barreira sanitária à entrada deste produto no mercado europeu. (FLEMMING; FREITAS, 2005;ALBINO et al.,2006;PAIVA, 2006).

Setores da saúde pública do Brasil têm se manifestado contra os antibióticos e a sua proibição em rações é eminente, seguindo a tendência mundial e obedecendo às normas internacionais para o banimento completo dos promotores de crescimento (MILTENBURG, 2000).

O banimento dos APCs na Europa é uma manifestação óbvia do princípio de precaução. Também indica, indiretamente, que os dirigentes

europeus veem a possibilidade de recuperação das perdas inerentes à retirada dos APCs, sobretudo com o uso de boas práticas de criação (FIORENTINI, 2005a).

Boas Práticas de Produção (BPP) de frangos são regras a serem seguidas para ajustar a rentabilidade da operação com outros fatores não tangíveis, tais como: ambiente, segurança alimentar, aspectos sociais e bem estar animal. Dentre as BPP podemos encontrar as medidas de Biosseguridade, sendo fundamental a limpeza e desinfecção(UBA, 2008).

2.3 PROCEDIMENTOS DE TROCA DE CAMA, LIMPEZA E DESINFECÇÃO DE ESTABELECIMENTOS AVÍCOLAS.

Uma das mais importantes e trabalhosas etapas de biosseguridade em aves é a troca de cama, lavagem e desinfecção das granjas, silos, sistema hidráulico e equipamentos. Nestas práticas busca-se redução de contaminações para lotes posteriores por isto este trabalho deve ser realizado com extremo rigor(FORTDODGE, 2008).

Antes do início das atividades de limpeza e desinfecção deve-se proceder a avaliação de qual, ou quais agentes estão envolvidos, as áreas potencialmente contaminadas e quais os desinfetantes mais eficazes para determinada situação (PETERSONet al., 2008).

Outro aspecto fundamental é o planejamento da logística de alojamento e troca de cama dentro da propriedade e da região. Este princípio é chamado *all-in/all-out* ou todos dentro/todos fora, no qual propriedades próximas devem estar realizando a mesma etapa de produção. Assim, evita-se que as aves velhas transmitam microrganismos patógenos a aves mais novas alojadas em diferentes datas e granjas próximas.Assim, a troca de camas e limpeza e desinfecção também serão feitas simultaneamente bem como o alojamento (FORTDODGE, 2008).

2.3.1 Procedimentos de Limpeza

A retirada da matéria orgânica de forma completa e minuciosa é fator decisivo para o sucesso desta operação. Após a retirada do lote, deve-se retirar todos os utensílios utilizados no aviário e remover a cama. (JAENISCH, 2003).

Nesta fase de limpeza seca do ambiente estima-se que 90% das bactérias presentes são retiradas das superfícies. O objetivo destes procedimentos é retirar o máximo possível da matéria orgânica, pois os microrganismos ficam protegidos da ação dos desinfetantes. (PETERSONet al., 2008)

O processo de limpeza úmida envolve quatro etapas molhar, lavar, enxaguar e secar. A limpeza úmida inclui água, sabão ou detergente, aplicados a superfície com afunção de emulsificar gorduras, deixando as superfícies prontas para o aproveitamento completo do desinfetante que será aplicado em seguida. Os detergentes usados em granjas penetram e degradam matéria orgânica e são levemente germicidas, mas não são adequados como desinfetantes ou como sanitizantes. A aplicação de apenas água não é recomendada, apesar de bastante utilizada, causando uma falsa sensação de segurança (GREZZI, 2007).

Apesar da eficiência da limpeza úmida para a remoção da matéria orgânica, o biofilme pode permanecer aderido às superfícies. O biofilme é uma complexa camada de bactérias aderidas à superfície em uma matriz de exopolissacarídeo. Detergentes surfactantes, escovação e raspagem durante a lavagem auxiliam na remoção do biofilme (PETERSON et al., 2008).

A lavagem com jatos de alta pressão é muito útil para limpar superfícies porosas durante a limpeza úmida. A água quente ajuda a remover materiais gordurosos, também é muito eficaz para eliminar bactérias. O uso de água quente não é obrigatório e pode não ser prático na maioria das granjas, onde geralmente não está disponível(UGA, 2005).

Os detergentes são classificados em três categorias: catiônicos, aniônicos e não-iônicos. Os detergentes catiônicos são soluções com carga positiva e, exceto pelos compostos de amônia quaternária, raramente são usados como agentes de limpeza. Os detergentes aniônicos ou sabões são sais alcalinos de

ácidos graxos com carga negativa, não são ideais para a limpeza porque podem formar excesso de espuma, que pode permitir o acúmulo de terra e microrganismos. Os detergentes não iônicos (sem carga) são excelentes emulsificantes, têm boa penetração e dispersão, são eficazes para diminuir a tensão superficial e produzem menos espuma, não formam complexos com íons metálicos, como os encontrados em água dura. A maioria dos detergentes comerciais usados em granjas é uma combinação de detergentes aniônicos e não iônicos (GREZZI, 2007).

Um enxágue completo com água limpa remove o detergente e qualquer resíduo orgânico que tenha permanecido e que possa interferir com a eficácia do desinfetante a ser usado. O enxágue também diminui a possibilidade de prejudicar os animais por absorção acidental de qualquer detergente ou sabão residual (UGA, 2005).

O último passo dos procedimentos da limpeza é a secagem completa da instalação, caso as superfícies permaneçam úmidas, poderá haver uma maior proliferação das bactérias. Uma limpeza inadequada pode ter um efeito mais prejudicial do que benéfico. Após a adequada limpeza pode-se iniciar os processos de desinfecção.(GREZZI, 2007)

2.3.2 Procedimentos de Desinfecção

Segundo Cony,(2007), na sua definição legal o desinfetante é um agente livre de infecções, usualmente um produto químico que tem a capacidade de destruir microrganismos nocivos, causadores de doenças ou vírus inativados. O termo é mais comumente usado para designar substâncias químicas que destroem formas em crescimento, devendo também eliminar vírus inativados.

Escolha do desinfetante deve levar em consideração o principio ativo, estabilidade, diluição, método de aplicação e tempo de exposição necessário. Deve–se levar em consideração também a carga de matéria orgânica no ambiente, temperatura, umidade relativa do ar, dureza da água de diluição, presença de outras substâncias no local de aplicação (FERREIRA, 2008).

Os desinfetantes devem ser aplicados por pulverização, utilizando-se baixa pressão. As superfícies devem estar molhadas, a diluição deve ter sido feita corretamente e o tempo de ação do desinfetante deve ser respeitado. Após a desinfecção o ambiente deve ser lavado e seco antes da chegada dos animais (PETERSON et al., 2008).

É fundamental adotar um tempo de vazio sanitário (período correspondente após a limpeza e desinfecção até a entrada do novo lote) de no mínimo 10 dias entre a mudança dos lotes no estabelecimento avícola (FORTDODGE, 2008).

2.3.4 Reutilização da cama

O uso de cama nos aviários de frangos de corte tem por objetivos evitar o contato direto das aves com o piso, servir de substrato para a absorção da umidade do ambiente, incorporação de fezes, urina, penas, descamações da pele e restos de alimento caídos dos comedouros e contribuir para a redução das oscilações de temperatura no aviário. Com a expansão da avicultura, o material utilizado na preparação das camas, em muitos casos, restringiu-se à maravalha que foi se tornando progressivamente mais escassa e com maior valor (CNPSA, 2007).

De acordo com Avila et al, (2008) por apresentar um clima que permite a produção em aviários abertos, o Brasil fornece condições para reutilização da cama por até seis lotes. Esta é uma prática que vem sendo utilizada e se tornou uma alternativa a ser considerada sempre que ocorrem dificuldades na obtenção de materiais utilizados como cama e também como forma de reduzir o excesso desse resíduo para disposição no meio ambiente e como contrapartida, a redução do corte de arvores para este fim.

A reutilização da cama na criação de frangos pode impor problemas para a saúde animal e humana, mas existe a necessidade de reduzir custos da produção, por isso é necessário encontrar um equilíbrio entre reduzir os impactos da reutilização da cama na saúde, sem, porém aumentar demasiadamente os custos da produção (FIORENTIN, 2005 b).

A microbiota da cama é muito diversificada, em função do contínuo aporte de fezes durante todo o ciclo produtivo das aves. Além disso, há a incorporação de microrganismos provenientes do ambiente(JORGE et al.,1995).

A dinâmica desta microbiota afeta mutuamente todos os grupos de bactérias presentes nesta cama. Algumas situações há um efeito de desafio sanitário, e em outras situações a competição entre as populações é benéfica para o lote de frangos. A utilização de cama nova a cada criada seria o ideal do ponto de vista de saúde publica, mas aumenta demasiadamente o custo de produção e gera um grande volume de resíduos. (FIORENTIN,2005 b)

A cama reutilizada não apresenta prejuízos para as aves, além de que aves criadas em camas no segundo lote tendem a ser mais produtivas do que as criadas em cama nova, fato que pode ser explicado por uma maior imunidade gerada a partir do contato das aves com bactérias benéficas remanescentes do lote anterior, conferindo uma colonização precoce da flora intestinal (FIORENTIN, 2006).

A não reutilização da cama só é justificada caso o lote anterior apresente alguma patologia, que ocasionou mortalidade elevada, alta morbidade ou que venha a se tornar um elevado desafio sanitário para o próximo lote. Porém estudos como o de Oliveira et al.,(2004) e Choi, et al.,(2008) demonstram que a reutilização da cama após a aplicação de algum método químico ou físico no tratamento da cama é uma prática viável a fim de diminuir a contaminação e a emissão de gases de amônia.

Para a reutilização da cama deve-se atentar a alguns princípios:

- Avaliação sanitária da cama: não reutilizar a cama caso o último lote criado tenha apresentado algum problema sanitário.
- Reutilizar a cama não significa abrir mão da limpeza e desinfecção no aviário. Os procedimentos devem ser estabelecidos.
- Processamento adequado: considerar a qualidade da cama a ser reaproveitada(FERREIRA, 2008).

2.4 TIPOS DE DESINFETANTES E SUA IMPORTÂNCIA EM UM PROGRAMA DE BIOSSEGURIDADE

Existem diversas classes de desinfetantes, porém não existe um único que seja eficiente para todas as situações de campo, e também contra todos os patógenos envolvidos, por isto a correta escolha do desinfetante mostra-se fundamental para o sucesso do programa de biosseguridade a ser desenvolvido. (PETERSON et al., 2008)

2.4.1 Importância dos desinfetantes em um programa de biosseguridade

Segundo Coldebella (2004), devem ser consideradas características tais como: o local e as superfícies a serem desinfetadas, as condições de limpeza possíveis de serem alcançadas antes da desinfecção e o agente a ser destruído. O desinfetante deve ter alto poder de eliminação de patógenos, atender à relação custo x benefício, baixa toxicidade, estabilidade em condições adversas de pH, alto poder residual, elevada penetrabilidade e não causar efeitos adversos ao meio ambiente.

De acordo com Merianos (1991) a eficácia dos desinfetantes é regulada por seis fatores: a concentração do desinfetante, a natureza e densidade dos microrganismos, o tempo de contato, pH e presença de matéria orgânica.

Segundo Peterson, et al., (2008) a concentração também é um fator a ser considerado, diferentes produtos podem ser utilizados em diferentes diluições, ou ainda um mesmo produto pode ser utilizado em diferentes concentrações dependendo de onde será utilizado. Utilizar uma concentração maior do que a recomendada pelo fabricante não aumenta a eficiência de um desinfetante, pode causar sua inativação e ainda um aumento no gasto com o produto.

Amass (2004), ao recomendar como deve ser feita a escolha do desinfetante atenta para a importância de seguir as instruções contidas no rótulo do produto a respeito de diluição e tempo de contato. Em experimentos realizados, soluções mais concentradas não aumentam a eficiência do desinfetante.

De acordo com UGA (2005) o tempo de ação dos desinfetantes é variável, mas não é imediato, geralmente 20 a 30 minutos é suficiente para a maioria dos desinfetantes.

A dureza da água pela presença de íons de cálcio, magnésio, ferro e outros pode ser considerado um fator de diminuição da eficiência dos desinfetantes, por isto alguns deles possuem EDTA em sua fórmula para ajudar a quelar estes íons. O pH é outro fator a ser considerado visto que pode aumentar ou diminuir a efetividade dos desinfetantes. (GREZZI, 2007)

Estudos como o de Stringfellow et al., (2009), demonstram que os desinfetantes preparados imediatamente antes do seu uso, bem como a remoção da matéria orgânica fazem com que os mesmos tenham melhores efeitos. No estudo realizado por Payne et al., (2005) a amônia quaternária mostrou-se ineficiente para a desinfecção na presença de matéria orgânica, reforçando a hipótese também apresentada por Stringfellow et al. (2009).

Nos estudos realizados por Ward et. al., (2006), foi observado que quanto maior possível for a remoção da matéria orgânica antes da desinfecção, maior será a eficácia do desinfetante na concentração indicada pelo fabricante.

De acordo com Payne et al., (2005) testes de simulação de condições ambientais, como o de Stringfellow et al., (2009) que vêm sendo desenvolvidos com objetivo de verificar a eficácia dos desinfetantes, mas esses testes nem sempre reproduzem as condições de campo.

Conforme já citado anteriormente os desinfetantes são fundamentais para a execução correta de um programa de biosseguridade. Classes de desinfetantes comumente utilizados na indústria avícola incluem compostos fenólicos, amônia quaternária, hipoclorito de sódio e clorexidina (STRINGFELLOW et al., 2009).

Os desinfetantes são eficientes contra bactérias vírus e fungos, porém não são agentes de escolha para parasitas. A ordem descendente de resistência para agentes causadores de doenças nas aves:

1. esporos (clostridioses) bactérias álcool ácido resistentes (*Mycobacterium avium*)
2. bactérias gram-negativas (*Pseudomonas, E. coli, Salmonella*)
3. fungos (*Aspegillus*)
4. vírus não envelopados (enterovírus)

5. bactérias gram –positivas (*Staphylococcus aureus*)
6. vírus com envelope lipídico (vírus da influenza aviária)

Os parasitas da aves devem ser combatidos com parasiticidas, embora compostos de amônia e desinfetantes fenólicos reduzem oocistos de coccídeos.(MORISHITA; GORDON, 2002)

2.4.2 Tipos de desinfetantes utilizados na avicultura

Existem diversos tipos de desinfetantes disponíveis para serem utilizados na desinfecção de instalações avícolas. Antes de serem escolhidos deve ser analisadas as suas características para uma melhor escolha.

2.4.2.1 Compostos Fenólicos

Os compostos fenólicos são derivados do carvão ou alcatrão quando naturais, ou ainda provenientes de formulações sintéticas; quando adicionados à água tem coloração leitosa bem como forte odor de pinho. (PETERSON et al., 2008)

O'Connor e Rubino, (1991) afirmam que estes compostos possuem diversas formas de atividades bactericida, atuando diretamente no protoplasma, penetrando e desorganizando a parede celular prevenindo a precipitação das proteínas quando em altas concentrações, e inativando as enzimas essenciais para a manutenção do microrganismo em baixas concentrações. Quando em quantidades muito pequenas, atuam como bacteriostáticos. Possuem amplo espectro antimicrobiano, sendo bactericida para microrganismos gram-positivos e gram-negativos, fungicida, tuberculocida e virucida contra vírus lipofílicos, alta tolerância a água dura, possuem atividade residual e são biodegradáveis. Não atuam contra esporos.

Para aumentar o poder de penetração dos compostos fenólicos podem ser formulados em soluções saponáceas, mantém sua atividade na água dura e presença de matéria orgânica. Possuem algum poder residual após secagem (PETERSON et al., 2008). Utilizados em pedilúvios, rodolúvios, pisos de terra

batida e cama, onde há dificuldade de remoção de toda a matéria seca. (GREZZI, 2007)

Desinfetantes fenólicos geralmente são seguros para os humanos, porém a exposição por tempo longo pode causar irritação da pele. Concentrações acima de 2% são tóxicas para todos os animais. (PETERSON et al., 2008)

2.4.4.2 Amônia quaternária

Compostos de amônia quartenária são detergentes catiônicos, os quais são atraídos pelas cargas negativas da superfície celular dos microrganismos, se aderem de maneira irreversível nos fosfolipídios das membranas ocasionando uma desnaturação das proteínas devido ao aumento da permeabilidade.(PETERSON et al., 2008)

Merianos (1991) afirma que os compostos de amônia quaternária à disposição no mercado tem propriedade algostática, bacteriostática, tuberculostática, esporostática e fungiostática em concentrações de 0,5 a 5 ppm, e algicida, bactericida, fungicida, e viricida contra vírus lipofílicos de 10 a 50 ppm. Segundo Demasi, (1991) as Pseudomonas são particularmente resistentes aos compostos quaternários de amônia, que são inativos na presença de matéria orgânica, além da sua conhecida inatividade contra esporos bacterianos, bactérias ácido-resitente e vírus hidrofílicos. Merianos (1991) explica que são bactericidas para bactérias gram-positivas e gram-negativas, com melhor atividade contra bactérias gram-positivas tanto em ambientes ácidos como alcalinos com melhor resposta quando em soluções alcalinas.

Podendo ser de diferentes gerações, de primeira a quarta, esta classe de desinfetantes tem um aumento de sua ação germicida, menor formação de espuma, e maior tolerância a matéria orgânica quanto maior a sua for a sua geração. (PETERSON et al., 2008)

Os compostos de amônia quaternária possuem relativo poder detergente, porém são inativados na presença de outros detergentes ou seus

resíduos. São utilizados comumente na limpeza de incubadoras e bandejas de eclosão de ovos. São considerados seguros se utilizados conforme recomendação, porém os compostos são perigosos se em contato com os olhos e a pele.(UGA, 2005)

2.4.2.3 Biguanidas (Clorexidina)

As biguanidas são prejudiciais aos microrganismos por reagirem com as cargas negativas das membranas celulares alterando sua permeabilidade. (GREZZI, 2007; PETERSON et al. 2008).Quando em baixas concentrações atua como bacteriostático, quando em concentrações altas, como bactericida.

Demasi (1991) relata que a clorexidina é inativa na presença de sangue e outras matérias orgânicas, podendo ser inativada através de reações químicas com os componentes orgânicos, ser absorvida ou dissolvida no material orgânico. A clorexidina possui amplo espectro contra bactérias gram-positivas e bactérias gram-negativas, sendo pouco ativa contra Pseudomonas e Proteus.

De acordo com Peterson et al., (2008) as biguanidas possuem efeito limitado contra vírus e não são esporicidas. Possuem ação somente me pH de 5 a 7 e são facilmente inativadas por detergentes e seus resíduos.

2.4.2.4 Compostos de Cloro

O cloro possui boa ação fungicida, algicida, protozoocida, viricida e bactericida, mas não é tão eficiente contra esporos bacterianos, sua atividade aumenta na presença de água quente ou fervente (MENDES et al., 2004; SPINOSA et al., 2006).

Sua eficácia contra esporos bacterianos é atingida em concentrações acima de 2500ppm, porém, nesta concentração os compostos de cloro são altamente corrosivos (PETERSON et al., 2008).

O cloro em contato com a com a água reage e libera o ácido hipocloroso em sua forma não dissociada, que penetra na célula bacteriana e libera o oxigênio, o qual oxida componentes essenciais do protoplasma bacteriano. O mecanismo de ação mais aceito refere-se à capacidade do cloro de inibir certos sistemas enzimáticos vitais para o metabolismo bacteriano (SPINOSA et al., 2006)

Peterson et al. (2008), relata que o hipoclorito de sódio é utilizado na desinfecção de água e de superfícies. É relativamente pouco irritante e pouco tóxico quando comparado com produtos contendo fenol ou formol, e é de baixo custo. Apresenta como desvantagem o odor forte e característico e ação corrosiva sobre metais.

É bastante instável, pode ser inativado pela luz, por alguns metais e na presença de matéria orgânica. Para o uso na desinfecção é preciso proceder à remoção física da matéria orgânica, e as soluções preparadas devem ser rapidamente utilizadas. Altas concentrações são irritantes para as mucosas, olhos e pele, nunca deve ser misturado com ácidos ou amônia, pois libera gases tóxicos como o gás cloro. (PETERSON et al. 2008)

2.4.2.5 Aldeídos (Formaldeído, glutaraldeído)

Os aldeídos são excelentes desinfetantes, atuando tanto sobre bactérias, vírus e fungos. Em baixas concentrações é bacteriostático e em soluções mais fortes é bactericida, esporicida e fungicida, tem ação contra *Mycobacterium Sp.* e inativa diversos vírus. Não são corrosivos para metais, borracha, plásticos e cimento, porém são tóxicos para humanos e animais, por meio de contato ou inalação. São considerados carcinogênicos(MENDES et al., 2004; GREZZI, 2007; PETERSON; et al., 2008).

O formaldeído é usado na desinfecção e na fumigação de ambientes, superfícies de madeira, tijolos, cimento e aparelhos elétricos. (UGA, 2005) Para uma melhor ação o local de aplicação deve permanecer fechado durante 24 horas. (PETERSON et al.; 2008)

O glutaraldeído além de desinfetante é esterilizante. É menos irritante, corrosivo e volátil, de menor odor desagradável, mais fácil penetração, mais ativo na presença de matéria orgânica e de espectro bactericida mais amplo. (SPINOSA et al.; 2006)

2.4.2.6 Iodados

O iodo e seus derivados são bactericidas, virucidas e fungicidas, sendo também ativos contra *Mycobacterium Sp.*, além de serem efetivos contra esporos bacterianos, quando em exposição prolongada, sendo essa de no mínimo 15 minutos. Podem ser inativados pela luz, alguns metais e matéria orgânica. Na água dura, em uma ampla faixa de pH e em qualquer temperatura da água os iodados não perdem sua ação. (UGA, 2005; SPINOSA et al., 2006).

Em geral, o iodo tem um bom espectro de ação, porém os desinfetantes modernos disponíveis hoje, são muito mais eficazes no controle dos desafios de doença enfrentados pela avicultura. (GREZZI, 2007).

2.4.2.7 Agentes Oxidantes

Os agentes oxidantes como o peróxido de hidrogênio e ácido peracético, possuem amplo espectro, e atuam através da desnaturação de proteínas e lipídios dos microrganismos. São efetivos em superfícies difíceis de desinfetar e também em equipamentos. O ácido peracético é bactericida, viricida, fungicida e esporicida e tem alguma ação em presença de matéria orgânica. (PETERSON et al.; 2008)

De acordo com Sanchéz-Ruiz et al. (1995) uma vantagem do ácido peracético em relação a outros desinfetantes é que não possui efeitos adversos ao meio ambiente, os compostos produzidos em seu uso são facilmente biodegradáveis.

2.5 PRODUTIVIDADE E SANIDADE AVÍCOLA

Uma alta população de bactérias patogênicas nas instalações destinadas a frangos de corte contribui para a diminuição do bem estar do plantel e aumenta os níveis de patógenos presentes nas carcaças. Produtos de origem avícola são comumente associados à transmissão de doenças como salmoneloeses e campilobacterioses, as quais possuem grande impacto econômico na avicultura, ameaçando elevar os custos de produção e processamento dos produtos de origem avícola. (PAYNE et al., 2005).

A intensificação da avicultura associada a condições ambientais e práticas de manejo estressantes, muitas vezes não contempla estratégias eficazes de controle ambiental de agentes patogênicos, sendo responsáveis pelo aumento dos desafios sanitários. (BARRIOS, 2009)

O desafio que os técnicos vêm enfrentando ultimamente diz respeito à produção de frangos sem uso de antibióticos promotores de crescimento, além de alguns anticoccidianos para atender às exigências do mercado europeu, prática esta que tem causado um impacto negativo no desempenho das aves. (LAUANDOS; LIMA, 2007)

Um bom programa sanitário pode beneficiar o crescimento das aves melhorando a eficiência produtiva, e diminuindo a incidência de contaminação dos plantéis. (PAYNE et al., 2005). Dentre as medidas aplicáveis na produção de frangos, a limpeza e desinfecção dos galpões e o vazio sanitário entre lotes mostram-se extremamente eficientes na redução da contaminação ambiental e dos desafios precoces por agentes infecciosos, melhorando o resultado zootécnico dos lotes. (LAUANDOS;LIMA, 2007)

Resultados de experimentos realizados em uma integração de frangos de corte americana demonstram a relação existente entre o período de vazio sanitário entre lotes e alguns índices zootécnicos, onde se observa que quanto maior o intervalo entre lotes, maior o GPD, numa relação entre o período de vazio sanitário em dias e o GPD em libras. (LAUANDOS; LIMA, 2007)

Melhores índices zootécnicos são observados quando se realiza o vazio sanitário de 1 a 7 dias em relação ao de 15 a 21 dias. Em campo, observa-se uma melhoria muito grande de desempenho quando é realizada a limpeza,

desinfecção com formalina 10% e a substituição por cama nova. Em alguns casos, observamos uma melhoria superior a 8 pontos na conversão, quando comparado com a reutilização de cama. (LAUANDOS; LIMA, 2007)

A desinfecção marca o início de uma sequência de atividades técnicas e administrativas cujo objetivo é reduzir o risco do comprometimento da produtividade o que pode ocasionar grandes perdas econômicas ou causar impactos sobre a saúde publica. (RISTOW, 2008) Assim, a limpeza e a desinfecção são atividades sequenciais para o efeito desejável de criar um ambiente com o mínimo de pressão de infecção às aves. (MENDES et. al, 2004).

Um ambiente de baixa higiene é potencialmente contaminado, muitas vezes os animais não têm resistência suficiente, adoecem em maior frequência causando perdas diretas por morte ou indiretas por desuniformidade, perda de peso, gastos com medicamentos, condenações e transmissão de doenças.Aves em ambientes com baixa pressão de desafio, limpos e desinfetados, com boa resistência, nutrição adequada e imunizados com vacinas adequadas, tem melhor desempenho e menor ocorrência de doenças, gerando melhores resultados. (RISTOW, 2008).

2.6 SAÚDE INTESTINAL E DESEMPENHO DE FRANGOS DE CORTE

O sistema gastrointestinal das aves é considerado fundamental para que o lote atinja o desempenho zootécnico desejado, uma vez que é um sistema dinâmico, qualquer alteração do equilíbrio seja por lesões, inflamações ou enfermidades pode resultar no comprometimento das funções secretórias ou absortivas prejudicando ganho de peso e conversão alimentar.(MENDES et al., 2004)

A queda na produtividade de uma ave infectada se deve à necessidade primaria passar a ser combater os agentes patogênicos, e para isso utiliza nutrientes. Depois dessa etapa, quando é necessária a reparação de tecidos considerando que a mucosa intestinal tem crescimento contínuo, a reposição celular é feitas à custa de consumo de nutrientes, os quais são provenientes

das reservas do organismo da ave e da ração ingerida.A ave cede nutrientes essenciais para estes processos em detrimento do crescimento ou ganho de peso (MAIORKA 2004; MENDES et al., 2004).

Em condições fisiológicasnormais, a manutenção do metabolismo da mucosa intestinal tem custo energético elevado para as aves. Quando ocorrem lesões, há redução da quantidade de substrato digerido e absorvido, e ainda o custo energético pararenovação deste tecido. Quando não há lesões o *"turnover*" de células é mais baixo, e os nutrientes poderão ser utilizados para desenvolvimento de outros tecidos como, porexemplo, massa muscular (MAIORKA, 2005).

2.6.1 Clostridioses e enterotoxemias clostridianas

O gênero *Clostridium* é composto por bactérias Gram positivas, anaeróbicas, formadoras de esporos e capazes de produzir toxinas. Grande parte de sua patogenicidade se dá pela produção de toxinas ou ainda pelo desequilíbrio na colonização intestinal. (MENDES et al., 2004; VAN IMMERSEL et al., 2004)

Devido à capacidade de formar esporos são bastante resistentes a agentes físicos e desinfetantes, porém o ácido peracético, glutaraldeído, formaldeído, halogênio iodados e clorinados são efetivos. As bactérias do gênero *Clostridium* podem ser encontradas no trato gastrointestinal das aves que são colonizadas nos primeiros dias de vida e ainda nas instalações. (MENDES et al.,2004).Craven et al.,(2001)isolou *Clostridium perfringens* em amostras de suabe de paredes, ventiladores, botas de trabalhadores, comedouros e bebedouros demonstrando que estes podem também ser fonte de contaminação das aves por clostridioses.

Alguns clostrídios de importância na avicultura são:

- *Clostridium botulinum*: nas aves comerciais o tipo toxigênico C desta bactéria é causador do botulismo, doença em que o animal apresenta paralisia flácida horas depois da ingestão da toxina. (MENDES et al., 2004)

- *Clostridium perfringens*: A enterite necrótica é a principal doença causada por este clostrídio, sua proliferação intensa ocorre após a ocorrência de um fator predisponente (estresse, desequilíbrio na microbiota intestinal, coccidioses), há a produção da toxina alfa que causa necrose na mucosa intestinal. Ainda pode causar a forma subclínica, espessamento e descamação da mucosa, aderência de muco e restos celulares dificultando a absorção dos nutrientes influenciando negativamente a conversão alimentar. Pode ser encontrada hepatite associada a presença de *C. Perfringens*. pode ainda estar associado a onfalites, infecção do saco vitelínico e enterotoxemia em pintainhos.(MENDES et al.,2004)

Outro aspecto importante a respeito dos Clostrídios é a possibilidade de contaminação do homem através da cadeia alimentar. (VAN IMMERSEEL et al., 2004). Sigh et al, (2005) encontrou 70,5% das amostras de carne de frango contaminadas ao coletar no varejo na Índia.

2.6.2 Salmonelose Aviária

Na natureza existem cerca de 2300 espécies de Salmonelas, porém somente a subespécie *Salmonela enterica* possui importância econômica para a avicultura, neste grupo existem 1367 sorovares dos quais 10% são isolados em aves.

As aves podem ser colonizadas por 3 grupos de salmonelas:
- Pulorose e tifo aviário : são doenças causadas por salmonelas específicas para aves e não infectam mamíferos.
- Paratifo: causadas pelas salmonelas chamadas paratifoides, causam doenças clínicas, afetam aves e mamíferos. Ex: *sorovares Enteridis, Tiphymurium, Hildeberg, Hadar, Newport* etc.
- Salmonelas de outros subgêneros: podem ser ambientais, estar acidentalmente no intestino das aves sem causar doenças (MENDES et al.,2004).

A transmissão das salmonelas pode ser vertical ou horizontal. Por via vertical a contaminação de um óvulo ainda no ovário pode ocasionar a contaminação do lote pela aquisição de pintos contaminados. Já a transmissão

horizontal pode ocorrer através do contato entre aves, com ambientes e utensílios contaminados, através do consumo de alimento contaminado, fezes de animais infectados, roedores e insetos atuando como reservatórios. (Silva; Duarte, 2002; Cardoso e Tessari 2008)

A contaminação de aves sadias através do contato com ambiente contaminado pode ser evitada, através de procedimentos de limpeza e desinfecção, a sensibilidade deste gênero de bactérias se dá a limpeza seguida pela desinfecção com formaldeído(Wales et al, 2005.). A maioria dos desinfetantes é bastante eficiente contra as salmonelas, porém a presença de matéria orgânica pode reduzir bastante a eficácia dos desinfetantes. (MENDES et al., 2004).

As *Salmonelas Spp*. podem causar diarreia, aumento na mortalidade e desuniformidades dos lotes de frango de corte, queda no desempenho, refugamento de animais jovens desencadeando queda na produtividade. Outra consequência da presença de salmonelas é a possibilidade de contaminação das carcaças e a transmissão para humanos através do consumo de carnes mal cozidas.

Kottwitz et al. (2010) realizou um estudo epidemiológico a respeito de surtos de salmoneloses de 1999 a 2008 no Paraná, e encontrou a incidência de 34,8% dos 286 surtos, relacionados ao consumo de carnes (frango, bovina e suína).

A contaminação das carcaças de frango pode ocorrer durante o processo de criação das aves bem como durante seu abate e processamento, um pequeno número de carcaças contaminadas pode disseminar a bactéria por toda a linha de abate. Enquanto no passado o objetivo da prevenção as salmonelas era evitar a queda de desempenho dos animais ocasionado pela doença clínica, na atualidade a preocupação com a segurança alimentar vem ganhando maior atenção e consequentemente a prevenção à contaminação humana transformou-se em uma prioridade. (CARDOSO e TESSARI 2008)

Para evitar a ocorrência de salmoneloses em humanos é necessário que as ações comecem desde o galpão até a mesa do consumidor. Na granja a água e a ração ofertadas devem ser livres de contaminação por salmonelas, o correto descarte de aves mortas deve ser feito, evitar o transporte da bactéria através de roupas, calçados e objetos utilizados no manejo, bem como evitar a

contaminação dos animais pelo contato com cama contaminada. (CHRISTENSEN et al.,1994; KABIR,2010)

2.6.3 Escherichia Coli

As bactérias *Escherichia Coli* fazem parte da microbiota normalmente encontrada no intestino das aves, podem ainda ser isoladas no trato respiratório superior, na pele e penas. Poucas horas após a eclosão as aves começam a desenvolver sua flora intestinal, que é composta de diversos tipos de bactérias E. Coli, sendo que estas são adquiridas através do contato com as instalações, outras aves, fezes, água e alimentos. (KABIR, 2010)

Raramente estão relacionadas a um quadro entérico quando não associada a fatores de desequilíbrio da flora bacteriana. As bactérias *E. Coli* podem ser consideradas um risco a contaminação das carcaças para consumo humano, porque aves são reservatórios para espécies patogênicas de *E. Coli* como as do sorotipo O. (MENDES et al., 2004)

A infecção precoce das aves por E. Coli pode causar desequilíbrio da microbiota intestinal reduzindo absorção dos nutrientes, e consequentemente o desempenho será prejudicado. Algumas variedades enterotoxigênicas podem causar diarreia em animais jovens. (MENDES et al., 2004)

2.7 IMPORTÂNCIA DO SISTEMA RESPIRATÓRIO NA PRODUTIVIDADE AVÍCOLA

A produção intensiva no setor avícola cria condições que permitem a ocorrência e a disseminação de doenças infecciosas no trato respiratório. Uma redução na qualidade do ar respirado pelas aves proporciona um ambiente propício à proliferação de agentes infecciosos (MINHARRO et al., 2001).

Minharro et al.,(2001), demostraram um aumento no índice de condenações de carcaças relacionados a doenças respiratórias, onde os sinais

são comprometimento de sacos aéreos e pulmões. O MAPA, (1998) recomenda a condenação parcial ou total de carcaças com estes sinais dependendo da área atingida.

Além das perdas por condenação, pode-se observar uma queda no desempenho zootécnico das aves, diminuição do ganho de peso, custo do tratamento, efeitos na conversão alimentar e a mortalidade influenciam o impacto econômico das infecções respiratórias e, consequentemente, o custo de produção de frangos de corte. (MENDES; PATRÍCIO, 2004).

2.7.1 Colibacilose e aerosaculites

A colibacilose é uma doença que acomete as aves e é causada pela bactéria *Escherichia Coli*, causa alta mortalidade e morbidade, é causa primária ou secundária de grandes perdas econômicas na indústria avícola. Manifestações desta doença podem ser: infecção do saco vitelino, onfalites, septicemia, coligranuloma, doença respiratória crônica, celulite aviária, síndrome da cabeça inchada, peritonite e salpingite. Nos casos de colibacilose aguda as aves apresentam septicemia evoluindo para o óbito, nos casos sub agudos, aerosaculites, pericardites e peri-hepatites. (CALNEK et al, 1997)

A transmissão da colibacilose pode ocorrer de maneira horizontal, através do ambiente, ou vertical, a infecção ocorre ainda na formação do óvulo no ovário ou oviduto antes mesmo da casca ser formada. (KABIR, 2010)

A aspiração de poeira contaminada com fezes de animais pode carrear bactérias para os sacos aéreos das aves causando aerosaculites. Estas lesões estão relacionadas a micosplasmoses e colibaciloses, podendo estar presente em outras doenças respiratórias de aves. A *E.coli* pode ser considerada um dos principais agentes bacterianos da aerossaculite e de quadros septicêmicos nas aves (MINHARRO et al., 2001).

A incidência de colibacilose é influenciada pela pressão de infecção do ambiente e alta densidade de aves, a limpeza e desinfecção e uma correta densidade são fundamentais na prevenção desta doença. (KABIR, 2010)

As aerosaculites causam diminuição do peso ao abate, o menor tamanho das aves facilita o erro na operação levando a cortes nos órgãos internos e consequentemente aumentando a chance de contaminação do produto final por agentes patogênicos como *E. Coli e Campylobacter*(RUSSEL, 2003)

Aves com colibacilose aviária apresentam septicemia, caracterizada por aerossaculite, pericardite, perihepatite e salpingite ocasionando grandes perdas por condenação durante o abate. Minharro, et al, (2001)em um estudo em abatedouros de aves no estado de Goiás isolaram agentes de lesões características de aerosaculites e encontrou como principal agente *E. Coli*.

A maioria das cepas de E. Coli que causam doenças em aves não são patogênicas para o homem (MENÃO, et al 2002) porém em alguns casos, como o de Vieira, (2010) que encontrou cepas patogênicas de *E. Coli* em vísceras de frango que apresentavam celulite sem apresentar sinais sistêmicos de infecção, fato que representa risco a saúde pública, pois o MAPA, (1998) recomenda apenas o descarte de carcaças onde haja sinais sistêmicos de infecções.

2.7.2 Aspergillus e suas implicações na avicultura

Aspergilose é uma doença comum na avicultura, causada por fungos do gênero *Aspergillus* que podem ser encontrados no solo, água, ar, plantas e animais. A infecção ser dá pela inalação dos esporos a principal enfermidade causada por fungos nas aves, possui várias formas de apresentação clínica, mas a principal é a forma respiratória afetandoprincipalmente os pulmões e sacosaéreos. (ANDREATTI FILHO, 2000; MENDES et al., 2004).

A poeira é um agente com capacidade de disseminar vários contaminantes encontrados em um galpão de frangos, ela pode carrear juntamente com matéria orgânica fungos, bactérias vírus e esporos fúngicos. Outro fator que auxilia na disseminação dos esporos é a resistência dos esporos as condições ambientais adversas. A facilidade de encontrar estes esporos na cama e na ração quando em condições de má estocagem, aliada

as condições de temperatura e umidade adequadas favorece o desenvolvimento dos fungos (MENDES et al., 2004).

A aspergilose pulmonar é a forma mais comum da doença, podendo desencadear ascite, já que as lesões pulmonares causam hipertensão pulmonar, falha no ventrículo e consequentemente ascite.As aves acometidas pela aspergilose tem diminuição de consumo, desidratação, penas arrepiadas e elevada mortalidade, causando uma redução no desempenho final dos lotes. (MENDES et al., 2004)

A aspergilose pode apresentar a forma aguda e crônica. A forma aguda é caracterizada por surtos de mortalidade e morbidade, principalmente, em aves jovens que apresentam maior susceptibilidade nas duas primeiras semanas de idade, ganhando resistência à infecção na idade adulta. A forma crônica acomete as aves mais velhas (RICHARD, 1997).

Não é possível tratar os animais afetados por aspergilose, o que se pode fazer é a prevenção através da limpeza e desinfecção na troca de lotes com desinfetantes eficazes como amônia quarternária, glutaraldeído, iodo e formalina. É importante ainda fazer um rodízio entre eles para aumentar sua eficácia. (MENDES et al., 2004)

Além da aspergilose, pode-se relacionar as micotoxicoses aos *Aspergillus*, é uma doença causada pela ingestão de micotoxinas que são metabólitos secundários produzidos pelos fungos. (KOBASHIGAWA, 2010) *Aspergillus* produzem um tipo de micotoxinas chamada Aflatoxina.

A micotoxinas podem causar esteatose hepática, cirrose, diarreia, incoordenação motora, convulsões, tumores, distúrbios renais e queda de desempenho. (MENDES et al ., 2004;KOBASHIGAWA, 2010).

As micotoxinas são bastante encontradas em grãos e cereais, devido à facilidade de contaminação desses alimentos, porém nem todos os fungos que crescem nas plantas necessariamente produzirão micotoxinas, portanto a detecção do fungo não significa obrigatoriamente a presença destas mas, altas taxas de contaminação por estas micotoxinas foram relatadas mundialmente em grãos de cereais e rações animais. (SEKIYAMA et al., 2007)

A forma de prevenir a presença de micotoxinas nos grãos é evitar o desenvolvimento fúngico, porém diversas vezes o grão já está contaminado. Alternativas químicas, físicas e microbiológicas podem ser lançadas a fim de

evitar micotoxicoses nas aves. (SEKIYAMA et al., 2007; COLVERO, 2008;KOBASHIGAWA, 2010).

O tratamento das micotoxicoses consiste em retirar as aves do contato com alimento contaminado e tratamento sintomático(CALNEK et al., 1995), desta maneira se a quantidade de ração contaminada for grande, também será alto o prejuízo ao produtor, por isso praticas de armazenagem adequada dos grãos e ração devem ser adotadas bem como a limpeza e desinfecção do silo a cada troca de lote para evitar condições ideais para o desenvolvimento fúngico (MENDES et al., 2004)

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVOS GERAIS

Verificar a influência de programas de limpeza e desinfecção na produção de frangos de corte de 1 a 42 dias de idade.

Avaliar a microbiota das instalações e equipamentos e sua influência no desempenho de frangos de corte de 1 a 42 dias de idade.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

A- Verificar a influência de programas de limpeza e desinfecção desempenho produtivo de frangos de corte.

B- Avaliar a influência de programas de limpeza e desinfecção na microbiologia de instalações e utensílios utilizados na criação de frangos de corte.

C- Determinar e quantificar bactérias dos gêneros *Clostridium Spp*. e *E.Coli* presentes nas instalações de frangos de corte.

D- Identificar a ocorrência de fungos *Aspergillus Spp*. potencialmente toxigênicos presentes nas instalações e utensílios utilizados na criação de frangos de corte.

E- Verificar a eficiência do método da Bioluminescência por quantificação de ATP na avaliação dos programas de limpeza e desinfecção.

4 HIPÓTESE

O presente estudo tem como hipótese que a aplicação do programa de limpeza e desinfecção europeu antes do alojamento dos animais, aliado a medidas de biosseguridade durante a criação das aves influencia positivamente o desempenho de frangos de corte.

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 INSTALAÇÕES, EQUIPAMENTOS E ANIMAIS

Os experimentos foram conduzidos no aviário experimental do Departamento de Nutrição e Produção Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, Campus Pirassununga, estado de São Paulo.

Foram realizados dois experimentos, em cada um foram alojados 960 pintos de corte de um dia de idade criados até os 42 dias de idade.Em ambos os experimentos as aves foram pesadas, uniformizadas e distribuídas, aleatoriamente, em um galpão de alvenaria, divididos em 32 boxes (1,70m x 2,50m)contendo 30 aves. A média do peso inicial dos pintainhos de um dia foi de no primeiro experimento foi de 45,22g e no segundo 47,34g.

No primeiro experimento o piso foi forrado com cama de maravalha nova. No segundo a cama de maravalha era reutilizada (2º uso), proveniente do primeiro experimento.

Cada boxe foi provido de comedouro tubular, bebedouro infantil até os 7 dias de idade, posteriormente substituído por bebedouro pendular. (Figura 2)

Figura 2 - Box para criação dos frangos antes do alojamento das aves, comedouro e bebedouro infantis, campânula para aquecimento com lâmpada de infravermelho.

Fonte: Acervo pessoal.

As aves foram alojadas após a realização dos procedimentos de limpeza e desinfecção das instalações, dos utensílios utilizados no galpão e da preparação do galpão para o recebimento dos animais.

A dieta ofertada foi a base de milho e farelo de soja sendo igual para todos os boxes em ambos os experimentos, atendendo as exigências propostas por Rostagno, (2005). (Tabela 1) As rações foram formuladas a partir do programa computacional SuperCrac 5.7 Master para cada fase 1 a 7, 8 a 21, 22 a 35 e 36 a 42 dias de idade.

Tabela 1 - Composição percentual e valores nutricionais calculados das rações para as diferentes fases

Ingredientes %	**1-7 dias**	**8-21 dias**	**22-35 dias**	**36-42 dias**
Milho Grão	55,17	58,32	62,80	66,36
Soja Farelo 45%	34,74	34,24	29,51	26,52
Óleo de soja	5,00	2,88	3,000	3,3
Calcário	1,78	0,83	0,79	0,75
Fosfato Bicalcico	1,78	1,82	1,68	1,52
Sal Comum	0,42	0,45	0,43	0,40
Metionina líquida	0,31	0,64	0,94	0,32
L-Lisina HCl	0,24	0,26	0,28	0,31
*Suplemento Vit. Min.	0,50	0,50	0,50	0,50
Coxisdiostático	0,050	0,050	0,050	0
Composição calculada				
Energia Metabolizável (Mcal/kg)	3,15	3,05	3,15	3,20
Proteína Bruta %	21,00	21,3	19,73	18,31
Met+Cis Digestível%	0,84	1,14	1,3	0,80
Lisina Digestível %	1,18	1,18	1,1	1,05
Cálcio %	1,15	0,90	0,84	0,77
Fosforo Disponível %	0,44	0,45	0,42	0,38

*Composição Suplemento Vit. Min: Ac. Fólico 300mg/kg, Ac. Pantotenico 2400mg/kg, Biotina 16mg/kg, Niacina 6000mg/kg, Colina 64g/kg, Vit A 1600000UI/kg, Vit D3 400000UI/kg, Vit. E 3600UI/kg Vit. K3 500mg/kg, Vit.B1 100mg/kg, Vit B2 1000 mg/kg, Vit B6 500 mg/kg, Vit B12 2400 mcg/kg, Ferro 10 g/kg, Cobre 22 g/kg, Manganês 14 g/kg, Zinco 12 g/kg, Iodo 200 mg/kg, Selênio 70 mg/kg, Metionina 420 g/kg, Salinomicina 13,20g/kg, Clorohidroxiquinolona 6000 mg/kg

5.2 TRATAMENTOS - SISTEMAS DE LIMPEZA E DESINFECÇÃO E TIPO DE CAMA

No primeiro alojamento, foi realizado nos 16 boxes a limpeza e desinfecção simples, com retirada da matéria orgânica, remoção úmida da matéria orgânica e lavagem da instalação. Os equipamentos e objetos de uso no galpão passaram pelo mesmo esquema de limpeza e desinfecção, chamado tratamento comum.(Figuras3 e 4)

Figura 3 - Lavagem do galpão com água sob baixa pressão, Tratamento Comum.

Fonte: acervo pessoal

Figura 4 - Galpão e utensílios após a limpeza e desinfecção do tratamento Comum.

Fonte: Acervo pessoal.

Nos outros 16 boxes do galpão foram realizados os seguintes procedimentos de limpeza:

- Remoção seca da matéria orgânica: varredura dos boxes e corredor;

-Umidificação do ambiente com água sob baixa pressão;

- Lavagem com água sob pressão com máquina WAP® Term 1200 150-180 bar de pressão;

- Aplicação do detergente alcalino diluído em água na concentração de 4%, aplicado à baixa pressão 20 a 30 minutos de ação;

- Enxague das instalações com água sob pressão WAP Term 1200 150-180bar;

- Secagem do ambiente.

Os procedimentos de desinfecção adotados foram:

- Aplicação do desinfetante composto de glutaraldeído 250g/L e formaldeído 185g/L na concentração 0,5% com bomba costal;

-Aplicação do desinfetante composto de paraclorometacresol 210 g/L na concentração 4%, apenas no piso e paredes até 0,5m de altura.

As concentrações e tempos de ação adotados seguiram as orientações do fabricante.

Todos os objetos e equipamentos utilizados no galpão foram submetidos a mesma sequência de limpeza e desinfecção (bebedouros, comedouros, campânulas, lâmpadas, botas, pás, caixas de transporte, baldes etc.)(Figuras 3, 4,5, 6 e 7)

A caixa d’agua sofreu processo de limpeza com remoção da água, escovação das paredes e enxague. Posteriormente foi feito o processo de desinfecção com ácido peracético 100g / kg e Benzil-(C12-C16) cloro-alkyl dimetilamonio 80g/ kg na concentração 0.5%, o produto permaneceu durante 12 horas na caixa d’água e posteriormente foi escoado pelo sistema de encanamento, através dos gatilhos dos bebedouros, da parte do galpão destinada ao tratamento Europeu. Este procedimento foi realizado antes do início dos dois experimentos.

Figura 5 - Bebedouros infantis imersos em solução de detergente para posterior enxague tratamento europeu

Fonte: acervo pessoal

Figura 6 - Lavagem do galpão com água sob pressão, tratamentoEuropeu.

Fonte: Acervo Pessoal

Figura 7 - Aplicação de solução desinfetante no galpão e demais utensílios do tratamento europeu

Fonte Acervo pessoal.

No segundo experimento os procedimentos de limpeza e desinfecção foram idênticos ao primeiro

A cama utilizada no segundo experimento foi de maravalha de madeira reutilizada proveniente do primeiro experimento.

5.3MANEJO DIÁRIO

Antes da entrada no galpão as pessoas participantes do manejo diário retiravam seus calçados e calçavam botas específicas para a entrada no galpão. Ao acessarem o lado do galpão correspondendo aos boxes com cada um dos tratamentos deveriam calçar botas exclusivas para cada um dos lados.

Ao entrar em cada um dos lados do galpão correspondente ao Tratamento Europeu e Tratamento Comum, realizava-se pedilúvio nas botas em solução com detergente alcalino 4% e posteriormente em solução desinfetante composto de glutaraldeído 250g/L e formaldeído 185g/L na concentração 0,5%. (Figura 8)

Figura 8 - Calçados exclusivos e pedilúvio na entrada do galpão.

Fonte: Acervo pessoal.

Os 16 boxes de cada tratamento eram independentes, possuindo paredes e portas de isolamento, separando os dois lados havia uma sala utilizada para troca de botas.

A sala intermediária foi lavada diariamente com água sob pressão e posteriormente foi realizada a desinfecção com desinfetante composto de glutaraldeído 250g/L e formaldeído 185g/L na concentração 0,5% aplicado com bomba costal no piso e paredes da sala. As botas ao final do manejo diário eram lavadas e desinfetadas seguindo os mesmos princípios

Diariamente foi realizada a limpeza dos bebedouros de cada um dos boxes. Os bebedouros do tratamento comum eram limpos com bucha para remoção da matéria orgânica acumulada e água corrente. Já os bebedouros submetidos ao tratamento europeu eram limpos com bucha e solução de ácido peracético 100g/kg e Benzil-(C12-C16) cloro-alquil dimetilamonio 80g/kg a 0,5% e enxaguados com água.

5.2 Dados de desempenho

Todas as aves dos boxes dos dois experimentos foram pesadas no início e no final de cada período (1 a 7, 8 a 21, 22 a 35 e 36 a 42). Os dados de desempenho obtidos das aves foram peso médio, calculado a partir do peso total divido pela quantidade de ave presente no box; ganho de peso médio obtido pela subtração dos pesos final e inicial do período; consumo de ração no período sendo este o total de ração fornecida menos o peso da sobra de ração; conversão alimentar do período, para este cálculo dividiu-se o total de ração consumida pelo ganho de peso total pelo número de aves, sendo que foi somado o peso das aves mortas e, por fim, a mortalidade que foi anotada e contabilizada pelo período.

5.3 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

As análises microbiológicas de contagem total de microrganismos foram realizadas concomitantemente ao período experimental, exceto análises de cama e ração que foram feitas ao término do período. As análises foram realizadas no Laboratório de Higiene Zootécnica da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo em Pirassununga, São Paulo.

5.5.1 Coleta de Amostras para análises microbiológicas.

As amostras para análise microbiológica foram coletadas antes e depois da limpeza e desinfecção, nos 7º, 14º, 28º e 41º dias do período experimental.

Os locais analisados para a microbiologia foram piso, parede, comedouros, bebedouros e cortinas. Para piso, parede, comedouro e

bebedouro.Foram coletadas 3 amostras por tratamento, e das cortinas 2 amostras por tratamento. De acordo com metodologia proposta por Evancho et al. (2001), a coleta feita com suabe foi feita em uma área de 50 cm² das superfícies analisadas.(Figuras 9 e 10)

Figura 9 - Coleta de suabe de paredes.

Fonte: Acervo pessoal.

Figura 10 - Coleta de suabe de cortinas.

Fonte: acervo pessoal

De acordo com Evancho et al. (2001) a técnica para coleta suabe consiste na abertura cuidadosa da embalagem, sem tocar a porção a ser

encostada na superfície a ser analisada. Retirar o suabe da embalagem, mergulhar em solução estéril em tubo de ensaio, pressionar o mesmo contra a parede do tubo para retirar o excesso de solução e esfregar na superfície. Devolver o suabe ao tubo de ensaio em contato com a solução estéril.

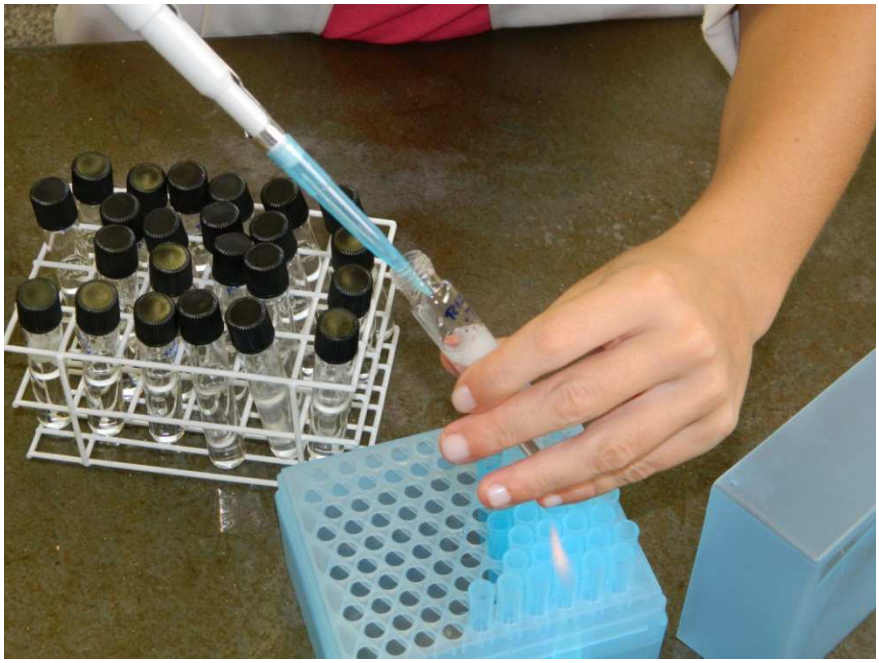
Após a coleta os tubos foram acondicionados em caixas isotérmicas contendo gelo reciclável até a chegada ao laboratório para armazenamento em geladeira. As análises foram realizadas no dia seguinte as coletas.

Para análise de cama e ração foram coletadas amostras compostas, três amostras por tratamento com aproximadamente 200g em cada amostra, posteriormente congeladas e armazenadas em freezer a -17°C.

5.6 CONTAGEM TOTAL DE MICRORGANISMOS

Para a análise quantitativa foi utilizada a técnica *Plate Count* com semeadura em superfíciedescrita por Evancho et al.,(2001). Foi retirado 1ml de solução dos tubos onde foram acondicionados os suabes e colocado em um tubo contendo 9ml de água peptonada 0,5% sendo esta a diluição 10^{-1}, foram feitas diluições seriadas até 10^{-3}.(Figura 11)

Figura 11 - Diluição seriada das amostras de suabe coletadas.



Fonte: Acervo pessoal

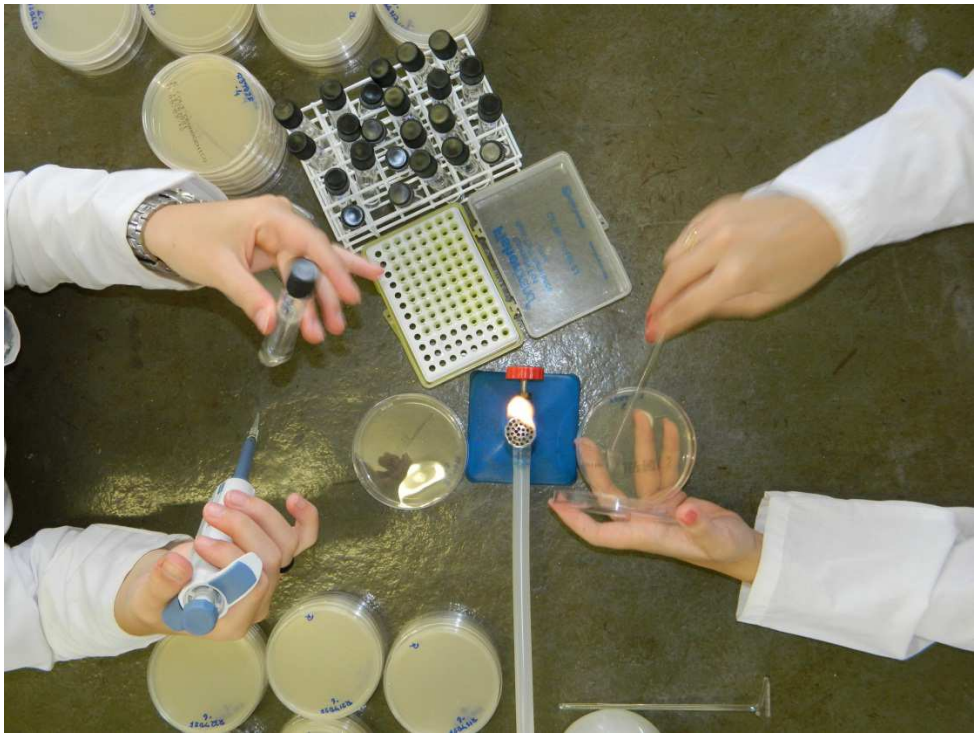
Para as amostras de cama e ração foi pesado 10g da amostra e colocado em Erlenmeyer contendo 90ml de água peptonada 0,5% estéril e posteriormente homogeneizado correspondendo a diluição 10^{-1}, foram feitas diluições seriadas até 10^{-7}. (Figura 12)

Figura 12 - Análise microbiológica da cama, homogenização com água peptonada para posterior diluição.

Fonte: Acervo pessoal.

Para semeadura foi distribuído homogeneamente com alça de Drigalsky 0,1ml das diluições 10^{-2} e 10^{-3} para as amostras de suabes e 10^{-6} e 10^{-7} para as amostras de cama e ração, depositado em placas contendo 15ml de *ágar count plate* previamente solidificado e distribuído.(Figura 13)

Figura 13 - Semeadura das amostras em placas de Petri, espalhamento com alça de Drigalsky.



Fonte: Acervo Pessoal.

Desta maneira cada placa expressa o equivalente a 1g de amostra ou cada 1ml corresponde a 50cm2 de área de contato dos suabe. As placas foram deixadas em estufa a 37ºC por 48h para posterior contagem de colônias expressas em UFC/g ou UFC/cm² (Evancho et al., 2001)

5.7Avaliação para presença de E. Coli nas amostras

Para avaliação da presença de unidades formadoras de colônias de bactérias *E.coli* por grama de cama e ração (UFC/g) foi utilizada a seguinte técnica: Suspensão de 10 g de cama em 90 mL de água peptonada e homogenização. Diluição seriada da suspensão até 10-7 e distribuição homogênea com alça de Drigalsky de 100 uL das diluições 10-6 a 10--7 na superfícies do meio cromatogênico Ecoli Cromogênico (Laborclin ®) conforme descrito por Pleydell et al., (2007).

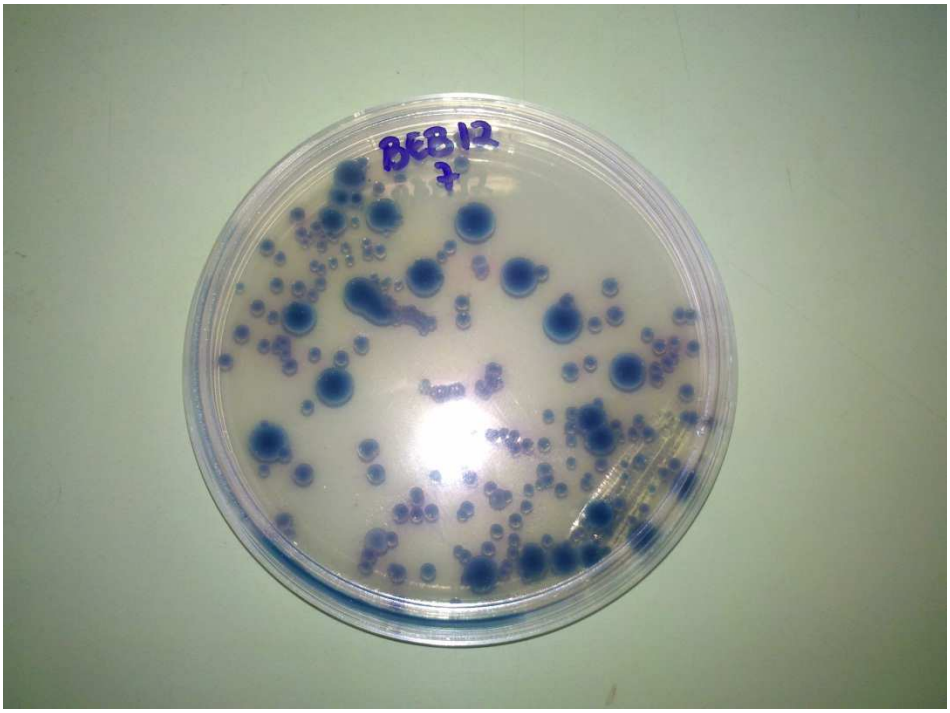
A amostragem das superfícies foi realizada através da técnica de esfregaço em superfície, utilizando-se suabes estéreis embebidos em água

peptonada estéril, foi amostrada uma superfície de 50cm², para cada local coletado(piso, parede, bebedouro, comedouros) foram utilizadas três repetições por tratamento, para as cortinas duas repetições por tratamento.

Após esse procedimento, os suabesforam acondicionados em tubos de ensaio contendo 10mL de água peptonada 0,5%, os tubos foram colocados em caixas isotérmicas com gelo reciclável e imediatamente transportadas ao laboratório. No dia seguinteforam feitas as diluições seriadas de 10-1 a 10-3 e o posteriormente a distribuição homogênea com alça de Drigalsky de 100 uL das diluições 10-2 e 10-3,(EVANCHO et al., 2001; PLAYDELL et al., 2007).

Após a inoculação as placas de petri foram cultivadas a 37ºC por 48h,foi feita a contagem de colônias típicas que possuem coloração azul neste meio. (Figura 14)

Figura 14 - Placas contendo meio E.Coli Cromatogênico, colônias azuis típicas de E.Coli.



Fonte: Acervo pessoal.

O meio CHROMagar ECC possui 97% de sensibilidade para a detecção de bactérias do gênero E.Coli.(Ogden et al. 1991).

5.8 AVALIAÇÃO DA PRESENÇA DE *SALMONELLA SPP* NAS AMOSTRAS

Para avaliação da presença de unidades formadoras de colônias de bactérias do gênero *Salmonella Spp*. por grama de cama e ração (UFC/g) foi utilizada a seguinte técnica:Homogeneização de 90mL de água peptonada tamponada 0,5% e 10g de cada amostra. A incubação por 18-20h foi feita como pré enriquecimento. Após este período, alíquotas 1 ml de cada uma das amostrasfoi transferida para 10mL de Caldo Tetrationato Verde Brilhante como enriquecimento seletivo e foi incubado a 42°C por 24h. Após a incubação foi feita a semeadura direta com a distribuição homogênea com alça de Drigalsky de 100 uL das diluições nas placas contendo CRHOMagar Salmonella(BBL™ CHROMagar™ Salmonella).

Os “suabes” com as amostras coletadas das superfícies e equipamentos destinados à detecção de Salmonella foram incubados em água peptonada tamponada 0,5% a 37ºC por 18h-20h como pré-enriquecimento; após este período, alíquotas de 1mL foram transferidas para caldo Tetrationato Verde Brilhante e foram incubados a 42°C por 24hcomo enriquecimento seletivo.

Após a incubação foi feita a semeadura direta nas placas com a distribuição homogenea com alça de Drigalsky de 100 uL das diluições contendo CRHOMagar Salmonella(BBL™ CHROMagar™ Salmonella). A contagem de colônias foi feita através de UFC/cm². Metodologia adaptada de Camacho et al., 2008; Payne et al., 2005 e Chander et al., 2005.

O meio CRHOMagar Salmonella possui 100% de sensibilidade e 89% de especificidade para Salmonella(BBL™ CHROMagar™ Salmonella)., por isto seguindo a metodologia citada por Payne et al., 2005 , as colônias suspeitas foram submetidas a análise bioquímica por inoculação em ágar TSI (Triple sugar iron) e ágar Lisina Ferro (Difco. Division of Becton Dickinson and Co., Sparks, MD.) para confirmação da suspeita.

5.9 AVALIAÇÃO DA PRESENÇA DE *CLOSTRIDIUM SPP*.

Para a contagem e identificação das bactérias do gênero *Clostridium* foram pesadas, 10g de cama ou ração e homogeneizadas (três amostras por tratamento) juntamente com 90 mL de citrato de sódio, a 2%, obtendo-se assim a diluição de 10-1. A partir da diluição 10-1, foram realizadas diluições decimais seriadas sucessivas em tubos contendo 9,0 mL de citrato de sódio, a 2%, até a diluição de 10-7. Foi feitaa distribuição homogenea com alça de Drigalsky de 100 uL das diluições 10-6 e 10-7 em placas de Petri contendo 20 mL ágar RCM (Reinforced Clostridial Medium Oxoid®).

Para a avaliação das amostras coletadas por suabe, os mesmos foram adicionados a tubos contendo 10mL de citrato de sódio a 2%, foram feitas as diluições sucessivas até 10-3.Foi feita distribuição homogênea com alça de Drigalsky de 100 uL das diluições 10-2 e 10-3 nas placas de Petri contendo ágar RCM.

As placas foram acondicionadas em jarra de anaerobiose e incubadas a 37°C, durante 96 horas. Após este período, foi feita a contagem, expressando os resultados em unidades formadores de colônia – UFC/g para as amostras de cama e ração e UFC/cm² para as amostras coletadas por suabe, (Figura 15)metodologia adaptada de Mesquita, et al. 2001

5.10. AVALIAÇÃO DA PRESENÇA DE *ASPERGILLUS SPP*

Para identificação dos fungos do gênero Aspergillus Spp. foram pesadas10g de cama ou ração (três amostras por tratamento) e homogeneizadas juntamente com 90 mL de água peptonada 0,5% obtendo-se a diluição 10-1. Foram feitas as diluições seriadas até 10-7.

Foi feita a distribuição homogênea com alça de Drigalsky de 100 uL das diluições 10-6 e 10-7 em placas de Petri contendo cerca de 15 mL de ágar AFPA (Aspergillus Flavus and Parasiticus Agar SigmaAldrich®) fundido e

resfriado. Após a semeadura, as placas foram incubadas à temperatura ambiente durante cinco dias. (SANTOS et al., 2008)

Figura 15 - Placa de Petri contendo meio RCA, contagem de colônias de Clostridium.

Fonte: Acervo pessoal.

A coleta de amostras das superfícies foi realizada através da técnica de esfregaço utilizando “suabes” estéreis embebidos em água peptonada 0,5% estéril, foi amostrada uma superfície de 50 cm². Após esse procedimento, os “suabes” foram acondicionados em tubos de ensaio contendo 10mL de água peptonada 0,5% e imediatamente transportados ao laboratório para posterior diluição e incubação em placas de Petri. Foram feitas as diluições sucessivas até 10-3 e foi feita a distribuição homogênea com alça de Drigalsky de 100 uL das diluições das diluições 10-2 e 10-3 em placas de petri contendo cerca de 15 mL de ágar AFPA (Aspergillus Flavus and Parasiticus Agar SigmaAldrich®) .

As colônias de *Aspergillus spp*. Apresentam a superfície é branca e com o tempo fica amarelada, verde, castanha ou preta, dependendo da espécie. A textura é aveludada. O reverso é branco, dourado ou castanho. Microscopicamente as hifas são septadas (2.5 - 8.0 µm de diâmetro) e contêm as cabeças aspergilares que são as vesículas na extremidade dos conidióforos que dão origem aos esporos externos alongados (fiálides), que por sua vez dão origem aos conídios. Para a visualização destas estruturas as colônias

foramrepicadas em ágar Batata Dextrose e cultivadas, as colônias forma colocadas entre lâmina e lamínula e coradas com azul de metileno (INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DO SUL,2009).

5.11 AVALIAÇÃO QUANTITATIVA TRIFOSFATO DE ADENOSINA (ATP) COM LUMINÔMETRO

A molécula de ATP é encontrada em todas as células de animais, plantas, bactérias, leveduras e fungos. Resíduos encontrados em galpões de frango são ricos em ATP, principalmente pela presença de matéria orgânica e microorganismos. Após procedimentos de limpeza e desinfecção as fontes de ATP devem ser reduzidas.

Seguindo a metodologia do fabricante (Hygiena International®) a coleta para esta análise foi realizada com "suabes" específicos fornecidos pelo fabricante (Ultrasnap ATP Hygiena ®). Foram coletadas amostras de 50cm² três amostras para comedouros, bebedouros, piso e parede, duas amostras para cortinas por tratamento.Para coleta esfregou-se a superfície a ser analisada com a ponta do suabe, assepticamente e recolocados no tubo para posterior análise com o luminômetro. No momento da leitura, o reservatório do reagente foi quebrado para mistura com a amostra, agitado levemente durante 5-10 segundos e colocado no leitor. O reagente composto de luciferina/luciferase ao entrar em contato com a amostra emite luz em proporção direta a quantidade de ATP presente e o leitor mede a quantidade de luz gerada fornecendo informações sobre o nível de contaminação da amostra. A unidade de medida fornecida pelo aparelho é RLU (unidades relativas de luz). (Figura 16)

Figura 16 -Análise de bioluminescência, aparelho luminômetro para análise dos "suabes" específicos.

Fonte: Acervo pessoal

5.12 ANÁLISES DE ÁGUA

Para a dessedentação de animais, a legislação brasileira estabelece parâmetros e níveis através da RESOLUÇÃO CONAMA Nº. 396, de 03 de Abril de 2008, o Ministério da Agricultura e Abastecimento, através do Anexo II do Oficio Circular Conjunto DFIP – DSA nº 1 / 2008, de 16/09/ 2008, estabeleceu os parâmetros de qualidade de água a serem monitorados para as aves de produção. (SOARES, 2010).

Para as análises de água forma coletadas duas amostras por tratamento amostras antes da limpeza e desinfecção das instalações, depois, aos 7, 14, 28 e 42 dias de criação. As amostras foram coletadas dos gatilhos dos bebedouros (antes e depois da limpeza e desinfecção) e diretamente dos bebedouros pendulares em coletores universais estéreis identificados, refrigerados e encaminhados em caixas isotérmicas para o laboratório. As análises microbiológicas da água foram realizadas por laboratório terceirizado Bioquimis – Analises químicas e biológicas – Campinas, São Paulo, com base nos parâmetros fornecidos pela legislação vigente. Foram analisadas contagem padrão de bactérias heterotróficas, coliformes totais e coliformes termotolerantes/*E. Coli* seguindo a metodologia de Standard Methods for Examination of Water and Wastewater(EATON et al., 2005)

5.13 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

5.13.1 Dados de desempenho

Os resultados foram analisados através do programa computacional Statistical Analysis System (SAS, 1998), sendo anteriormente verificada a normalidade dos resíduos estudentizados pelo Teste de Shapiro-Wilk (PROC GLM) e as variâncias comparadas pelo Teste de Hartley. Os dados (variável dependente) que não atenderam a estas premissas serão submetidos à transformação de dados.

Os dados originais ou transformados, quando este último procedimento foi necessário, foram submetidos à análise de variância para verificar se houve efeito de tratamento, utilizando-se o procedimento General Linear Model (PROC GLM do SAS). Como foram utilizados apenas 2 tratamentos em cada experimento, as médias foram comparadas pelo teste F.Foi utilizado o nível de significância de 5% para todos os testes a serem realizados.

5.13.2 Dados de Microbiologia

Como a natureza dos dados obtidos com a análise microbiológica não atenderam às premissas de homogeneidade das variâncias e normalidades dos resíduos estudentizados, estes foram submetidos a testes não paramétricos. Os resultados das análises quantitativas foram submetidos ao teste de Kruskal-Wallis a 5% de probabilidade, para estes resultados serão apresentadas nas tabelas as médias e medianas utilizadas para as análises em questão, foi utilizado o procedimento NPAR1WAY do SAS. Já os resultados qualitativos (Presença/Ausência e/ou Positivos/Negativos) foram comparados pelo teste Qui-quadrado a 5% de probabilidade, para estes resultados foram utilizadas as frequências obtidas, e submetidas ao procedimento FREQ do SAS.

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na tabela 2 podem ser observados os parâmetros de desempenho zootécnico avaliados no experimento 1 do presente estudo.

Tabela 2 - Parâmetros de desempenho obtidos no experimento 1 - alojamento com cama nova.

Experimento 1				
Variável	Trat EU	Trat CM	CV	P
		1-7 dias		
PV(g)	150,47	151,73	1,95	0,2486
GP(g)	105,57	107,92	2,85	0,1561
CR(g)	114,27[a]	120,04[b]	4,65	0,0075*
CA	1,07[a]	1,09[b]	2,12	0,0257*
Viab	99,79	100,00	0,59	0,3253
		1-21 dias		
PV(g)	773,09	759,03	2,47	0,0561
GP(g)	719,48	712,73	3,47	0,4483
CR(g)	1056,41	1079,44	3,96	0,1346
CA	1,47[a]	1,52[b]	2,30	0,0004*
Viab	99,58	99,79	1,00	0,5592
		1-35 dias		
PV (kg)	1,84	1,84	3,92	0,9033
GP (kg)	1,79	1,79	4,16	0,7995
CR (g)	3044,07	3054,82	3,53	0,7799
CA	1,70	1,70	2,48	0,9339
Viab	98,75	99,79	2,51	0,2452
		1-42 dias		
PV (kg)	2,42	2,40	3,67	0,4652
GP (kg)	2384,43	2376,51	3,67	0,8027
CR (g)	4136,95	4172,99	3,48	0,4740
CA	1,73	1,75	1,92	0,1117
IEP	338,94	333,16	5,11	0,3482
Viab	98,33	98,54	3,02	0,8445

[a-b]letras sobrescritas diferentes na mesma linha indicam valores diferentes estatisticamente pelo teste F ($p<0,05$)
* Valor de P significativo ($p>0,05$)
CV = Coeficiente de Variação
Peso Vivo(PV), Ganho de Peso (GP), Consumo de Ração (CR), Conversão Alimentar(CA), Viabilidade(Viab), Índice de Eficiência Produtiva (IEP)

Neste período a cama utilizada foi maravalha nova. No período de 1 a 7 dias de vida dos animais para os parâmetros consumo de ração (CR) e para conversão alimentar (CA) houve diferença significativa ($p<0,05$) entre os

tratamentos. As aves submetidas ao tratamento Europeu apresentou menor consumo de ração e melhor conversão alimentar em relação as aves submetidas ao tratamento comum.

Neste período a conversão alimentar obtida pelas aves do tratamento Europeu foi 2% melhor do que a do tratamento comum. Já o consumo de ração para a mesma fase foi 5% menor para as aves submetidas ao tratamento europeu.

No período de 1 a 21 dias houve diferença entre os tratamentos para a variável conversão alimentar, sendo que os animais submetidos ao tratamento Europeu obtiveram melhor conversão alimentar. A conversão alimentar para as aves submetidas ao tratamento europeu foi 3,3% melhor do que aquelas do tratamento comum. Para as demais variáveis e períodos não houve diferença estatística entre os tratamentos Comum e Europeu.

Na fase inicial 1 a 7 dias o melhor desempenho obtido pelo tratamento europeu pode ser explicado pela influência positiva de medidas de biosseguridade e limpeza e desinfecção. Estas medidas têm como objetivo reduzir a pressão de infecção oferecida pelo ambiente para as aves. Quando a pressão de infecção do ambiente é alta os microrganismos em altas quantidades tornam-se capazes de superar a capacidade imunológica dos animais, causando assim lesões celulares, doenças e queda no desempenho produtivo (MENDES et al.,2004).

Na Tabela 3 podem ser observados os resultados dos parâmetros de desempenho zootécnico avaliados no experimento 2 do presente estudo. Neste a cama de maravalha de madeira foi reutilizada.

No período de 1 a 7 dias de vida dos animais houve diferença significativa ($p<0,05$) para CA, sendo a conversão obtida pelas aves do tratamento Comum, pior em relação ao tratamento Europeu. Para os demais parâmetros nessa fase não houve diferença entre os tratamentos.

No período de 1 a 21 dias de vida das aves houve diferença significativa para PV, GP, CR, CA e Viab. As aves submetidas ao tratamento Europeu obtiveram maior peso vivo, ganho de peso, consumo de ração e viabilidade;

obteve ainda melhor conversão alimentar, quando comparado ao tratamento comum.

No período de 1 a 35 dias de vida das aves houve diferença significativa entre os tratamentos para as variáveis PV, GP, CR, CA, e Viab. Os animais submetidos ao tratamento comum obtiveram resultados inferiores aqueles obtidos com tratamento Europeu em relação a todas as variáveis estudadas.

Para o período total de criação dos frangos de corte de 1 a 42 dias houve diferença significativa para todas as variáveis estudadas. As aves submetidas ao tratamento Europeu demonstrou melhores resultados quando comparado ao tratamento comum.

De modo geral o no segundo experimento o tratamento europeu mostrou-se mais eficiente para a produção de frangos de corte nas condições experimentais do presente estudo. Um melhor desempenho pode estar relacionado a uma menor pressão de infecção proporcionada pelo ambiente previamente limpo e desinfetado, juntamente com as demais práticas de biosseguridade adotadas. Tablante et al. (2002) ao estudarem a relação entre práticas de biosseguridade e desempenho produtivo de frangos de corte encontraram correlação positiva entre algumas destas práticas e melhores desempenhos produtivos, como por exemplo a frequência de desinfecção do sistema de água e distância entre granjas. Quando analisaram em seus estudos correlação entre a adoção de práticas de limpeza e desinfecção entre lotes não obteve efeito significativo no desempenho de frangos de corte, discordando assim do presente estudo. Os mesmos autores porém, sugerem que mesmo obtendo tais resultados, limpeza e desinfecção são fundamentais na prevenção de doenças.

Tabela 3 - Parâmetros de desempenho obtidos no experimento 2 - alojamento com cama reutilizada.

Experimento 2				
Variável	Trat EU	Trat CM	CV	P
		1-7 dias		
PV(g)	151,35	152,60	2,78	0,4586
GP(g)	103,99	105,56	3,94	0,3423
CR(g)	119,12	123,00	5,31	0,0979
CA	1,12[a]	1,18[b]	3,33	0,0003*
Viab	99,79	100,00	0,59	0,3253
		1-21 dias		
PV(g)	753,71[a]	697,86[b]	2,80	<0,0001
GP(g)	705,60[a]	643,76[b]	3,08	<0,0001
CR(g)	1041,00[a]	1011,44[b]	2,76	0,0070
CA	1,48[a] a	1,58[b]	2,12	>0,0001
Viab	99,58[a] a	96,66[b]	2,30	0,0010
		1-35 dias		
PV (kg)	1,751[a]	1,602[b]	5,63	0,0001*
GP (kg)	1,702[a]	1,539[b]	6,26	<0,0001*
CR (g)	2850,82[a]	2690,71[b]	3,95	0,0003*
CA	1,67[a]	1,73[b]	3,32	0,0178*
Viab	99,58[a]	95,83[b]	2,70	0,0004*
		1-42 dias		
PV kg	2,335[a]	2,159[b]	4,08	<0,0001*
GP kg	2,283[a]	2,087[b]	3,52	<0,0001*
CR g	3915,14[a]	3716,32[b]	3,78	0,0006*
CA	1,71[a]	1,75[b]	2,06	0,0114*
IEP	331,00[a]	294,48[b]	4,48	<0,0001*
Viab	98,89[a]	95,21[b]	2,94	0,0012*

[a-b] Letras sobrescritas diferentes na mesma linha indicam valores diferentes estatisticamente pelo teste F (p<0,05)* Valor de P significativo (p<0,05)
CV= Coeficiente de Variação
Peso Vivo(PV), Ganho de Peso (GP), Consumo de Ração (CR), Conversão Alimentar(CA), Viabilidade(Viab), Índice de Eficiência Produtiva (IEP)

Gibbens et al., (2005) realizaram um estudo relacionando práticas de biosseguridade auxiliando no controle de campilobacteriose, as práticas principais estavam relacionadas a procedimentos de limpeza e desinfecção sendo estas bastante semelhantes as adotadas no presente estudo. Estes autores demonstraram que medidas de higiene e biosseguridade auxiliam no controle das campilobacterioses, reduzindo o risco de infecção próximo ao abate de 80% para menos de 40%.

Campilobacterioses podem causar sinais clínicos leves em aves, porém alguns estudos relatam diarreia e perda de peso em aves acometidas. O

principal problema das campilobacterioses é a possibilidade de contaminar carcaças e causar doenças de origem alimentar nos humanos.(CALNEK et al., 2007). Além de Campylobacter outros patógenos intestinais podem ser observados como causadores de redução do desempenho em frangos de corte, práticas de higiene e biosseguridade devem ser adotadas na prevenção de doenças e melhoria do desempenho. Esta hipótese apresentada por Gibbens et al., (2005) corrobora com os resultados positivos obtidos no presente estudo.

Nos períodos de 1 a 21 dias, 1 a 35 dias e 1 a 42 dias foram encontradas diferenças significativas ($p>0,05$) para a variável viabilidade, que significa a quantidade de frangos vivos ao final do lote, o tratamento europeu que possuía um programa de limpeza e desinfecção completo e também seguia regras de biosseguridade, obteve maior viabilidade em relação ao tratamento comum. A menor viabilidade obtida pelos lotes submetidos ao tratamento Comum corrobora com Kalf (2007) que relaciona falhas nas medidas de biosseguridade com uma maior mortalidade em frangos de corte.

Kaoud et al., (2008) em um estudo relacionando imunidade e a adoção de medidas de biosseguridade encontraram resultados indicando que a não adoção destas práticas está relacionada a baixas quantidades de títulos de anticorpos em aves vacinadas contra influenza aviária, encontraram ainda indicativos de que 60% desta baixa imunidade se deve a falhas nas práticas de biosseguridade. Fatores nutricionais, genéticos e de manejo podem interferir na resposta imune das aves, prejuízos ao desempenho podem decorrer de respostas imunológicas ineficientes, melhorias nas respostas imunes das aves devem ser proporcionadas a fim de diminuir as perdas com doenças.(MACARI et al.,2002)

Kaoud, (2008) ao avaliar fatores de risco para a ocorrência de doenças em frangos de corte, encontrou evidências que falhas nas práticas de biosseguridade aumentam o risco de infecção dos lotes. Observando limpeza e desinfecção, 50% das infecções esperadas ocorrem devido a falhas nestes procedimentos e a incidência de infecção pode aumentar 2.5 vezes.

Quando há ocorrência de lesões no trato gastrointestinal, há um gasto metabólico para a recuperação destas lesões, consequentemente menos nutrientes ficam disponíveis para o crescimento e deposição de tecido muscular, assim o desempenho desta ave será prejudicado. (MACARI et al.,2002). Sendo assim, práticas de manejo que visam diminuir a contaminação ambiental por agentes patogênicos, podem auxiliar na diminuição do risco de infecção e na melhora do desempenho do lote. Como se pode observar através dos resultados obtidos na tabela 3, a detalhada limpeza e desinfecção auxiliaram em um melhor desempenho de frangos de corte.

Ao observar o Índice de Eficiência Produtiva obtido no período total de criação 1 a 42 dias do experimento 2, no tratamento Europeu pode-se constatar que este índice é 12% maior do que o obtido pelos animais do tratamento comum. O Índice de Eficiência Produtiva é uma variável importante, pois de acordo com Carneiro et al.(2004), é a partir dele que o desempenho produtivo dos integrados é classificado:

IEP < 200 = PÉSSIMO

IEP DE 200 A 220 = RUIM

IEP DE 220 A 230 = REGULAR

IEP DE 230 A 240 = BOM

IEP 240 A 250 = ÓTIMO

IEP >250 = EXCELENTE

Considerando a classificação de Carneiro et al.(2004), os os animais do experimento 2 submetidos a ambos os tratamentos estariam na faixa Excelente. Porém, sabe-se ainda que as empresas integradoras utilizam estes índices classificatórios na remuneração do integrado, aqueles que possuem melhores índices recebem mais pelos frangos vendidos. Outro fator é a premiação dos produtores pelos melhores IEP, como descrito por MB Comunicação Empresarial (2010), que relata a premiação do melhor produtor no Rio Grande Sul pela cooperativa a qual é filiado. Esta prática é adotada pelas empresas a fim de estimular os integrados a manterem elevada

produtividade. Desta maneira, os resultados obtidos no presente trabalho demonstram que as práticas de limpeza, desinfecção e biosseguridade podem trazer além dos benefícios sanitários, benefícios econômicos.

Na tabela 4 são demonstrados os resultados obtidos na contagem total de microrganismos e bioluminescência, antes do início do primeiro experimento. Não houve diferença estatística significativa($p>0,05$) para as variáveis estudadas, exceto na contagem total de microrganismos presentes nas cortinas, onde as cortinas posteriormente submetidas ao tratamento Europeu possuíam contagem menor do que as posteriormente submetidas ao tratamento comum($p>0,05$).

A ausência de diferença estatística entre os pontos analisados antes do início do primeiro experimento está relacionada a não realização prévia de nenhum procedimento de limpeza e desinfecção, e ao ambiente estar submetido às mesmas condições de criações anteriores, sem diferenças quanto ao manejo sanitário adotado.

Nas análises realizadas para contagem de bactérias *E. Coli* não foram encontradas amostras positivas para este microrganismo através da metodologia utilizada, nas diluições realizadas. Os resultados encontrados são diferentes dos esperados, pois as bactérias do gênero E.Coli fazem parte da microbiota comum dos animais e possuem certa resistência no ambiente, porém são susceptíveis ao ambiente seco (MURRAY, 2004), a retirada da cama e exposição do chão de cimento a temperatura elevada da primavera e verão(25 a 35ºC) da região de Pirassununga podem ter auxiliado na inativação destas bactérias.

Tabela 4 - Microbiologia e bioluminescência, avaliação do ambiente e utensílios antes do início do primeiro experimento.

	Trat. Europeu		Trat. Comum		
	Média	mediana	média	mediana	**P***
Piso					
Contagem Total (UFC/cm²)	21010	16550	9500	700	0,164
E. Coli (UFC/cm²)	-	-	-	-	-
Clostridium spp. (UFC/cm²)	8490	220	9200	100	0,418
ATP (RLU)	230	162	519	597	0,126
Parede					
Contagem Total (UFC/cm²)	293,333	200	373,333	0	0,132
E. Coli (UFC/cm²)	-	-	-	-	-
Clostridium spp. (UFC/cm²)	136	60	70	0	0,135
ATP (RLU)	753,333	797	1156,333	593	1,000
Bebedouro					
Contagem Total (UFC/cm²)	133,333	90	1296,667	810	0,124
E. Coli (UFC/cm²)	-	-	-	-	-
Clostridium spp. (UFC/cm²)	766,667	20	4	0	0,204
ATP (RLU)	58	27	32	23	0,512
Comedouro					
Contagem Total (UFC/cm²)	2200	1200	21966,667	13400	0,075
E. Coli (UFC/cm²)	-	-	-	-	-
Clostridium spp. (UFC/cm²)	120	40	366,667	80	0,347
ATP (RLU)	125,33	137	68	53	0,126
Cortina					
Contagem Total (UFC/cm²)	50	0	4075	4320	0,018
E. Coli (UFC/cm²)	-	-	-	-	-
Clostridium spp. (UFC/cm²)	66,667	0	150	0	0,796
ATP (RLU)	429,500	429,500	685,500	685,500	0,438

* Teste de Kruskal-Wallis com índicie de significância (P<0,05)
RLU = Unidades de Luz Relativa – unidade de medida do teste de bioluminescência
- = ausência do microorganismo

Fries et al., (2005) ao analisarem a microbiota da cama de frangos relatam um decréscimo na população de enterobactérias após a depopulação das instalações, a prévia retirada das aves, cama e utensílios do galpão antes do início dos experimentos pode estar relacionada a redução e ausência de bactérias E. Coli no período anterior ao início dos experimentos.

Tabela 5 - Microbiologia e bioluminescência, avaliação do ambiente e utensílios após a realização dos processos de limpeza e desinfecção do primeiro experimento.

	Trat. Europeu		Trat. Comum		
	média	mediana	média	mediana	P*
Piso					
Contagem Total (UFC/cm²)	1466,667	1070	3760	1340	0,747
E. Coli (UFC/cm²)	-	-	-	-	-
Clostridium spp. (UFC/cm²)	23,333	10	184	200	0,134
ATP (RLU)	95,333*	61*	512,667	337	0,049
Parede					
Contagem Total (UFC/cm²)	290	110	2753,333	1830	0,054
E. Coli (UFC/cm²)	-	-	-	-	-
Clostridium spp. (UFC/cm²)	0	0	6,667	0	0,157
ATP (RLU)	97	42	184	193	0,479
Bebedouro					
Contagem Total (UFC/cm²)	1006,667	850	1780	500	0,808
E. Coli (UFC/cm²)	-	-	-	-	-
Clostridium spp. (UFC/cm²)	30	0	37500	50000	0,065
ATP (RLU)	36,67	4	39,667	45	0,512
Comedouro					
Contagem Total (UFC/cm²)	1506,667	600	3686,667	2910	0,469
E. Coli (UFC/cm²)	-	-	-	-	-
Clostridium spp. (UFC/cm²)	300	0	40	0	1,000
ATP (RLU)	1711,333	284	3639,333	1044	0,275
Cortina					
Contagem Total (UFC/cm²)	0	0	2255	2090	0,013
E. Coli (UFC/cm²)	-	-	-	-	-
Clostridium spp. (UFC/cm²)	0	0	0	0	1,000
ATP (RLU)	633	633	715,5	715,5	0,438

* Teste de Kruskal-Wallis com índicie de significância (P<0,05)
RLU = Unidades de Luz Relativa – unidade de medida do teste de bioluminescência
- = ausência do microorganismo

Na Tabela 5 são demonstrados os resultados obtidos para contagem de microrganismos e bioluminescência para ambiente e utensílios após a execução dos procedimentos de limpeza e desinfecção para os tratamentos Europeu e Comum.

Para a variável piso, quando avaliado através do teste de presença de ATP e Bioluminescência houve diferença significativa (p> 0,05), sendo que as

superfícies submetidas ao tratamento Europeu apresentaram média e mediana inferiores as submetidas ao tratamento comum. Para contagem total e de *Clostridium spp*. não foi encontrada diferença significativa entre os tratamentos. Para *E. Coli* todas as amostras foram negativas para presença deste microrganismo.

Para paredes, comedouros e bebedouros não foram encontradas diferença ($p > 0,05$) após a aplicação dos procedimentos de limpeza e desinfecção propostos nos tratamentos Comum e Europeu.

Para cortinas a contagem total de microrganismos obtida após a aplicação do tratamento Europeu foi menor do que a obtida com o tratamento comum, apresentando média e mediana 0.

Os resultados obtidos indicam que de maneira geral que não houve uma redução significativa na população microbiana existente no ambiente em estudo. Por se tratar de um programa de desinfecção composto por desinfetantes de diferentes princípios ativos, deve-se atentar a fatores que impeçam a sua atuação frente a microrganismos. A eficiência dos desinfetantes pode ser afetada pela concentração utilizada, dureza da água, quantidade de matéria orgânica existente no ambiente, tempo de ação adequado, entre outros (MERIANOS,1991;MENDES et al.,2002; UGA, 2005; GREZZI, 2007). No presente estudo não foi possível observar uma redução da carga microbiológica suficiente para apresentar diferenças estatísticas entre os tratamentos.

Pode-se atribuir este resultado a um ou mais fatores de influência na eficácia de desinfetantes, a exemplo da matéria orgânica, como foi relatado no presente estudo, a instalação utilizada nunca recebera nenhum tipo de manejo sanitário semelhante ao adotado, o que favorece o acúmulo de matéria orgânica neste ambiente durante longos períodos. Mesmo com a limpeza prévia das instalações, algumas superfícies de maior complexidade para limpeza, superfícies muito porosas, podem ainda apresentar quantidades grandes de matéria orgânica aderida a sua estrutura. Como consequência é provável que o poder de desinfecção dos tratamentos adotados tenha sido atenuado.

Stringfellow et al. (2009) em um estudo observando a eficácia de desinfetantes na presença de matéria orgânica observaram que quanto maior a quantidade de matéria orgânica menor a eficácia dos desinfetantes; neste estudo dentre os desinfetantes utilizados, estavam os compostos fenólicos assim como no tratamento Europeu adotado no presente estudo.

Payne et al. (2005) em um estudo avaliando a quantidade de desinfetante aplicada em determinada área não encontraram diferença significativa na redução da contagem total de bactérias quando baixas quantidades de desinfetantes foram aplicados, já ao aplicarem altas quantidades encontrou uma redução significativa da contagem total de bactérias. No presente estudo no primeiro experimento a ausência de efeitos significativos dos tratamentos na redução da contaminação bacteriana pode ser decorrente das quantidades insuficientes de desinfetantes terem sido aplicadas àssuperfícies analisadassendo ineficaznão a eliminação das bactérias presentes.

Para as cortinas, após a limpeza e desinfecção no primeiro experimento houve diferença estatística para a contagem total de microrganismos, este efeito pode ser atribuído ao fato das mesmas serem feitas de material plástico e sua superfície lisa facilita a retirada de microrganismos, ressalta-se que no período antes da limpeza e desinfecção as cortinas já apresentavam diferenças ($p>0,05$) estatísticas em relação a contagem total de microrganismos. Rathgeber et al., (2005) ao avaliarem a eficácia da desinfecção de materiais utilizados como paredes de aviários ressalta que materiais porosos são mais difíceis de limpar do que aqueles que possuem superfícies lisas, favorecendo a permanência de microrganismos juntamente com a matéria orgânica aderida a estes poros.

Tabela 6 - Microbiologia e bioluminescência, avaliação do ambiente e utensílios aos 7 dias de vida dos animais do primeiro experimento

	Trat. Europeu		Trat. Comum		
	média	mediana	média	mediana	P*
Piso					
Contagem Total (UFC/cm²)	8380	30	580	410	0,296
E. Coli (UFC/cm²)	0	0	130	0	0,139
Clostridium spp. (UFC/cm²)	0	0	12	0	0,273
ATP (RLU)	1263	481	202	100	0,512
Parede					
Contagem Total (UFC/cm²)	5886,667	900	216,667	50	0,244
E. Coli (UFC/cm²)	-	-	-	-	-
Clostridium spp. (UFC/cm²)	340	0	83,333	0	0,848
ATP (RLU)	62,333	42	179,333	193	0,157
Bebedouro					
Contagem Total (UFC/cm²)	8796,667	4970	19600	9700	0,067
E. Coli (UFC/cm²)	116,667	130	143,33	140	0,738
Clostridium spp. (UFC/cm²)	10	0	804	20	0,138
ATP (RLU)	268	240	2006,33	1431	0,049
Comedouro					
Contagem Total (UFC/cm²)	953,333	140	50	30	0,141
E. Coli (UFC/cm²)	-	-	-	-	-
Clostridium spp. (UFC/cm²)	10	0	3,333	0	0,902
ATP (RLU)	4,333	12	27,667	13	0,368
Cortina					
Contagem Total (UFC/cm²)	155	100	12555	110	0,655
E. Coli (UFC/cm²)	-	-	-	-	-
Clostridium spp. (UFC/cm²)	0	0	713,333	0	0,317
ATP (RLU)	128	128	2448,500	2448,500	0,121

* Teste de Kruskal-Wallis com índicie de significância (P<0,05)
RLU = Unidades de Luz Relativa – unidade de medida do teste de bioluminescência
- = ausência do microorganismo

Na Tabela 6 são apresentados os resultados das análises microbiológicas e de bioluminescência realizadas no sétimo dia de vida das aves, no primeiro experimento. Neste momento de coleta apenas foi observada diferença estatística (p>0,05) para a análise de bioluminescência – quantificação de ATP – nos bebedouros, aqueles submetidos ao tratamento europeu apresentaram menores quantidades de ATP quando comparados aos

do tratamento comum. Já para contagem total, *E.Coli e Clostridium Spp*. não houve diferença estatística entre os tratamentos(p>0,05).

Para os demais pontos analisados aos 7 dias, para todos os agentes estudados, não houve diferença estatística entre os tratamentos.

Tabela 7 - Microbiologia e bioluminescência, avaliação do ambiente e utensílios aos 14 dias de vida dos animais do primeiro experimento

	Trat. Europeu		**Trat. Comum**		
	Média	mediana	Média	mediana	P*
	Piso				
Contagem Total (UFC/cm²)	1273,333	80	5940	300	0,406
E. Coli (UFC/cm²)	160	0	0	0	0,139
	0	0	83,333	0	0,317
ATP (RLU)	28,667	18	200,667	186	0,049
	Parede				
Contagem Total (UFC/cm²)	3523,333	2060	1693,333	180	0,293
E. Coli (UFC/cm²)	-	-	-	-	-
Clostridium spp. (UFC/cm²)	-	-	-	-	-
ATP (RLU)	50,667	32	66,667	73	0,827
	Bebedouro				
Contagem Total (UFC/cm²)	18333,333	5000	27500	27500	0,299
E. Coli (UFC/cm²)	11833,333	5000	2210	790	0,627
Clostridium spp. (UFC/cm²)	883,333	10	27500	27500	0,006
ATP (RLU)	144,333	104	2216,667	2661	0,049
	Comedouro				
Contagem Total (UFC/cm²)	9186,667	60	50	20	0,511
E. Coli (UFC/cm²)	563,333	0	0	0	0,139
Clostridium spp. (UFC/cm²)	646,667	670	2233,333	200	0,867
ATP (RLU)	4,333	4	7,667	6	0,184
	Cortina				
Contagem Total (UFC/cm²)	3560	1270	3060	1620	0,772
E. Coli (UFC/cm²)	-	-	-	-	-
Clostridium spp. (UFC/cm²)	250	0	450	0	0,850
ATP (RLU)	121	128	399,5	399,5	0,121

* Teste de Kruskal-Wallis com índicie de significância (P<0,05)
RLU = Unidades de Luz Relativa – unidade de medida do teste de bioluminescência
- = ausência do microorganismo

Na tabela 7 estão demonstrados os resultados das análises microbiológicas e de bioluminescência realizados aos 14 dias de vida dos animais. Para piso e bebedouros houve diferença significativa($p>0,05$) para a quantificação de ATP, sendo que em ambos o tratamento Europeu obteve menores valores de para ATP. Nos bebedouros também houve efeito significativo para Clostridium Spp. sendo que os bebedouros submetidos ao tratamento Europeu obtiveram menores resultados para este microrganismo.

Na tabela 8 são demonstrados os resultados obtidos nas análises microbiológicas e de bioluminescência aos 28 dias de vida dos animais. Nesta, podem ser observados efeito significativo para contagem total de bactérias no ponto parede, sendo que o tratamento europeu obteve menor contagem total de microrganismos. Já para bebedouros para quantificação de ATP nas amostras aqueles que foram submetidos ao tratamento comum obtiveram menores valores.

Na tabela 9 são demonstrados os resultados obtidos nas análises microbiológicas e de bioluminescência aos 42 dias de vida dos animais. Pode ser observado efeito significativo apenas para a quantificação de ATP sendo que os bebedouros submetidos ao tratamento comum obtiveram maiores contagens de ATP.

Nos dias 7, 14 e 42 de criação das aves foi possível detectar uma menor da quantidade de ATP nos bebedouros submetidos ao tratamento europeu, no manejo diário eram submetidos a lavagem com bucha embebida em solução de ácido peracético e Benzil-(C12-C16) cloro-alquil dimetilamonio. Os testes de Bioluminescência por ATP detectam restos orgânicos e debris celulares ao invés de detectar microrganismos. (GRIFIN, 2005). Quando analisados os resultados obtidos a partir de cultura de microrganismos, não são encontradas diferenças entre os tratamentos, o que poder levar a crer que o manejo diário adotado era mais eficiente na remoção da matéria orgânica de modo geral do que na eliminação das bactérias.

Valias e Silva, (2001) ao avaliarem bebedouros pendulares e tipo chupeta (nipple) quanto a contaminação microbiológica obtiveram resultados indicando que os bebedouros pendulares possuem maiores contaminações por

microrganismos do que os tipo nipple. Quando leva-se em consideração o prolongado tempo de sobrevivência de alguns microrganismos patogênicos na água e o grande número de aves que têm acesso à mesma fonte de água, a transmissão por via hídrica assume um fundamental papel na epidemiologia de várias enfermidades aviárias (GAMA, 2005).

Barros et. al., (2001) ao avaliarem bebedouros quanto a contaminação microbiológica e a demanda de cloro na água de dessedentação encontraram uma alta demanda por cloro principalmente próximo aos 35 dias devido ao maior acúmulo de matéria orgânica , o que dificulta a ação do cloro residual, crucial na eliminação de microrganismos que podem ser veiculados pela água para as aves. Os resultados obtidos no presente estudo corroboram com estes autores, pois mesmo com a aplicação diária de um desinfetante e a água utilizada no experimento sendo clorada, houve redução da matéria orgânica evidenciada pelos testes de Bioluminescência por ATP, mas as contagens bacterianas realizadas não foram afetadas.

Aos 7, 14 e 42 dias no primeiro experimento em nenhuma das analises foi possível observar efeito significativo para contagem de bactérias totais, E.Coli ou Clostridium entre os tratamentos. Aos 14 dias de idade das aves no primeiro experimento, porém, houve uma redução na contagem de Clostridium Spp. nos bebedouros além da diferença estatística na quantificação de ATP.

Aos 28 dias o tratamento comum obteve menores quantidades de ATP nos bebedouros, evidenciando que apenas a limpeza mecânica com bucha umedecida também foi capaz de reduzir a quantidade de ATP avaliada, porém quando observados os valores numéricos, nos momentos em que o tratamento Europeu obteve efeito significativo os valores de RLU encontrados foram inferiores aos observados para o tratamento comum aos 28 dias.

Tabela 8 -Microbiologia e bioluminescência, avaliação do ambiente e utensílios aos 28 dias de vida dos animais do primeiro experimento

	Trat. Europeu		Trat. Comum		
	média	mediana	média	mediana	P*
Piso					
Contagem Total (UFC/cm²)	19866,667	5700	27500	27500	0,315
E. Coli (UFC/cm²)	16,667	0	126,667	50	0,284
Clostridium spp. (UFC/cm²)	16173,333	6600	11416,667	4500	0,288
ATP (RLU)	6437,333	7732	6094,667	7737	0,827
Parede					
Contagem Total (UFC/cm²)	383,333	130	17856,666	5000	0,024
E. Coli (UFC/cm²)	-	-	-	-	-
Clostridium spp. (UFC/cm²)	-	-	-	-	-
ATP (RLU)	98,333	100	112,667	77	0,126
Bebedouro					
Contagem Total (UFC/cm²)	27500	27500	27500	27500	1,000
E. Coli (UFC/cm²)	210	110	20,00	10	0,084
Clostridium spp. (UFC/cm²)	2990	3090	11763,333	5000	0,135
ATP (RLU)	7099,333	7146	5436	5939	0,049
Comedouro					
Contagem Total (UFC/cm²)	886,667	500	11186,667	3870	0,065
E. Coli (UFC/cm²)	0	0	6,667	0	0,317
Clostridium spp. (UFC/cm²)	1026,667	320	3326,667	2330	0,228
ATP (RLU)	11,667	12	5,333	5	0,126
Cortina					
Contagem Total (UFC/cm²)	13830	12100	2280	1260	0,148
E. Coli (UFC/cm²)	-	-	-	-	-
Clostridium spp. (UFC/cm²)	545	370	2795	680	0,663
ATP (RLU)	592	592	450	450	0,438

* Teste de Kruskal-Wallis com índicie de significância (P<0,05)
RLU = Unidades de Luz Relativa – unidade de medida do teste de bioluminescência
- = ausência do microorganismo

Tabela 9 -Microbiologia e bioluminescência, avaliação do ambiente e utensílios aos 42 dias de vida dos animais do primeiro experimento

	Trat. Europeu		Trat. Comum		
	média	mediana	média	mediana	P*
Piso					
Contagem Total (UFC/cm²)	27500	27500	27500	27500	1,000
E. Coli (UFC/cm²)	16,667	0	36,667	10	0,289
Clostridium spp. (UFC/cm²)	8370	5900	13790	9600	0,747
ATP (RLU)	5217	5377	5603,667	5425	0,657
Parede					
Contagem Total (UFC/cm²)	10646,667	7870	1200	1220	0,109
E. Coli (UFC/cm²)	-	-	-	-	-
Clostridium spp. (UFC/cm²)	1186,667	1130	6740	200	0,783
ATP (RLU)	135	98	75	77	0,375
Bebedouro					
Contagem Total (UFC/cm²)	27500	27500	27500	27500	1,000
E. Coli (UFC/cm²)	16,667	0	233,333	0	0,317
Clostridium spp. (UFC/cm²)	27500	27500	10973,333	4530	0,075
ATP (RLU)	1385,333	1656	4624,333	4602	0,049
Comedouro					
Contagem Total (UFC/cm²)	9880	6260	20176,667	6200	0,520
E. Coli (UFC/cm²)	200	0	0	0	0,317
Clostridium spp. (UFC/cm²)	1216,667	550	270	210	0,258
ATP (RLU)	8,667	6	8	8	0,486
Cortina					
Contagem Total (UFC/cm²)	2170,333	7800	18855	15400	0,467
E. Coli (UFC/cm²)	-	-	-	-	-
Clostridium spp. (UFC/cm²)	3153,333	3280	7265	730	0,479
ATP (RLU)	274,500	274,500	332,500	332,500	1,000

* Teste de Kruskal-Wallis com índicie de significância (P<0,05)
RLU = Unidades de Luz Relativa – unidade de medida do teste de bioluminescência
- = ausência do microorganismo

Quando analisados os resultados do desempenho zootécnico junto com aqueles obtidos com a pesquisa microbiológica e de Bioluminescência por ATP pode-se relacionar a pouca diferença no desempenho dos dois tratamentos a pouca diferença obtida quanto a microbiologia do ambiente em estudo.

Programas de limpeza e desinfecção visam a redução da pressão de infecção através retirada da fonte de contaminação e doença pela minimização

da oportunidade de multiplicação dos patógenos.(GREZZI, 2007). No primeiro experimento não foi observada diferença estatística entre os tratamentos na maioria das análises microbiológicas realizadas, indicando que ambos não foram suficientemente eficientes para reduzir a pressão de infecção oferecida para o ambiente, sendo assim seria muito provável o desempenho produtivo dos animais não fosse afetado. Tablante et al., (2002) ao estudarem a relação entre medidas de biosseguridade, dentre elas o programa de limpeza e desinfecção, e desempenho de frangos de corte, não encontraram diferenças significativas quanto ao desempenho dos animais, corroborando com o resultado obtido no primeiro experimento do presente trabalho. Porém, não há citação destes autores em seu trabalho quanto a verificação da eficiência da limpeza e desinfecção, o que pode gerar o questionamento se a falta da correlação é verdadeira, ou a falta de correlação está ligada a eficiência da limpeza e desinfecção.

Ao adotar um programa de limpeza e desinfecção é necessário criar métodos de avaliar sua eficiência antes da colocação do novo lote na instalação, esta prática faz parte das premissas dos protocolos de Boas Praticas na Produção e HACCP. Grezzi, (2007) destaca a importância da inspeção visual na avaliação dos processos de limpeza e desinfecção e salienta a necessidade de uma avaliação microbiológica para assegurar a eficácia destes procedimentos. Ward et al., (2006) alertam para as demandas dos mercados consumidores por produtos finais que tenham obedecido estes protocolos de HACCP durante sua produção.

Na tabela 10 estão os resultados obtidos para contagem de microrganismos e bioluminescência, antes do início do segundo experimento. A tabela apresenta diferenças não significativas ($p>0,05$) para todas as variáveis analisadas. Estes resultados demonstram não haver diferenças de carga microbiana nas instalações antes da realização dos dois programas de limpeza e desinfecção, mesmo que a instalação seja a mesma onde foi realizado o primeiro experimento.

Na tabela 11 são demonstrados os resultados obtidos contagem de microrganismos e bioluminescência após a realização dos dois programas de

limpeza e desinfecção, e a cama utilizada foi proveniente do primeiro experimento. Quando avaliado o piso, foi encontrada diferença significativa (p>0,05) para as análises de contagem total de microrganismos e de bioluminescência por ATP sendo que em ambos o tratamento europeu apresentou contagem de colônias e quantidade de ATP disponível menores nas superfícies.

Na avaliação das paredes, houve efeito significativo do tratamento europeu nas análises de contagem total de microrganismos e contagem de clostrídios. No tratamento comum os locais amostrados apresentaram maiores contagens destas colônias após a realização dos procedimentos de limpeza e desinfecção.

Na análise dos comedouros utilizados na criação das aves foi encontrada diferença significativa para contagem total de microrganismos e quantificação de ATP disponível nas amostras. Os comedouros submetidos ao tratamento europeu apresentaram melhores resultados com menores contagens em ambas as análises, quando comparados aos comedouros submetidos ao tratamento comum, após os procedimentos de limpeza e desinfecção.

Para as cortinas das instalações houve efeito significativo quando avaliada a contagem total de microrganismos após a aplicação dos tratamentos. As cortinas das instalações submetidas ao tratamento europeu obtiveram resultados significativos com contagens inferiores àqueles submetidos ao tratamento comum.

Ao avaliar os resultados obtidos após a limpeza e desinfecção no segundo experimento nota-se que houve uma diferença entre os tratamentos para todos os pontos avaliados exceto os bebedouros. O tratamento europeu mostrou-se mais eficiente na redução da carga bacteriana existente, o que sugere que a pressão de infecção oferecida pelo ambiente foi reduzida.

Ao observar o desempenho deste mesmo experimento (Tabela 3) nota-se que os animais submetidos ao tratamento Europeu obtiveram resultados estatisticamente superiores ao tratamento comum. Ao relacionar os resultados

de desempenho com as análises da contaminação do ambiente nota-se uma relação positiva entre a limpeza e desinfecção proposta no tratamento europeu, e melhores ganho de peso, conversão alimentar, peso vivo, viabilidade e índice de eficiência produtiva.

Ka-Oud, (2008) ao avaliar medidas de biosseguridade relacionadas ao desempenho de frangos de corte observou uma correlação negativa com a mortalidade ou seja dentre essas medias, práticas de limpeza e a desinfecção se destacaram nestas correlações.Com a adoção de limpeza e desinfecção entre lotes se obteve menores índices de mortalidade, concordando com os resultados obtidos no presente trabalho. O mesmo autor ainda destaca o maior peso final das aves com a adoção de limpeza e desinfecção entre lotes o que corrobora com o presente estudo que obteve menor mortalidade, melhor conversão alimentar e melhor peso final no tratamento europeu. Com este mesmo tratamento obteve melhores resultados quanto a redução da população microbiana do ambiente.

Gifford et al., (1987) em um estudo avaliando a relação de custo/benefício da adoção de medidas de biosseguridade, dentre elas procedimentos rígidos de limpeza e desinfecção entre a troca de lotes, sugeriram que a adoção destes procedimentos se justifica pelo aumento do risco de infecção de determinada doença, independente do grau de sua patogenicidade, porque mesmo doenças que causam baixos índices de mortalidade podem causar grandes perdas em relação ao desempenho produtivo das aves.

Estes mesmos autores, ainda ressaltam que é possível quantificar as perdas associadas a cada uma das doenças e assim adequar as medidas de biosseguridade a serem adotadas a fim de evitar ao máximo tais prejuízos. Ao observar os índices de eficiência produtiva obtidos pelos animais submetidos aos tratamentos Comum e Europeu, nota-se que mesmo os lotes aparentemente sem doenças clínicas instaladas, com boa produtividade, podem ser afetados pela presença de uma maior pressão de infecção oferecida pelo ambiente, reduzindo o IEP, diminuindo a produtividade do lote em questão.

Tabela 10 - Microbiologia e bioluminescência, avaliação do ambiente e utensílios antes do início do segundo experimento

	Trat. Europeu		Trat. Comum		
	Média	mediana	média	mediana	P*
Piso					
Contagem Total (UFC/cm²)	23266,667	14800	27500	27500	0,789
E. Coli (UFC/cm²)	0	0	3,333	0	0,317
Clostridium spp. (UFC/cm²)	8873,333	530	4970	3180	0,574
ATP (RLU)	2780,667	3020	3022,667	2276	0,827
Parede					
Contagem Total (UFC/cm²)	27500	27500	20446,667	8000	0,604
E. Coli (UFC/cm²)	-	-	-	-	-
Clostridium spp. (UFC/cm²)	100	30	1313,333	0	1,000
ATP (RLU)	80,67	70	119,667	109	0,827
Bebedouro					
Contagem Total (UFC/cm²)	27500	27500	27500	27500	1,000
E. Coli (UFC/cm²)	-	-	-	-	-
Clostridium spp. (UFC/cm²)	720	260	316,667	0	0,305
ATP (RLU)	2	0	5	1	0,261
Comedouro					
Contagem Total (UFC/cm²)	20796,667	9000	23000	5000	0,844
E. Coli (UFC/cm²)	-	-	-	-	-
Clostridium spp. (UFC/cm²)	7270	0	173,333	100	0,592
ATP (RLU)	335,333	334	454,667	360	0,827
Cortina					
Contagem Total (UFC/cm²)	27500	27500	27500	27500	1,000
E. Coli (UFC/cm²)	-	-	-	-	-
Clostridium spp. (UFC/cm²)	6055	2510	25	0	0,166
ATP (RLU)	92,500	92,500	138,500	138,500	0,259

* Teste de Kruskal-Wallis com índicie de significância (P<0,05)
RLU = Unidades de Luz Relativa – unidade de medida do teste de bioluminescência
- = ausência do microorganismo

Ao observar os resultados de contagens microbiológicas obtidos no primeiro e segundo experimento após a aplicação dos tratamentos, nota-se que no primeiro os tratamentos comum e europeu não diferiram significativamente pelo teste de KW (p>0,05), e já no segundo observa-se diferença significativa pelo teste de KW(p>0,05). Ambos foram aplicados da mesma maneira, respeitando o mesmo protocolo, porém, variações ambientais podem ter

influenciado na efetividade destes tratamentos. Quando aplicado pela primeira vez, nunca havia sido realizado nenhum tipo de limpeza ou desinfecção no galpão utilizado. Já no segundo experimento, que foi subsequente ao primeiro, o galpão encontrava-se contaminado pelo primeiro alojamento, porém previamente submetido à primeira limpeza e desinfecção. Sabe-se que os procedimentos de limpeza e desinfecção devem ser contínuos, realizados a cada troca de lotes, visando diminuir a cada novo processo ainda mais a carga patogênica existente no galpão, diminuindo a chance de ocorrência de doenças nos novos lotes, como sugerem Morishita e Gordon, (2002).

A adoção contínua destes programas visa uma mais completa eliminação de microrganismos potencialmente nocivos a cada nova realização do programa, a quebra na sequência pode facilitar o acúmulo de matéria orgânica e maior proliferação dos microrganismos. Conforme estudaram Stringfellow et al. (2009) o acúmulo e a permanência de matéria orgânica em superfícies que serão submetidas a desinfecção coloca em risco a eficácia do programa adotado.

Tabela 11 - Microbiologia e bioluminescência, avaliação do ambiente e utensílios após a realização dos procedimentos de limpeza e desinfecção do segundo experimento

	Trat. Europeu		Trat. Comum		
	Média	mediana	média	mediana	P*
Piso					
Contagem Total (UFC/cm²)	226,667	30	20133,300	8700	0,003
E. Coli (UFC/cm²)	-	-	-	-	-
Clostridium spp. (UFC/cm²)	36,667	0	9166,667	0	0,703
ATP (RLU)	44,333*	52*	2580	632	0,049
Parede					
Contagem Total (UFC/cm²)	450*	10*	19116,700	10300	0,003
E. Coli (UFC/cm²)	-	-	-	-	-
Clostridium spp. (UFC/cm²)	183,333*	0	18353,300	4660	0,009
ATP (RLU)	9,333	6	34	27	0,126
Bebedouro					
Contagem Total (UFC/cm²)	243,333	300	9410	530	0,196
E. Coli (UFC/cm²)	-	-	-	-	-
Clostridium spp. (UFC/cm²)	200	0	266,667	100	0,338
ATP (RLU)	11,333	11	94	120	0,184
Comedouro					
Contagem Total (UFC/cm²)	890	70	9923,333	1770	0,029
E. Coli (UFC/cm²)	-	-	-	-	-
Clostridium spp. (UFC/cm²)	193,333	200	12206,700	420	0,460
ATP (RLU)	14	14	3055,333	677	0,049
Cortina					
Contagem Total (UFC/cm²)	900	300	27500	27500	0,018
E. Coli (UFC/cm²)	-	-	-	-	-
Clostridium spp. (UFC/cm²)	180	160	12975	930	0,081
ATP (RLU)	4	4	100,5	100,5	0,860

* Teste de Kruskal-Wallis com índicie de significância (P<0,05)
RLU = Unidades de Luz Relativa – unidade de medida do teste de bioluminescência
- = ausência do microorganismo

Quando avaliados os bebedouros após a realização dos tratamentos comum e europeu no segundo experimento, não houve efeito significativo em nenhuma das contagens de colônias realizadas, bem como na quantificação de ATP disponível nas amostras.

Na tabela 12 são apresentados os resultados das análises microbiológicas e de bioluminescência realizadas no sétimo dia de vida das

aves, no segundo experimento. Nesta data houve efeito significativo apenas para a contagem total de microrganismos e quantidade de ATP disponível nos comedouros, sendo que em nas duas análises o tratamento comum apresentou resultados melhores, ou seja quantidades inferiores, do que o tratamento europeu.

Tabela 12 - Microbiologia e bioluminescência, avaliação do ambiente e utensílios aos 7 dias de vida dos animais do segundo experimento

	Trat. Europeu		Trat. Comum		
	média	mediana	média	mediana	P
Piso					
Contagem Total (UFC/cm²)	8524,444	5000	17857,780	5000	0,326
E. Coli (UFC/cm²)	2,222	0	264,444	0	0,203
Clostridium spp. (UFC/cm²)	1202,222	140	2322,222	100	0,752
ATP (RLU)	2911,667	2009	4209	4527	0,512
Parede					
Contagem Total (UFC/cm²)	3910	100	3610	2600	0,414
E. Coli (UFC/cm²)	-	-	-	-	-
Clostridium spp. (UFC/cm²)	30	0	70	10	0,474
ATP (RLU)	62,33	52	210,33	132	0,126
Bebedouro					
Contagem Total (UFC/cm²)	27500	27500	27500	27500	1,000
E. Coli (UFC/cm²)	766,667	740	166,667	100	0,106
Clostridium spp. (UFC/cm²)	1546,667	1430	483,333	400	0,106
ATP (RLU)	3806,333	3806	1375,333	1240	0,069
Comedouro					
Contagem Total (UFC/cm²)	9610	1580	15890	4640	0,229
E. Coli (UFC/cm²)	0	0	6,667	0	0,317
Clostridium spp. (UFC/cm²)	286,667	350	66,667	50	0,191
ATP (RLU)	97,333	100	29,667	33	0,049
Cortina					
Contagem Total (UFC/cm²)	15	0	155	10	0,508
E. Coli (UFC/cm²)	-	-	-	-	-
Clostridium spp. (UFC/cm²)	5	0	0	0	0,317
ATP (RLU)	90,500	90,500	741,500	741,500	0,406

* Teste de Kruskal-Wallis com índicie de significância (P<0,05)
RLU = Unidades de Luz Relativa – unidade de medida do teste de bioluminescência
- = ausência do microorganismo

Tabela 13 - Microbiologia e bioluminescência, avaliação do ambiente e utensílios aos 14 dias de vida dos animais do segundo experimento

	Trat. Europeu		Trat. Comum		
	média	Mediana	média	mediana	P*
Piso					
Contagem Total (UFC/cm²)	27984,444	6400	4226,667	2860	0,791
E. Coli (UFC/cm²)	582,222	0	31,111	0	0,808
Clostridium spp. (UFC/cm²)	1791,111	320	1831,111	2000	0,391
ATP (RLU)	1246	1246	1510,333	1345	0,049
Parede					
Contagem Total (UFC/cm²)	13,333*	0*	213,333	130	0,032
E. Coli (UFC/cm²)	-	-	-	-	-
Clostridium spp. (UFC/cm²)	36,667	0	0	0	0,317
ATP (RLU)	47,333	41	48	62	0,827
Bebedouro					
Contagem Total (UFC/cm²)	10516,667	5000	27500	27500	0,132
E. Coli (UFC/cm²)	683,333	630	253,333	200	0,333
Clostridium spp. (UFC/cm²)	113,333	40	6033,333	3400	0,003
ATP (RLU)	451	366	925	1026	0,126
Comedouro					
Contagem Total (UFC/cm²)	18186,667	3700	21466,667	9400	0,280
E. Coli (UFC/cm²)	-	-	-	-	-
Clostridium spp. (UFC/cm²)	40	0	306,667	0	0,674
ATP (RLU)	6	7	8,333	8	0,104
Cortina					
Contagem Total (UFC/cm²)	22500	17500	18900	10300	0,877
E. Coli (UFC/cm²)	-	-	-	-	-
Clostridium spp. (UFC/cm²)	-	-	-	-	-
ATP (RLU)	154,500	154,500	165	165	0,259

* Teste de Kruskal-Wallis com índicie de significância (P<0,05)
RLU = Unidades de Luz Relativa – unidade de medida do teste de bioluminescência
- = ausência do microorganismo

Na tabela 13 são apresentados os resultados das análises microbiológicas e de bioluminescência realizadas aos 14 dias de vida das aves, no segundo experimento. Foram encontrados efeitos significativos para quantificação de ATP no piso, para contagem total de microrganismos nas paredes e contagem de clostrídios nos bebedouros; sendo que os resultados

obtidos com a aplicação do tratamento europeu obtiveram melhores resultados do que os do tratamento comum.

Tabela 14 -Microbiologia e bioluminescência, avaliação do ambiente e utensílios aos 28 dias de vida dos animais do segundo experimento

	Trat. Europeu		Trat. Comum		
	Média	mediana	média	mediana	P*
		Piso			
Contagem Total (UFC/cm²)	69000	13400	65740	50000	0,893
E. Coli (UFC/cm²)	0	0	37,780	0	0,066
Clostridium spp. (UFC/cm²)	802,500	360	1726,667	0	0,647
ATP (RLU)	3871	5098	3171,667	3396	0,827
		Parede			
Contagem Total (UFC/cm²)	17626,667	2800	18343,333	5000	0,934
E. Coli (UFC/cm²)	-	-	-	-	-
Clostridium spp. (UFC/cm²)	126,667	0	20	0	0,400
ATP (RLU)	58,667	63	68,667	70	0,827
		Bebedouro			
Contagem Total (UFC/cm²)	27500	27500	24033,333	17100	0,789
E. Coli (UFC/cm²)	10233,333	4900	1190	1000*	0,003
Clostridium spp. (UFC/cm²)	2756,667	2270	5666,667	4800	0,686
ATP (RLU)	3888,667	3277	1597*	1612*	0,049
		Comedouro			
Contagem Total (UFC/cm²)	3483,333	3100	9630	1120	0,872
E. Coli (UFC/cm²)	-	-	-	-	-
Clostridium spp. (UFC/cm²)	206,667	120	46,667	10	0,315
ATP (RLU)	4	4	4,333	4	0,822
		Cortina			
Contagem Total (UFC/cm²)	15850	4600	11890	3700	0,465
E. Coli (UFC/cm²)	-	-	-	-	-
Clostridium spp. (UFC/cm²)	20	0	0	0	0,317
ATP (RLU)	378,500	378,500	257,500	257,500	0,860

* Teste de Kruskal-Wallis com índicie de significância (P<0,05)
RLU = Unidades de Luz Relativa – unidade de medida do teste de bioluminescência
- = ausência do microorganismo

Na tabela 14 são apresentados os resultados das análises microbiológicas e de bioluminescência realizadas aos 28 dias de vida das aves, no segundo experimento. Neste período não foram encontradas diferenças significativas estatisticamente pelo teste de KW a 5% de probabilidade para

nenhuma das variáveis analisadas exceto para bebedouros que houve efeito significativo de tratamento para contagem de E.Coli sendo que o tratamento comum bteve melhores resultados.

Tabela 15 - Microbiologia e bioluminescência, avaliação do ambiente e utensílios aos 42 dias de vida dos animais do segundo experimento

	Trat. Europeu		Trat. Comum		
	Média	mediana	média	mediana	P*
	Piso				
Contagem Total (UFC/cm²)	109266,700	40400	117444	50000	0,716
E. Coli (UFC/cm²)	46,667	0	51,111	0	0,066
Clostridium spp. (UFC/cm²)	18353,333	6000	9160	4150	0,630
ATP (RLU)	7321,333	8170	7283	7445	0,512
	Parede				
Contagem Total (UFC/cm²)	9786,667	1560	2646,667	1200	0,809
E. Coli (UFC/cm²)	-	-	-	-	-
Clostridium spp. (UFC/cm²)	1073,333	1030	5252	1000	1,000
ATP (RLU)	286,667	340	164,667	149	0,275
	Bebedouro				
Contagem Total (UFC/cm²)	27500	27500	27500	27500	1,000
E. Coli (UFC/cm²)	1606,667	1320	523,333	620	0,109
Clostridium spp. (UFC/cm²)	27500	27500	17800	7000	0,600
ATP (RLU)	5559,667	5069	5745,333	6855	0,827
	Comedouro				
Contagem Total (UFC/cm²)	18343,333	4300	12220	5000	1,000
E. Coli (UFC/cm²)	3,333	0	40	0	0,902
Clostridium spp. (UFC/cm²)	8553,333	200	4823,333	320	0,328
ATP (RLU)	9*	9*	56	38	0,049
	Cortina				
Contagem Total (UFC/cm²)	21295	16400	10725	2800	0,309
E. Coli (UFC/cm²)	-	-	-	-	-
Clostridium spp. (UFC/cm²)	275	150	800	810	0,059
ATP (RLU)	1291	1291	2122	2122	0,259

* Teste de Kruskal-Wallis com índicie de significância (P<0,05)
RLU = Unidades de Luz Relativa – unidade de medida do teste de bioluminescência
- = ausência do microorganismo

Na tabela 15 são apresentados os resultados das análises microbiológicas e de bioluminescência realizadas aos 42 dias de vida das aves, no segundo experimento. Neste período não foram encontradas diferenças

significativas (p>0,05) para nenhuma das variáveis analisadas, exceto para quantidade de ATP disponível para comedouros, onde aqueles do tratamento europeu obtiveram menores quantidades.

No primeiro experimento do presente estudo destaca-se a incidência de altas contagens de bactérias do gênero *Clostridium* que são conhecidas por causar doenças nas aves, como a enterite necrótica, além disso, também são responsáveis por doenças de origem alimentar em humanos, por isto a pesquisa destas bactérias é de grande importância. Schocken-Iturrino et al., (2009) realizaram um experimento observando a incidência de *C. Perfringens* na água e ração de frangos de corte, encontraram altas contagens destas bactérias nas amostras analisadas e concluíram que as altas frequências de C. Perfringens verificadas nas águas podem estar associadas à falta de higiene geral na manipulação e armazenamento dos mesmos.

Ao observar os experimentos conduzidos nota-se que mesmo adotando práticas de limpeza e desinfecção, apenas pode ser observada diferença estatística aos 14 dias do primeiro experimento nos bebedouros, após a limpeza e desinfecção nas paredes do segundo experimento e aos 14 dias do segundo experimento nos bebedouros, em todos no tratamento europeu se obteve contagens menores de Clostrídios.

Apesar das contagens indicarem grande incidência de clostrídios, não foi observado em ambos os experimentos sinais clínicos que indicassem que as aves estivessem acometidas por enterites necróticas. Porém, de acordo com Fiorentin, (2005) altas contagens de algumas bactérias no trato digestivo das aves aumentam os níveis de contaminação das carcaças a partir da abertura ou corte acidental dos intestinos durante o abate

. Craven et al., (2001) realizaram um estudo onde pesquisaram a incidência de Clostrídios desde o incubatório até o abatedouro, neste estudo encontraram alta incidência de Clostrídios nas paredes e ventiladores durante o tempo de criação de frangos sugerindo que estes microrganismos podem ser levados da cama e fezes junto com a poeira, contaminando outros locais e utensílios, aumentando a probabilidade de infecção do lote.

Quanto aos bebedouros no segundo experimento onde houve diferença significativa para quantificação de ATP por bioluminescência aos 7, 14 e 42 dias, porém não foi encontrada diferença significativa($p>0,05$) entre os tratamentos para as contagens bacterianas, indicando que ambos os tratamentos não foram eficientes na redução de microrganismos. Estes resultados corroboram com o estudo de Barros et al.,(2001) que ao obterem altas taxas de contaminação bacteriana em bebedouros pendulares durante toda a fase de criação de aves sugerem que estes utensílios são inadequados a manutenção da sanidade de lotes de frangos pois acumulam matéria orgânica e microrganismos aumentando a demanda de desinfetantes na água dos animais e favorecendo a possibilidade de contaminação da aves por microrganismos patogênicos.

Durante o segundo experimento logo após a limpeza e desinfecção houve efeito de tratamento($p>0,05$)para os locais e utensílios avaliados, porém nas coletas posteriores esta diferença parece ter diminuído até chegar aos 28 e posteriormente 42 dias sem diferença estatística entre os tratamentos, como neste experimento a cama foi reutilizada, a recolonização bacteriana provavelmente foi mais rápida, pois a cama oferece substrato apropriado para a manutenção das bactérias. Já aos 7 dias foi possível observar que o efeito inicial dos tratamentos não era mais notado exceto nos comedouros e bebedouros, onde o tratamento comum obteve melhores resultados.

O ambiente em que se encontram as aves possui uma população bacteriana grande, visto que através de seu trato gastrintestinal nas fezes, são liberadas grandes quantidades de bactérias, que em sua maioria não oferecem riscos a saúde dos animais. Porém deve-se atentar a agentes potencialmente causadores de doenças, e tentar combater ao máximo sua entrada e proliferação no ambiente de criação de frangos. A utilização de práticas de limpeza e desinfecção deve por sua vez, minimizar a carga microbiana do ambiente como um todo, mas em especial aqueles capazes de causar doenças.

Na tabela 16 são demonstrados os resultados das análises microbiológicas realizadas com as amostras de cama nova utilizada no primeiro

experimento. Houve efeito significativo para contagem total de UFC e de colônias de *Clostridium Spp*. antes do início do experimento.

A cama utilizada foi recebida e separada em duas partes, metade seria utilizada no tratamento comum e metade no tratamento europeu. Porém permaneceram as duas metades armazenadas no mesmo local, da mesma maneira.

As amostras foram coletadas diretamente de diferentes sacos e pontos de profundidade nos sacos, mesmo assim as amostras não se mostraram homogêneas indicando diferenças significativas entre as amostras coletadas para o tratamento comum e europeu. Destaca-se ainda as altas contagens totais, ambas as médias obtidas estavam acima de 100.000UFC/g de cama, indicando que antes mesmo da colocação da cama em contato com as aves ela já carrega uma grande quantidade de microrganismos. No presente estudo também foram encontradas altas contagens de Clostridium spp. nas amostras do destinadas ao tratamento Europeu.

No primeiro experimento após a distribuição no galpão, antes da chegada dos animais, não houve diferença estatística entre os tratamentos, para nenhuma das análises realizadas. A ausência de diferença provavelmente pode ser explicada pela homogeneização sofrida pela cama ao ser espalhada nos boxes, ao coletar amostras porções de diversos pontos foram pegos para formar cada uma das amostra compostas.

Antes da distribuição e após a distribuição da cama nova no galpão no primeiro experimento, não houve presença de bactérias do gênero *E.Coli* em nenhuma das amostras analisadas. Estes resultados eram esperados, pois as *E.Coli* são enterobactérias e estão associadas as fezes dos animais, como a cama era nova ainda não ocorrera o contato com fezes.

Grande preocupação existe quanto a qualidade da cama nova, nem sempre ela é livre de patógenos, Long et al., (1980), ao analisarem amostras de cama nova obtiveram resultados indicativos de que a cama pode já estar contaminada por Salmonela antes mesmo do alojamento das aves.

Tabela 16 – Análise microbiológica da Cama utilizada no primeiro experimento, cama nova.

	Trat. Europeu		Trat. Comum		
	média	mediana	média	mediana	P*
Antes					
Contagem Total (UFC/cm²)	$5,75x10^{7}$	$2,5x10^{7}$	$7,52x10^{5}$	0	0,001
E. Coli (UFC/cm²)	-	-	-	-	-
Clostridium spp. (UFC/cm²)	$1x10^{7}$	$2,5x10^{6}$	0	0	0,033
Depois					
Contagem Total (UFC/cm²)	$1,51x10^{10}$	$2,5x10^{10}$	$5,8x10^{9}$	$7x10^{8}$	0,388
E. Coli (UFC/cm²)	-	-	-	-	-
Clostridium spp. (UFC/cm²)	$6,83x10^{8}$	$6,95x10^{8}$	$5,05x10^{9}$	$1,3x10^{9}$	0,377
7 dias					
Contagem Total (UFC/cm²)	$4,1x10^{9}$	$2,45x10^{8}$	$6,8x10^{9}$	$4,1x10^{9}$	0,092
E. Coli (UFC/cm²)	$1,83x10^{7}$	0	$5x10^{6}$	0	0,528
Clostridium spp. (UFC/cm²)	$2,71x10^{8}$	$1,25x10^{8}$	$5,28x10^{8}$	$1,94x10^{9}$	0,135
14 dias					
Contagem Total (UFC/cm²)	$5,3x10^{7}$	$3,5x10^{7}$	$3,6x10^{9}$	$1,9x10^{9}$	0,003
E. Coli (UFC/cm²)	-	-	-	-	-
Clostridium spp. (UFC/cm²)	$2x10^{7}$	$5x10^{6}$	$1,05x10^{10}$	$2,5x10^{9}$	0,049
28 dias					
Contagem Total (UFC/cm²)	$1,16x10^{10}$	$9,5x10^{9}$	$7,03x10^{9}$	$4,05x10^{10}$	0,221
E. Coli (UFC/cm²)	$1,66x10^{7}$	0	$1,66x10^{7}$	0	0,902
Clostridium spp. (UFC/cm²)	$5,36x10^{9}$	$4,35x10^{9}$	$5,17x10^{9}$	$4,77x10^{9}$	0,872
42 dias					
Contagem Total (UFC/cm²)	$8,03x10^{9}$	$5x10^{9}$	$1,08x10^{10}$	$5,03x10^{9}$	0,869
E. Coli (UFC/cm²)	$1,66x10^{7}$	0	0	0	0,843
Clostridium spp. (UFC/cm²)	$2,03x10^{9}$	$7x10^{7}$	$2,3x10^{9}$	$4,55x10^{8}$	0,518

* Teste de Kruskal-Wallis com índicie de significância (P<0,05)
RLU = Unidades de Luz Relativa – unidade de medida do teste de bioluminescência
- = ausência do microorganismo

Aos 14 dias de criação do primeiro experimento das aves a cama apresentou diferença estatística significativa (p>0,05)para contagem total de

microrganismos e para contagem de Clostridium Spp. sendo que a cama dos boxes do tratamento europeu apresentou menores contagens nestas análises.

Aos 28 e aos 42 dias de criação das aves do primeiro experimento não houve diferença estatística (p>0,05) entre os resultados obtidos pela análise microbiológica da cama dos tratamentos comum e europeu quanto a contagem total de bactérias e Clostrídios.

Tabela 17 – Análise microbiológica da Cama utilizada segundo experimento, cama reutilizada.

	Trat. Europeu		Trat. Comum		
	média	mediana	média	mediana	P*
Dia 0					
Contagem Total (UFC/cm²)	$1,87x10^8$	$5,35x10^7$	$2,63x10^8$	$3x10^7$	0,748
E. Coli (UFC/cm²)	-	-	-	-	-
Clostridium spp. (UFC/cm²)	$5,08x10^8$	$4x10^8$	$1,32x10^9$	$2x10^7$	0,462
7 dias					
Contagem Total (UFC/cm²)	$5,16x10^8$	$1,75x10^8$	$9,16x10^8$	$1,8x10^8$	0,936
E. Coli (UFC/cm²)	$1,9x10^5$	0	$4,38x10^5$	$4,5x10^5$	0,086
Clostridium spp. (UFC/cm²)	$5,94x10^9$	$2,5x10^9$	$1,36x10^9$	0	0,068
14 dias					
Contagem Total (UFC/cm²)	$5,87x10^8$	$2,1x10^8$	$1,08x10^9$	$2,5x10^8$	0,781
E. Coli (UFC/cm²)	$6,66x10^4$	$6,5x10^4$	$3,16x10^4$	$3,x10^4$	0,362
Clostridium spp. (UFC/cm²)	$5,32x10^9$	$2,4x10^9$	$2,5x10^9$	$2,5x10^9$	0,800
28 dias					
Contagem Total (UFC/cm²)	$1,25x10^9$	$1,02x10^9$	$1,37x10^9$	$1,37x10^9$	0,789
E. Coli (UFC/cm²)	-	-	-	-	-
Clostridium spp. (UFC/cm²)	$1,02x10^{10}$	$7,55x10^9$	$1,33x10^9$	$1,26x10^{10}$	0,666
42 dias					
Contagem Total (UFC/cm²)	$1,93x10^9$	$2,5x10^9$	$1,35x10^9$	$1,32x10^9$	0,172
E. Coli (UFC/cm²)	-	-	-	-	-
Clostridium spp. (UFC/cm²)	$7,8x10^9$	$4,35x10^8$	$5,93x10^9$	$4,5x10^8$	0,871

*Teste de Kruskal-Wallis com índicie de significância (P<0,05)
RLU = Unidades de Luz Relativa – unidade de medida do teste de bioluminescência
- = ausência do microorganismo

Na tabela 17 estão demonstrados os resultados das análises microbiológicas realizadas com as amostras de cama reutilizada utilizada no segundo experimento. Nestas análises não foi possível detectar diferença

estatística significativa para as amostras analisadas em nenhum dos momentos de coleta. A não existência de diferença significativa entre os tratamentos sugere que a cama não foi o principal fator de influência na pressão de infecção para ambos os tratamentos.

A não diferença estatística ($p>0,05$) entre ambas sugere que exerciam a mesma pressão de infecção no lote. Porém como já visto, neste segundo experimento foi notada diferença estatística no desempenho dos animais, bem como na quantificação microbiológica presente nas instalações e utensílios após a realização dos tratamentos de limpeza e desinfecção. Estes resultados sugerem que a diferença encontrada no desempenho dos animais esteja mais relacionada aos tratamentos adotados e não a outros fatores de influência no experimento.

Fries et al, (2005) ao analisarem dois tipos de cama de frango quanto a sua microbiologia na contagem total de colônias encontraram níveis próximos de 10^9UFC/g em amostras de cama nova a partir da segunda semana de vida dos animais, após este período há um crescimento para 10^{12}UFC/g na fase intermediária de criação e uma estabilização nas fases finais de criação para 10^9UFC/g de cama. Estes resultados se aproximam dos obtidos no primeiro experimento do presente estudo quanto a uma elevação nas contagens de colônias na fase inicial e posterior estabilidade das contagens. Neste mesmo estudo, Fries et al, (2005) encontraram sete vezes mais bactérias gram positivas do que gram negativas o que pode explicar a estabilidade nas contagens nas fases finais de criação.

Estudos como o de Vieira e Moran Jr,(1999) eSantos et al.,(2005) atentam a possibilidade da reutilização da cama sem prejuízos ao desempenho zootécnico do lote, como foi utilizado no segundo experimento do presente estudo, que demonstrou que a adoção de práticas de limpeza e desinfecção preconizadas no tratamento europeu antes do alojamento de lote sobre cama reutilizada possuem melhor desempenho zootécnico quando comparado a limpeza simples. Jones e Hager (1982) compararam cama nova e cama reutilizada na criação de frangos e não constataram diferenças significativas no

peso corporal, na conversão alimentar e no número de condenações de carcaça.

Deve-se atentar para as altas contagens de UFC para *Clostridium Spp*. nos períodos iniciais de ambos os experimentos, foram encontrados valores acima de 1.000.000 UFC/g. Práticas de tratamento de cama visam reduzir a população bacteriana existente na cama são recomendadas quando haverá a reutilização, como indicam Bellaver et al.,(2003) no manual de boas práticas na produção de frangos. Dai Pra et al.,(2008), utilizaram cal virgem como método químico na redução da contaminação de cama e observaram redução de 97% da população de *Clostridium Spp*. quando aplicado 300g/m^2, indicando uma boa eficiência deste método. Choi et al, (2008) também estudaram o efeito de tratamento de cama na redução bacteriana, e obtiveram redução de 87% da contagem de bactérias totais quando utilizados compostos acidificantes como cloreto e alumínio e sulfato ferroso. Desta maneira, analisando os resultados obtidos no presente estudo, sugere-se que seja feito algum tipo de tratamento na cama prévio ao alojamento das aves para que haja uma diminuição na população microbiana existente nas camas.

Nos 14º dias do primeiro experimento e 28º e 42º dias do segundo experimento não foi possível detectar a presença de bactérias do gênero *E. Coli* nas amostras analisadas, estes resultados não são comuns visto que E.Coli são enterobacterias e deveriam estar presentes visto que há grandes quantidades de fezes na cama. Estes resultados podem estar associados a alguma falha não identificada na armazenagem ou processamento das amostras que impediu o crescimento destas bactérias durante as análises.

Na tabela 18 estão demonstrados os resultados obtidos nas analises microbiológicas da ração utilizada na alimentação das aves no primeiro experimento. Não foram encontradas diferenças significativas na contagem de bactérias do gênero *E. Coli, Clostridium Spp*. e também na contagem total de microrganismos em nenhuma da datas de coleta. Porém nota-se uma elevada quantidade destes microrganismos na ração oferecida aos animais. Foram encontradas quantidades acima de 1.000.000UFC/g de ração oferecida aos animais.

Tabela 18 - Análise microbiológica da ração utilizada primeiro experimento.

	Trat. Europeu		Trat. Comum		
	média	mediana	média	Mediana	P*
Antes					
Contagem Total (UFC/cm²)	$6,53x10^8$	$2,5x10^6$	$4,25x10^8$	$2,5x10^6$	0,247
E. Coli (UFC/cm²)	-	-	-	-	-
Clostridium spp. (UFC/cm²)	$5,97x10^8$	$2,5x10^7$	$5,44x10^7$	$2,5x10^7$	1,000
Depois					
Contagem Total (UFC/cm²)	$1,26x10^8$	$1x10^7$	$3,5x10^7$	$5x10^6$	0,157
E. Coli (UFC/cm²)	-	-	-	-	-
Clostridium spp. (UFC/cm²)	$5,6x10^7$	0	$4,4x10^7$	$1x10^7$	0,483
7 dias					
Contagem Total (UFC/cm²)	$9,16x10^9$	$2,5x10^9$	$5x10^7$	$1,5x10^7$	0,224
E. Coli (UFC/cm²)	-	-	-	-	-
Clostridium spp. (UFC/cm²)	$4,16x10^8$	0	$4,6x10^7$	0	0,561
14 dias					
Contagem Total (UFC/cm²)	$1,25x10^9$	$1,25x10^9$	$6,73x10^9$	$8,05x10^8$	0,516
E. Coli (UFC/cm²)	-	-	-	-	-
Clostridium spp. (UFC/cm²)	$5,06x10^8$	0	$7,05x10^8$	$1,6x10^8$	0,303
28 dias					
Contagem Total (UFC/cm²)	$5,66x10^7$	0	$1,66x10^7$	0	0,528
E. Coli (UFC/cm²)	-	-	-	-	-
Clostridium spp. (UFC/cm²)	$8,33x10^6$	$1x10^7$	$3,33x10^6$	0	0,212
42 dias					
Contagem Total (UFC/cm²)	$1,42x10^9$	$1,61x10^9$	$7,16x10^9$	$2,5x10^9$	0,671
E. Coli (UFC/cm²)	-	-	-	-	-
Clostridium spp. (UFC/cm²)	$6,14x10^8$	$1,6x10^8$	0	0	0,053

*Teste de Kruskal-Wallis com índicie de significância (P<0,05)
RLU = Unidades de Luz Relativa – unidade de medida do teste de bioluminescência
- = ausência do microorganismo

Na tabela 19 estão demonstrados os resultados obtidos nas analises microbiológicas da ração utilizada na alimentação das aves no segundo experimento. Não foram encontradas diferenças significativas na contagem de bactérias do gênero E. Coli, Clostridium Spp. e também na contagem total de microrganismos em nenhuma das datas de coleta, exceto aos 28 dias onde a ração oferecida ao animais do tratamento europeu obteve menor contagem

total de colônias do que a referente ao tratamento comum. Porém nota-se uma elevada quantidade destes microorganismos na ração oferecida aos animais. No primeiro experimento foram encontradas quantidades acima de 1.000.000UFC/g de ração oferecida ao animais.

Tabela 19 - Análise microbiológica da ração utilizada segundo experimento.

	Trat. Europeu		Trat. Comum		
	média	mediana	média	mediana	P
Depois					
Contagem Total (UFC/cm²)	$1,56x10^8$	0	$5x10^5$	0	0,400
E. Coli (UFC/cm²)	$1,83x10^7$	0	$1,66x10^6$	0	0,460
Clostridium spp. (UFC/cm²)	$3,8x10^7$	0	0	0	0,317
7 dias					
Contagem Total (UFC/cm²)	$9,53x10^8$	$4x10^8$	$8,61x10^8$	$2,5x10^8$	0,454
E. Coli (UFC/cm²)	-	-	-	-	-
Clostridium spp. (UFC/cm²)	$7,05x10^8$	$4,55x10^8$	$7,56x10^8$	$5,55x10^8$	0,925
14 dias					
Contagem Total (UFC/cm²)	$1,85x10^6$	$1,4x10^8$	$8,82x10^8$	0	0,019
E. Coli (UFC/cm²)					
Clostridium spp. (UFC/cm²)	0	0	$6,25x10^8$	0	0,220
28 dias					
Contagem Total (UFC/cm²)	$1,91x10^7$	0	$8,33x10^5$	$5x10^5$	0,420
E. Coli (UFC/cm²)	$3,33x10^4$	0	0	0	0,317
Clostridium spp. (UFC/cm²)	$2,66x10^7$	$1,5x10^7$	0	0	0,115
42 dias					
Contagem Total (UFC/cm²)	$4,58x10^8$	$5x10^5$	$1,25x10^8$	$1,25x10^8$	1,000
E. Coli (UFC/cm²)	-	-	-	-	-
Clostridium spp. (UFC/cm²)	$1x10^7$	0	$9,1x10^8$	$2,3x10^8$	0,157

*Teste de Kruskal-Wallis com índicie de significância (P<0,05)
- = ausência do microorganismo

O presente estudo não obteve resultados indicando relação entre a contaminação das rações utilizadas e o desempenho dos animais em nenhum dos dois experimentos realizados discordando do estudo realizado por VanHarn et al., (2000), no qual frangos de corte que foram alimentados com ração com menores níveis de contaminação por bactérias apresentaram menor

índice de mortalidade (4,2% para rações menos contaminadas e 7,7% para aquelas com maiores contagens bacterianas), mas não apresentaram diferenças na conversão alimentar e ganho de peso vivo. Richardson e Longo, (2008) em experimentos realizados sob condições comerciais com frangos de corte, a redução da contaminação da ração promoveu maior consumo de ração, melhor conversão alimentar e menor mortalidade, discordando também do presente estudo.

A principal fonte de contaminação das rações pode estar associada com os próprios ingredientes, que podem trazer uma grande quantidade e variedade de microrganismos, que são resistentes a condições de baixa umidade e podem sobreviver por um longo período de tempo, mesmo em condições de controle de temperatura e do nível de poeira ambiente. Ainda pode ocorrer a contaminação das rações ao longo do processo de produção e armazenagem. A associação das técnicas disponíveis para redução dos desafios boas práticas na fabricação, tratamento térmico e tratamento químico demonstram ser a estratégia indicada para o eficiente controle microbiológico nas fábricas de rações. (LONGO et al, 2010).

Na tabela 20 são apresentadas as frequências de Aspergillus Spp. encontradas para as instalações e utensílios utilizados durante o primeiro experimento. Para pisos houve efeito significativo apenas no período após a realização da limpeza e desinfecção no qual o tratamento comum apresentou maior frequência com 83,33% de amostras positivas para Aspergillus Spp. do que o tratamento Europeu com 0% de amostras Para paredes, comedouros, bebedouros e cortinas não houve efeito significativo de tratamento para as frequências de Aspergillus Spp. em nenhum dos períodos estudados($p>0,05$).

Na tabela 21 são apresentadas as frequências de Aspergillus Spp. encontradas para a instalação e utensílios utilizados durante o segundo experimento. Para piso foi observada diferença significativa entre a frequência de Aspergillus Spp. aos 7 dias de idade das aves, sendo que a frequência encontrada nas amostras do tratamento Europeu foi menor do que a encontrada no tratamento Comum.

Tabela 20 - Frequência Aspergillus Spp. nas amostras coletadas no primeiro experimento 1 para nos pisos, paredes, comedouros, bebedouros e cortinas.

	Tratamento Europeu	Tratamento Comum	P*
	Piso		
Antes	16.66% (1/6)	0%(0/6)	0.2963
Depois	0% (0/6)	83.33% (5/6)	0.0034
7 dias	0%(0/6)	0%(0/6)	1.0000
14 dias	0%(0/6)	0%(0/6)	1.0000
28 dias	0%(0/6)	33.33%(2/6)	0.1213
42 dias	0%(0/6)	0%(0/6)	1.0000
	Parede		
Antes	0%(0/6)	0%(0/6)	1.0000
Depois	16.66% (1/6)	0%(0/6)	1.0000
7 dias	0%(0/6)	0%(0/6)	1.0000
14 dias	0%(0/6)	0%(0/6)	1.0000
28 dias	16.66% (1/6)	16.66% (1/6)	1.0000
42 dias	0%(0/6)	0%(0/6)	1.0000
	Comedouro		
Antes	33.33%(2/6)	33.33%(2/6)	1.0000
Depois	0%(0/6)	0%(0/6)	1.0000
7 dias	16.66% (1/6)	0%(0/6)	0.2963
14 dias	0%(0/6)	33.33%(2/6)	0.1213
28 dias	0%(0/6)	0%(0/6)	1.0000
42 dias	0%(0/6)	0%(0/6)	1.0000
	Bebedouro		
Antes	33.33%(2/6)	33.33%(2/6)	1.0000
Depois	16.66% (1/6)	0%(0/6)	0.2963
7 dias	0%(0/6)	0%(0/6)	1.0000
14 dias	0%(0/6)	0%(0/6)	1.0000
28 dias	0%(0/6)	0%(0/6)	1.0000
42 dias	0%(0/6)	16.66% (1/6)	0.2963
	Cortina		
Antes	0% (0/4)	25%(1/4)	0.2850
Depois	0% (0/4)	0% (0/4)	1.0000
7 dias	0% (0/4)	0% (0/4)	1.0000
14 dias	0% (0/4)	25%(1/4)	0.2850
28 dias	0% (0/4)	0% (0/4)	1.0000
42 dias	0% (0/4)	25%(1/4)	0.2850

*Teste do Qui-Quadrado com nível de significância de 5% (P<0,05)

Nas paredes no segundo experimento foram encontradas diferenças significativas para a frequência de *Aspergillus Spp*. após a limpeza e desinfecção e aos 14 dias de vida dos animais.

Quanto aos comedouros do segundo experimento foi encontrada diferença significativa aos 14 dias de idades para a frequência de *Aspergillus Spp*, sendo que o tratamento Comum obteve menor frequência. Para bebedouros e cortinas não houve efeito significativo quanto a frequência de Aspergillus Spp. em nenhum dos períodos estudados.

Na Tabela 22 são apresentadas as frequências de *Aspergillus Spp*. encontradas na cama e ração utilizadas durante o primeiro e segundo experimentos.

No primeiro experimento só foi encontrado efeito significativo para a frequência de *Aspergillus Spp*. para ração aos 14 dias de idade sendo que a frequência obtida na ração oferecida ao tratamento Comum foi maior do que a do tratamento Europeu.

Já no segundo experimento foi possível observar apenas efeito significativo para cama no dia inicial (0) para a frequência de Aspergillus Spp. sendo que a cama fornecida ao tratamento Europeu possuía maior frequência nas amostras coletadas.

Tabela 21 - Frequência de Aspergillus Spp. nas amostras coletadas no primeiro experimento 2 para nos pisos, paredes, comedouros, bebedouros e cortinas.

	Tratamento Europeu	Tratamento Comum	P*
	Piso		
Antes	16.66% (1/6)	50% (3/6)	0.2207
Depois	16.66% (1/6)	16.66% (1/6)	1.0000
7 dias	50% (3/6)	100% (6/6)	0.0455
14 dias	0%(0/6)	0%(0/6)	1.0000
28 dias	0%(0/6)	16.66% (1/6)	0.2963
42 dias	33.33%(2/6)	16.66% (1/6)	0.4164
	Parede		
Antes	0%(0/6)	0%(0/6)	1.0000
Depois	0%(0/6)	50% (3/6)	0.0455
7 dias	50% (3/6)	33.33%(2/6)	0.5582
14 dias	0%(0/6)	33.33%(2/6)	0.0455
28 dias	0%(0/6)	0%(0/6)	1.0000
42 dias	16.66% (1/6)	0%(0/6)	0.2963
	Comedouro		
Antes	16.66% (1/6)	50% (3/6)	0.2207
Depois	50% (3/6)	33.33%(2/6)	0.5582
7 dias	50% (3/6)	33.33%(2/6)	0.5582
14 dias	50% (3/6)	0%(0/6)	0.0455
28 dias	0%(0/6)	33.33%(2/6)	0.1213
42 dias	0%(0/6)	0%(0/6)	1.0000
	Bebedouro		
Antes	16.66% (1/6)	0%(0/6)	0.2963
Depois	33.33%(2/6)	16.66% (1/6)	0.5050
7 dias	16.66% (1/6)	16.66% (1/6)	1.0000
14 dias	0%(0/6)	0%(0/6)	1.0000
28 dias	0%(0/6)	16.66% (1/6)	0.2963
42 dias	16.66% (1/6)	16.66% (1/6)	1.0000
	Cortina		
Antes	25%(1/4)	25%(1/4)	1.0000
Depois	0% (0/4)	0% (0/4)	1.0000
7 dias	25%(1/4)	100% (4/4)	0.0285
14 dias	25%(1/4)	25%(1/4)	1.0000
28 dias	0% (0/4)	0% (0/4)	1.0000
42 dias	25%(1/4)	25%(1/4)	1.0000

*Teste do Qui-Quadrado com nível de significância de 5% (P<0,05)

Tabela 22 - Frequência de Aspergillus Spp. nas amostras coletadas no primeiro e segundo experimentos para ração e cama.

Experimento 1			
	Tratamento Europeu	Tratamento Comum	P*
Ração			
Antes	0%(0/6)	16.66% (1/6)	0.2963
Depois	0%(0/6)	33.33%(2/6)	0.1213
7 dias	16.66% (1/6)	0%(0/6)	0.2963
14 dias	0%(0/6)	50% (3/6)	0.0455
28 dias	16.66% (1/6)	0%(0/6)	0.2963
42 dias	16.66% (1/6)	0%(0/6)	0.2963
Cama			
Antes	0%(0/6)	0%(0/6)	1.0000
Depois	0%(0/6)	16.66% (1/6)	0.2963
7 dias	0%(0/6)	16.66% (1/6)	0.2963
14 dias	50% (3/6)	16.66% (1/6)	0.5050
28 dias	16.66% (1/6)	33.33%(2/6)	0.5050
42 dias	0%(0/6)	0%(0/6)	1.0000
Experimento 2			
Cama			
0 dias	50% (3/6)	0%(0/6)	0.0455
7 dias	0%(0/6)	0%(0/6)	1.0000
14 dias	16.66% (1/6)	33.33%(2/6)	0.5050
28 dias	0%(0/6)	0%(0/6)	1.0000
42 dias	0%(0/6)	16.66% (1/6)	0.2963
Ração			
0 dias	0%(0/6)	0%(0/6)	1.0000
7 dias	0%(0/6)	0%(0/6)	1.0000
14 dias	0%(0/6)	0%(0/6)	1.0000
28 dias	16.66% (1/6)	0%(0/6)	0.2963
42 dias	50% (3/6)	50% (3/6)	1.0000

*Teste do Qui-Quadrado com nível de significância de 5% (P<0,05)

Ao estudar a presença de *Aspergillus Spp*. em ambientes destinados a criação de frangos de corte deve-se atentar a capacidades destes fungos em causar Aspergilose, que é uma doença respiratória que pode acometer principalmente as aves jovens e também a capacidade destes fungos produzirem aflatoxinas principalmente quando presentes em rações para o consumo dos frangos em toda sua vida produtiva.

Viegas et al., (2011) ao estudarem a contaminação fúngica no ar e em superfícies (parede, comedouros e bebedouros) encontraram presença de Aspergillus em 7% das de amostras de ar analisadas e em 5% das superfícies

analisadas, estes resultados diferem dos obtidos no presente estudo, porém este fato se deve ao número de amostras avaliados em cada um dos estudos, além disso o estudo dos autores citados não realizou coletas em diferentes períodos, diferentemente do presente estudo. Mesmo assim, os autores ressaltam a importância da identificação de Aspergillus na criação de frangos, pois além da possibilidade da contaminação dos animais e desenvolvimento das aspergiloses, pode ainda ocorrer contaminação das carcaças com micotoxinas e ainda um problema ocupacional com a exposição de trabalhadores aos fungos e micotoxinas.

No presente estudo apenas observou-se diferença estatística significativa para a frequência de *Aspergillus* após a limpeza e desinfecção para o piso no primeiro experimento com melhores resultados para o tratamento Europeu, ainda, foi possível observar mesmo que não significativamente, a presença de Aspergilus em outras amostras, principalmente para o tratamento Comum.

Andreatti Filho (2000) reporta que entre os patógenos a serem controlados no incubatório, devido aos prejuízos que podem causar aos pintos de um dia, no que diz respeito à mortalidade e refugos nas primeiras semanas estão os fungos das espécies *Aspergillus*.Richard (1997), em seus estudos observou que as infecções em pintos de um dia de idade, somente podem ser controladas se houver um controle sanitário dos incubatórios. Pode-se estender as observações feitas por este autor às obtidas no presente estudo, um ambiente que receberá aves de um dia também pode oferecer esporos fúngicos capazes de colonizar seu trato respiratório, assim demonstra-se a importância da adoção de programas de controle sanitário das instalações.

Kapetanov et al., (2011) estudaram a presença de *Aspergillus* em galpões de frangos de corte, perus, icubatórios, cama e ovos embrionados através de “suabes” de superfícies encontraram frequência de 36% de positividade para as superfícies de galpões e 23% de positividade para cama, resultados mais próximos as frequências encontradas no presente estudo. Os autores atentam para as altas quantidades e o grande tempo de exposição aos fungos que as aves permanecem, aumentando a chance de desenvolverem

Aspergilose. Outro aspecto abordado por estes autores é a necessidade do controle sanitário, bem como limpeza e desinfecção das instalações avícolas a fim de diminuir o risco do acometimento dos animais por tal doença. Os achados e propostas de Kapetanov et al., (2011) estão alinhados com o do presente estudo.

Quanto a cama e ração utilizadas no presente experimento a tabela 22 demonstra poucas diferenças entre os dois tratamentos, sugerindo uma homogeneidade, visto que a cama utilizada nos dois experimentos não sofreu nenhum tipo de tratamento, mimetizando uma situação comumente encontrada na avicultura comercial. A ração por sua vez, em ambos os experimentos teve a mesma proveniência e a partida de milho, soja e demais ingredientes foi a mesma, até para que a influência de outros fatores além dos tratamentos não ocorresse nos experimentos.

Deve-se atentar para a presença de Aspergillus na ração oferecida aos frangos de corte, pois a produção de micotoxinas esta relacionada com o crescimento do fungo, mesmo que a presença de fungo não indique que necessariamente há micotoxinas no material analisado. (GONÇALEZ et al., 2001).

Dados como o Kobashigawa (2010) que ao analisar amostras de milho, ingrediente fundamental da ração oferecida aos frangos de corte, encontrou 100% das amostras de milho contaminadas por Aspergillus Spp. e das cepas encontradas 30% eram produtores de aflatoxinas. Huff et al., (1986) ressalta que os efeitos deletérios das aflatoxinas em frangos são maiores na fase inicial de criação, até os 21 dias de vida, porém o reflexo negativo sobre o ganho de peso é persistente até a fase final de criação, o que gera um pior desempenho produtivo destes animais ao final da criação.

Tabela 23 - Frequência de adequação da água de bebida dos animais coletada no bebedouro a RESOLUÇÃO CONAMA Nº. 396, de 03 de Abril de 2008, o Ministério da Agricultura e Abastecimento, através do Anexo II do Oficio Circular Conjunto DFIP – DSA nº 1 / 2008, de 16/09/ 2008

	Tratamento Europeu	Tratamento Comum	P*
Experimento 1			
Antes	100%(2/2)	100%(2/2)	1
Depois	50%(1/2)	0%(0/2)	0.2482
7 dias	50%(1/2)	0%(0/2)	0.2482
14 dias	100%(2/2)	0%(0/2)	0.0455
28 dias	100%(2/2)	100%(2/2)	1
42 dias	100%(2/2)	100%(2/2)	1
Experimento 2			
Antes	100%(2/2)	100%(2/2)	1
Depois	100%(2/2)	100%(2/2)	1
7 dias	100%(2/2)	100%(2/2)	1
14 dias	0%(0/2)	100%(2/2)	0.0455
28 dias	0%(0/2)	0%(0/2)	1
42 dias	0%(0/2)	0%(0/2)	1

*Teste do Qui-Quadrado com nível de significância de 5% (P<0,05)

Na tabela 23 podem ser observadas a frequência de adequação das amostras de água analisadas com a RESOLUÇÃO CONAMA Nº. 396, de 03 de Abril de 2008, o Ministério da Agricultura e Abastecimento, através do Anexo II do Oficio Circular Conjunto DFIP – DSA nº 1 / 2008, de 16/09/ 2008. No primeiro experimento houve efeito significativo apenas aos 14 dias de vida das aves sendo que o tratamento comum apresentou 100% das amostras adequadas para o consumo enquanto o tratamento comum não apresentou nenhuma amostra adequada. Já aos 14 dias do experimento 2 houve efeito significativo para a adequação das amostras ao consumo apenas para o tratamento Comum.

Nos demais períodos de coleta não houve efeito significativo para potabilidades das amostras, porém atenta-se que após os 28 dias de vida das aves não houve adequação no segundo experimento para ambos os tratamentos, o que parece ser uma data crítica na contaminação da água. Estes dados obtidos se assemelham aos de Barros et al. (2001) que ao pesquisar a contaminação de amostras de água coletadas de bebedouros pendulares foi a maior ao redor das quinta semana de criação das aves, fato este atribuído a uma maior aporte e acúmulo de matéria orgânica nos

bebedouros dificultando a limpeza e desinfecção e promovendo uma maior proliferação bacteriana.

Togashi et al., (2008) ao analisarem a água de bebida oferecida para poedeiras utilizaram como parâmetros a RESOLUÇÃO CONAMA Nº. 396, de 03 de Abril de 2008 para verificar a adequação microbiológica da água ao consumo das aves, as amostras foram coletadas de bebedouros tipo nipple e taça e em seus estudos puderam concluir que o bebedouro tipo taça possui maiores contaminações e influências negativas no desempenho destas aves. Estes resultados se assemelham com o presente estudo pois, assim como o bebedouro taça o tipo pendular também favorece o acúmulo de matéria orgânica e bactérias, depreciando a qualidade da água oferecida aos animais

Foram realizadas analises para a presença de Salmonella spp. nas amostras coletadas, porém todas foram negativas para este microorganismo. Por se tratar de um ambiente experimental, as aves são provenientes de incubatório que respeita normas de sanidade e biosseguridade, adoção de praticas de biosseguridade no período experimental, visando a mínima influência do ambiente externo no desenvolvimento experimental, estes podem ser considerados fatores desfavoráveis a contaminação por Salmonella spp., resultando na ausência deste patógeno durante o período experimental. Barros et al 2001 ao avaliar bebedouros e a água de dessedentação de frangos de corte quanto a coliformes totais, coliformes fecais, estreptococos fecais, Escherichia coli, organismos mesófilos e Salmonella spp., não encontrou nenhuma amostra contaminada por Salmonelas e atribuiu este resultado a ausência de animais contaminados no lote, o que corrobora com os resultados obtidos no presente estudo.

7 CONCLUSÕES

A. O desempenho produtivo dos animais submetidos aos tratamentos de limpeza e desinfecção Comum e Europeu, alojados sobre cama nova, não apresentou diferençasentre os tratamentos. O desempenho produtivo dos animais submetidos aos tratamentos de limpeza e desinfecção Comum e Europeu, alojados sobre cama reutilizada, notou-se melhor desempenho dos animais do tratamento Europeu.A reutilização da cama não descarta a realização dos programas de limpeza e desinfecção.

B. Em relação à microbiologia do ambiente o Tratamento Europeu mostrou maior eficiência na redução da carga microbiológica presente no ambiente.

C. No presente estudo não foi possível detectar a presença *de Salmonella Spp.*, utilizando o meio cromatogênico. Para *Clostridium Spp. e E. Coli* não foram encontrados resultados conclusivos, sugerindo estudos posteriores.

D. A presença de Aspergillus Spp. em ambientes destinados a criação de frangos de corte merece atenção devido a capacidade destes fungos em causar Aspergilose e produzirem aflatoxinas.

E. A análise das superfícies através da quantificação de ATP através da Bioluminescência mostrou-se vantajosa na avaliação da eficiência dos programas de limpeza e desinfecção como método complementar a microbiologia.

REFERÊNCIAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE EXPORTAÇÃO DE FRANGO**Relatório anual 2008/2009**. (2009)Disponível em: Http://www.abef.com.br/portal/_clientes/abef/cat/Abef%20RA_4021.pdf Acesso: em 05 out 2011

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE EXPORTAÇÃO DE FRANGO**Relatório anual 2009/2010**.(2010) Disponível em: http://www.abef.com.br/noticias_portal/down.php?arq=UkFfMjAxMC5wZGY Acesso em: 5 dez2012

ALBINO, L. F. T. Uso de prebióticos à base de mananoligossacarídeo em rações para frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 35, n. 3, p.742-749, 2006.

AMASS, S.F. Diagnosing disinfectant efficacy. **Journal of Swine Health Production**. v.12 n.2 p.82-83; 2004

ANDREATTI FILHO, R.L. Enfermidades micóticas. In: BERCHIERI JÚNIOR., A. & MACARI, M. (Ed.) **Doenças das aves**. Campinas:FACTA,2000 . p.369-378,

BARRIOS,P.R. Detecção do vírus da anemia infecciosa das galinhas em minas, 2009 58f. Dissertação (Doutorado em Ciência Animal).Universidade Federal de Minas Gerais,2009.

BARROS, L.S.S.; AMARAL, L.A.; ROSSI JR., O.D. Aspectosmicrobiológicos e demanda de cloro de amostras de água dedessedentação de frangos de corte coletadas em bebedourospendulares. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v.3, n.2,p.193-198, 2001.

BLOCK, S.SDefinition of terms. In: BLOCK, S.S. **Disinfection, Sterilization and Preservation**. 4.ed. Philadelphia: Lea & Febiger. p. 18- 25, 1991.

BRASIL, Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Portaria nº 210, de 26 de novembro de 1998. Aprova o Regulamento Técnico daInspeção Tecnológica e Higiênico Sanitária da Carne de Aves. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 26 nov. 1998. Sec. 1. p. 226.

CALNEK. B.W.; BARNES, H.J.; B EARD, C.W.; R EID, W.M.; & ODER JUNIOR, H.W. **Diseases of poultry**. Ames, Iowa: Iowa State University Press,.1997

CAMACHO,N. N, PRATES, D. F. & LIMA, A. S.(2008). Avaliação de salmonela spp. Em cama de aviário, em frangos e em carcaças de frango no sul do rio grande do sul após implementação do programa de redução de patógenos. In:Anais.. 2008, Pelotas. Anais do Encontro de pós-graduação e congresso de iniciação científica. p. 44 - 50.

CARDOSO, A.L.S.P.; TESSARI, E.N.C. Salmonela na segurança dos alimentos. **Biológico**, São Paulo, v. 20, n. 1, p.11-13, 2008.

CARDOSO, A.L.S.P. Avaliação da qualidade sanitária de incubatório por meio de placas de sedimentação. **Arquivos do instituto Biológico**, São Paulo, v.76, n.2, p.279-283, abr./jun, 2009

CARNEIRO, S. L. (2004) **Redes de referências para agricultura familiar do estado do Paraná**. Paraná: Londrina. Disponível em: http://www.emater.pr.gov.br/ Redesrefer/RM_AviculturaCorte_N.pdf. Acesso em: 6 mar 2012

CHANDER, Y., KUMAR, K., GUPTA, S., & GOYAL, S.M. Evaluation of CHROMagar Salmonella Medium for the Isolation of Salmonella from animal manure.**International Journal of Applied Research in Veterinary Medicine** Vol. 3, No. 1 p.35-39,2005.

CHOI, I. H. , KIM, J. N.; KWON, Y. M. Effects of chemical treatments on pH and bacterial population in poultry litter: a laboratory experiment, **British Poultry Science**, v. 49: n. 5, p. 497 — 501, 2008.

CHRISTENSEN, J. P.; SKOV, M. N.; HINZ, K. H.; BISGAARD, M. Salmonella enterica serovar Gallinarumbiovar gallinarum in layers: Epidemiological investigations of a recent outbreak in Denmark, **Avian Pathology**, v23 n.3, p. 489-50, 1994

CNSPA,.Centro Nacional de pesquisa de suínos e aves. (2007)**Materiais Alternativos em Substituição à Maravalha como Cama de Frangos**Concórdia: Embrapa Suínos e Aves, 2007. (Comunicado Técnico, n. 465). Disponível em: http://ns.cnpsa.embrapa.br/down.php?tipo=publicacoes&cod_publicacao=1058. Acesso em: 07 out 2010

COLDEBELLA, A. **Importância da higienização na produção avícola**. Concórdia: Embrapa Suínos e Aves, 2004. (Embrapa Suínos e Aves, Comunicado Técnico, 363).

COLVERO, L. P. **Micotoxicose em aves**. Dissertação - Mestrado 64f Universidade Federal de Mato Ggrosso do Sul, Campo Grande,2008.

CONY, H. C.;**Métodos de desinfecção e princípios ativos desinfetantes** 2007. 101 f. Tese (Mestrado) - Departamento de Zootecnia, Ufrgs, Porto Alegre.

CRAVEN, S.E.; COX N.A.; STERN, N.J.; MAULDIN J.M.; Prevalence of Clostridium perfringens in commercial broiler hatcheries. **Avian Disease**, n.45: p.1050-1053, 2001.

DEMASI, M. Anti-sépticos, desinfetantes, esterilizantes. In: VALE, L.B.S. et al. **Farmacologia Integrada: fundamentos farmacológicos da terapêutica**. São Paulo: Ateneu,1991. p. 576- 606.

DONOGHUE, DAN J.Evaluation Antibiotic Residues In Poultry Tissues and Eggs: Human Health Concerns. **Poultry Science,** n. 82, p.618-621, 2003.

EATON, A.D.; CLESCERI, L.S.; GREENBERG, A.E. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 19th ed. Washington, DC American Public Health Association. 1325 p, 1995.

EVANCHO, G.M., SVEUM, W.H., MOBERG, L.J., FRANK, J.F. Compendiummethods for the microbiological examination of foods (4ed.), Iowa, American Public Health Association, 2001 pp. 25–35

FERREIRA, H. C.(2008) O desafio da limpeza e desinfecção de galpões na avicultura, , CONFERÊNCIA APINCO– 2008, Santos**Anais**.. Santos: FACTA, 2008v. 10, pp.199-203.

FIORENTINI, L. **Entendendo a questão dos antibióticos promotores de crescimento em frangos.** Setembro 2005a. http://www.sna.agr.br/artigos/ 654/AVICULTURA.pdf Acesso em: 19 de nov de 2009

FIORENTINI, L**Aspectos bacteriológicos da reutilização da cama de aviários de frangos de corte,** 2005. Versão eletrônica Concordia: EMBRAPA Suínos e Aves,2005b p. 05. Disponível em: http://www.nordesterural.com.br/nordesterural/matler.asp?newsId=2833 Acesso em: 18 abr 2011

Fiorentin, L. A reutilização da cama de aviário no contexto do benchmarking. **Avicultura industrial** V.97, N.6 p. 12-18.2006

FLEMMING, J. S.; FREITAS, R. J. S.Avaliação do efeito de prebióticos (mos), probióticos (Bacillus licheniformis e Bacillus subtilis) e promotor de crescimento na alimentação de frangos de corte. **Archives Of Veterinary Science**, v. 10, n. 2, p.41-47, 2005.

FORTDODGE. **Biosseguridade em aves. Curso de Sanidade Avícola**,2008. Disponível em: http://www.fortdodge.com.br/15cursodesanida deavicola/ Acesso em: 4 maio 2011

GAMA, N. M. S. Q. Qualidade química e bacteriológicada água utilizada em granjas produtoras de ovos, 2005. 87f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias,Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2005

GONÇALEZ, E.; PINTO, M.M,; FELICIO, J.D. Análise de micotoxinas no instituto Biológico de 1989 a 1999. **Biológico** v. 63,n.1/2, p. 15-19, 2001

GONZALES, M. L Uso de Probiótico e Antibiótico sobre o Desempenho, o Rendimento e a Qualidade de Carcaça de Frangos de Corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 4, n. 29, p.1124-1131,2000.

GREZZI, G. Limpeza e desinfecção na avicultura.In: CONFERÊNCIA APINCO, Santos**. Anais**. Santos: FACTA, 2007

GRIFFITH, C. Improving surface sampling and detection ofcontamination. In: Lelieveld, H.L.; M. Mosterte, A.; Holah, J. **Handbook of hygiene control in the food industry**. Woodhead Publishing, Cambridge, 2005 chap. 36, p.588-618.

IRINO K, FERNANDES SA, TAVECHIO AT, NEVES BC, DIAS A.M.GProgression of Salmonella enteritidis phage type 4 strains in São Paulo State, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**; v.38: p193-196, 1996.

JAENISCH, F.R.F. (2003) Como e porque vacinar matrizes, frangos e poedeiras, 2003. (Circular Técnica No 36).

JAENISCH, F. R. F. Procedimentos de biosseguridade na criação de Aves, 2000. 5p. (Embrapa Suínos e Aves. Comunicado Técnico,248).

JORGE, M.A., MOUCHREK, E., CARNEIRO, M.I.F., RESENDE, J.S., MARTINS, N.R. (1995) Coliformes, umidade e produção de amônia em cinco tipos de cama de frango. In: Anais São Paulo: FACTA, 1995

KABIR, S. M. L. Avian colibacillosis and salmonellosis: a closer look at epidemiology, pathogenesis, diagnosis, control and public health concerns. International Journal of Environmental Research and Public Health, 7(1), 89-114, 2001. doi:10.3390/ijerph7010089

KA-OUD HA, ZAKIA MA, KAMEL MM. Evaluation of the immune response inAI vaccinated broiler chickens: effect of biosecurity faults on immune response. International Journal of Poultry Science, v7 p.390-396, 2008.

KAPETANOV, M. C.; POTKONJAK, D. V.; MILANOV, D. S.; STOJANOV, I. M.; BALOŠ, M. M. Z.; PRUNIC´, B. Z.Investigation of dissemination of aspergillosis in poultry and possible control measures.**Matica Srpska Proceedings for Natural Sciences** n.120, p. 269-278, 2011.

KOTTWITZ, L.B.M.; OLIVEIRA, T.C.R.M.; ALCOCER, I.; FARAH, S.M.S.S.; ABRAHÃO, W.S.M.; RODRIGUES, D.P. Avaliação epidemiológica de surtos de salmoneloses ocorridos no período de 1999 a 2008 no Estado do Paraná, Brasil. **Acta Scientiarum Health Sciences**, v.32, p.9-15, 2010.

KOBASHIGAWA, E. Ocorrência de aflatoxinas e fumonisinas em sistemas de produção de frangos de corte no estado de São Paulo, 2010. 115 f. Tese (Doutorado) - Departamento de Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2010.

LAUANDOS, I. P.; LIMA, E. A. (2007) A importância da desinfecção e do vazio sanitário entre lotes no desempenho do frango. Aveworld, 2007 Disponível em: http://www.aveworld.com.br/ default.php?acao=documento&cod=110 Acesso em: 2 nov 2010

LORENÇON, L.; NUNES, R.; POZZA, P.; POZZA, M.; APPELT, M.; SILVA, W. Utilização de promotores de crescimento para frangos de corte em rações fareladas e peletizadas. v29 n2. 2007. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, Disponível em:

http://periodicos.uem.br/ojs/index.php/ActaSciAnimSci/article/view/219/171 Acesso e: 25 jan 2012

LONG, J.R., DEWITT, W.F. & RUET, J.L. Studies onSalmonella from floor litter of 60 broiler chicken housesin Nova Scotia. **Canadian Veterinary Journal**, v. 21 p.91–94, 1980.

LONGO, F. A.; SILVA I.F; LANZARIN M.A. A importância do controle microbiológico nacadeia de produção de rações para aves. In: Simpósio Brasil Sul de Avicultura,11 e Brasil Sul Poultry Fair,2 , 2008 Chapecó – SC, 2008, p. 36-63.

MACARI, M.; FURLAN, R.L.; GONZALES, E. **Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte**. Jaboticabal : FUNEP/ UNESP,2002. 375p.

MAIORKA, A. Impacto da saúde intestinal na produtividade avícola. In: simpósio brasil sul de avicultura, 5., 2004, Chapecó. **Anais..** p. 119 - 129.

MENÃO, M. C., FERREIRA, C. S. A., CASTRO, A. G. M., KNOBL, T.; FERREIRA, A. J. P.Sorogrupos de. **Arquivos do Instiituto Biológico**, v. 69. n.4, p15-17, 2002.

MENDES, A. A; NASS, I. A; MACARI, M; **Produção de Frangos de Corte**. Campinas,FACTA, 2004.

MENDES, A.A.; PATRÍCIO, I.S. Controles, registros e avaliação do desempenho de frangos de corte. In: Mendes, A.A.; Naas, I.A.; Macari, M. **Produção de frangos de corte**. Campinas: FACTA, 2004. cap. 20, p. 323-335.

MERIANOS, J.J. Quaternary ammonium antimicrobial compounds. In: BLOCK, S.S. **Disinfection, Sterilization and Preservation**. 4th ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1991. p.225-255

MESQUITA, A.J.; BORGES, G.T.; NICOLAU, E.S.; SOUZA A.A.G.D. Estudoquali-quantitativo da microbiota anaeróbia em amostras de queijos provolone, parmesão e prato. **Ciência Animal Brasileira** v.2, p.27-34,2001.

MILTEMBURG G. (2000) Promotores e aditivos de crescimento em Avicultura. In:Conferencia apinco de ciência e tecnologia avicolas, 2000, Campinas. **Anais.**..Campinas: FACTA. p. 204-215.

MINHARRO S.; LINHARES, G.F.C.; ANDRADE M.A.; ROCHA P.T.; SANTANA A.T. Envolvimento de Escherichia coli, de Mycoplasma gallisepticum e de Mycoplasma synoviae em lesões de sacos aéreos em frangos abatidos no Estado de Goiás. **Ciência. Animal. Brasileira**.v2, p.111-117, 2001.

MORISHITA, T. Y. ; J. C. GORDON. **Cleaning and disinfection of poultry facilities**.Extension Fact Sheet VME-013-02 Ohio State University, 2002.

MULLER, I.A importância da limpeza e desinfecção nas granjas.2008 Disponível em: http://www.portaldoagronegocio.com.br/index.php?p= texto&&idT=878 Acesso em: 22 nov 2011

MURRAY, P. R. Microbiologia Médica. 4ª ed. São Paulo Elsevier, 2004

O'CONNOR, D.O.; RUBINO, J.R. Phenolic compounds. In: BLOCK, S.S.**Disinfection, Sterilization and Preservation**. 4ª ed. Philadelphia:Lea & Febiger., 1991 p.204-224.

OGDEN, I.D. & WATT, A.J. An evaluation of Fluorogenic and Chromogenic Assays for the Direct Enumeration ofEscherichia coli. **Letters in Applied Microbiology**, v.13, p. 212-215, 1991.

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

OUROFINO SAÚDE ANIMAL Programa de Limpeza e Desinfecção para a Indústria de Suínos e Aves,2004. Disponível em: http://www.ourofino.com/portal/files/programas/programa_limpeza_e_desinfeccao_.pdf. Acesso em: 06 jan 2012

PAIVA, J.C.A institucionalização da garantia do status sanitário na cadeia produtiva da avicultura de corte, 2006, 105fDissertação (Mestrado em Agronegócios).Universidade Federal de Mato Grosso do Sul,Campo Grande 2006.

PAYNE, J. B.; KROGER, E.C.; WATKINS S.E. Evaluation of Disinfectant Efficacy When Applied to the Floor of Poultry Grow-Out Facilities The Journal of **Applied Poultry Research**, n. 14, p.322-329, 2005.

PETERSON, C. A.; DVORAK, G.; SPICKLER , A. R. (2008) Maddie's infection control manual for animal shelters: for veterinary personel. Iowa: Pet Rescue Fundation,2008. C. 101, p. 42-64. Disponível em: <http://www.cfsph.iastate.edu/BRM/resources/Disinfectants/Disinfection101Feb2005.pdf>. Acesso em: 02 jun 2010

PLEYDELL, E. J., BROWN, P. E., WOODWARD, M. J., DAVIES, R. H., & FRENCH, N. P. Sources of variation in the ampicillin-resistant Escherichia coli concentration in the feces of organic broiler chickens. **Applied and environmental microbiology**, v.73, p. 203-10, 2007.

RICHARD, J.L. Fungal Infections. In: CALNEK. B.W.; BARNES, H.J.; B EARD, C.W.; R EID, W.M.; Y ODER JUNIOR, H.W. (Eds.). **Diseases of poultry**. Ames, Iowa: Iowa State University Press.1997, p.351-360.

RICHARDSON, K. E.; LONGO, F. A. (2008). A importância do controle microbiológico nacadeia de produção de rações para aves. In: Simpósio sobre Manejo e Nutrição de Aves e Suínos, 5 **Anais..** Cascavel – PR,CBNA, 2008 p. 149-160.

RISTOW, L.E. Desinfetantes e desinfecção em avicultura. Aveworld, v.10 n. 29, 2008.

ROSTAGNO, H.S. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. Viçosa, MG: Editora UFV,2005 141p.

RUSSELL, S. M. The effect of airsacculitis on bird weights, uniformity, fecal contamination, processing errors, and populations of Campylobacter spp. and Escherichia coli. **Poultry science**, v 82 n.8, p. 1326-31, 2003.

SANCHÉS-RUIZ. C.; ROYANO, M.S.; MONZON, I.T.An evaluation of efficience and impact of raw wastewater disinfection with peracetic acidprior to ocean discharge. **Water Science Technology**, v.32, n.7, p. 159-66, 1995.

SANTOS, B. M; MOURA, S. Y. G.; PENA, L. J.Avaliação da atividade antifúngica de alguns compostos recomendados para o tratamento de cama de aviário. **Revista Ceres**, Viçosa, p.365-368, 2008 Disponível em:<http://www.ceres.ufv.br/CERES/revistas/V55N005P05508.pdf>. Acesso em: 23 jun. 2011.

SANTOS, T.M.B., LUCAS JR, J., & SAKOMURA, N. K. Efeitos de densidade populacional e da reutilização da cama sobre o desempenho de frangos de corte e produção de cama**Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**v.100, p. 45-52,2005.

SEKIYAMA, B. L., FERRARI, G., & JUNIOR, M. M. Processos de descontaminação de rações contendo micotoxinas.**Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 8, n. 2, pp227-232, 2007

SESTI, L.A.C - Biosseguridade na moderna avicultura: O que fazer e o que não fazer, 2005 Disponível em: <http://www.engormix.com/biosseguridade_na_moderna_avicultura_p_ artigos_19_AVG.htm>Acesso em: 06 ago 2011

SILVA, EN; DUARTE, A. Salmonella Enteritidis em Aves: Retrospectiva no Brasil **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 4, n. 2, pp. 85-100 , 2002

SINGH R.V.; BHILEGAONKAR K.N.; AGARWAL R.K. Studies on occurrence and characterization of Clostridium perfringens from selected meats Journal of Food Safety, v. 8 n.3 pp. 146–156, 2005.

SOARES, N.M.; Quantidade e qualidade da água na produção de aves, 2010 Disponível em<http://pt.engormix.com/MA-vicultura/administracao/artigos/quantidade-qualidade-agua-producao-t304/124-p0.htm> Acesso em 6 abr 2012

SPINOSA, H., GORNIAK, S., BERNARDI, M. **Farmacologia Aplicada à Medicina Veterinária**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. Cap.35, p. 441-447.

STRINGFELLOW, K., ANDERSON P., CALDWELL D. , LEE J., BYRD J.,MCREYNOLDS J., CAREY J., NISBET D., FARNELL, M.Evaluation of desinfectants commonly used by commercial poultry industry under simulated field conditions. **Poultry Science**, v 12, n. 88, p.1151-1155, 2009.

TOGASHI, C. K.; ANGELA, H. L.; FREITAS, E. R. Efeitos do tipo de bebedouro sobre aqualidade da água e o desempenho e a qualidade dos ovos de poedeiras comerciais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, n. 8, p.1450-1455, 2008.

UNIVERSITY OF GEORGIA – AGROSECURITY(UGA). **Cleanning and Disinfection Premisses.**Georgia, 2005. 25 p. Disponível em: <http://www.agrosecurity.uga.edu/annexes/Annex09_Cleaning.pdf>. Acesso em 2 maio 2011

UNIÃO BRASILEIRA DE AVICULTURA – UBABEF **Relatório Anual2010 - 2011**., 2011. 72p. Disponível em: <http://www.uba.org.br/>. Acesso em: 20 jan 2012.

VAN IMMERSEEL,F.; DE BUCK, J.; PASMANS, F.; HUYGHEBAERT, G.; HAESEBROUCK, F.; DUCATELLE, R.; Clostridium perfringens in poultry: an emerging threat for animal and public health, **Avian Pathology**, v.33, n.6, p.537-549, 2004

VIEGAS, C., VIEGAS, S., VERÍSSIMO, C., ROSADO, L., & SANTOS, C. S. . Possíveis implicações da contaminação fúngicas num aviário, 17-23.Saúde & Tecnologia, p, 17-23, 2011 Disponível em: http://www.estesl.ipl.pt/Sites/estesl/Publico/ST_RecEd/GAM/S&T6_art3.pdf Acesso em: 12 mar 2012

VIEIRA, T. B. **Caracterização de escherichia coli isolados de miúdos e carcaça com celulite por rapd e detecção dos genes iss e fela por pcr**. 107 f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2010.

WALES, A.; BRESLIN, M.; DAVIES, R. Assessment of cleaning and disinfection in Salmonella-contaminated poultry layer houses using qualitative and semi-quantitative culture techniques. **Veterinary Microbiology**, v116: p283–293, 2006.

WARD, P.J.; FASENKO, G.M.; GIBSON, S.; MCMULLEN, M. A. Microbiological Assessment of On-Farm Food Safety Cleaning Methods in Broiler. Facilities **The Journal of Applied Poultry Research**, v. 10 n.15, p.326-332,2006.