

**INSTITUTO FEDERAL CATARINENSE**  
**Pró-reitora de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação**  
**Programa de Pós-Graduação em Produção e Sanidade Animal**



**Dissertação**

**Avaliação do sistema de desinfecção de substrato (maravalha) de cama de aviários por  
processo Fotohidroionização**

**Alessandra Appel**

**Araquari, 2020**

**Alessandra Appel**

**Avaliação do sistema de desinfecção de substrato (maravalha) de cama de aviários por  
processo Fotohidroionização**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção e Sanidade Animal do Instituto Federal Catarinense, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências (área de concentração: Produção e Sanidade Animal).

**Orientador: Vanessa Peripolli**

**Coorientador (es): Fabiana Moreira**

**Araquari, 2020**

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,  
através do Programa de Geração Automática do ICMC/USP, cedido ao IFC e  
adaptado pela CTI - Araquari e pelas bibliotecas do Campus de Araquari e Concórdia.

A111a Appel, Alessandra  
Avaliação do sistema de desinfecção de substrato  
(maravalha) de cama de aviários por processo  
Fotohidroionização / Alessandra Appel; orientadora  
Vanessa Peripolli; coorientadora Fabiana Moreira. --  
Araquari, 2020.  
51 p.

Dissertação (mestrado) - Instituto Federal  
Catarinense, campus Araquari, Programa de Pós-graduação  
em Produção e Sanidade Animal, Araquari, 2020.

Inclui referências.

1. Cama de aviário. 2. Biosseguridade. 3.  
Fotohidroionizador. 4. Sanitização. 5. Microrganismos  
Patogênicos. I. Peripolli, Vanessa , II. Moreira,  
Fabiana. III. Instituto Federal Catarinense. Programa  
de Pós-graduação em Produção e Sanidade Animal. IV.  
Título.

**ALESSANDRA APPEL**

**AVALIAÇÃO DO SISTEMA DE DESINFECÇÃO DE SUBSTRATO  
(MARAVALHA) DE CAMA DE AVIÁRIOS POR PROCESSO.**

Trabalho de Conclusão aprovado como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências, no Curso de Mestrado Profissional em Produção e Sanidade Animal, do Instituto Federal Catarinense.

Araquari/SC, 27 de julho de 2020.

**Autenticação eletrônica na Folha de Assinaturas**

---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Vanessa Peripolli  
Orientadora – IFC *Campus* Araquari

**BANCA EXAMINADORA:**

Prof. Dr. Ivomar Oldoni

Prof. Dr. Priscila Diniz Lopes



---

*Emitido em 27/07/2020*

**DOCUMENTOS COMPROBATÓRIOS - CAMPUS ARAQUARI Nº 7/2020 - DEPE/ARA (11.01.02.02.02)**  
**(Nº do Documento: 6)**

**(Nº do Protocolo: NÃO PROTOCOLADO)**

*(Assinado digitalmente em 19/10/2020 18:35 )*

VANESSA PERIPOLLI

PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO

CGES/ARA (11.01.02.39)

Matricula: 1085177

Para verificar a autenticidade deste documento entre em <https://sig.ifc.edu.br/documentos/> informando seu número: **6**,  
ano: **2020**, tipo: **DOCUMENTOS COMPROBATÓRIOS - CAMPUS ARAQUARI**, data de emissão: **19/10/2020**  
e o código de verificação: **4f63e3140a**

**Dedicatória**

**À minha família, pela inspiração e incentivos necessários para a  
concretização desta conquista.**

## **Agradecimentos**

Agradeço primeiramente a Deus, pelo dom da vida, por me conduzir para as oportunidades, como foi o mestrado, que surgiu na hora certa, no local certo e com as pessoas certas.

Gratidão a minha mãe Ivane por ser referência de garra e determinação - mesmo após 40 anos ainda estava preocupada se estava cumprindo os prazos determinados para conclusão do mestrado, mãe é mãe. Ao meu pai Ingo (*in memoriam*), mesmo não estando mais presente fisicamente deixou o seu legado de generosidade e cumplicidade, sendo até hoje muito presente em meus pensamentos e reflexões.

Ao meu marido Jônatas por ser fonte de inspiração na constante busca por aprender mais e não se acomodar buscando propósitos e motivações diárias na vida pessoal e profissional, sem dúvida a admiração é uma das bases de um relacionamento duradouro, te amo e admiro muito. A minha princesa Lisa, filha amorosa e compreensiva que me faz buscar constantemente ser melhor em tudo que eu faço para que eu possa ser um exemplo para ela não somente nas palavras, mas também nos gestos e atitudes, te amo incondicionalmente minha querida.

Agradeço a Professora Vanessa Peripolli, minha orientadora, por toda a dedicação e paciência, exercendo a sua função com leveza, motivando e participando ativamente na construção desse projeto, usando uma das premissas mais ricas de um líder: exacerbar as qualidades de seus liderados sem esquecer de lapidar as suas oportunidades de melhorias com sutileza.

Agradeço a professora Fabiana Moreira, minha coorientadora que se dispôs ajudar e clarear inúmeras vezes, dúvidas e questionamentos sempre com uma visão bastante técnica e imparcial. Agradeço Bruna, a estagiária, que mesmo não nos conhecendo pessoalmente foi muita voluntariosa em poder ajudar nos momentos que foi solicitada.

Gratidão a empresa Seara, que me concedeu essa oportunidade de realizar esse mestrado, apoiando de forma imparcial em todo o projeto. E como a empresa é feita de pessoas cito e agradeço de coração ao José Antônio Ribas, João Zuffo, Ivomar, Sabine,

Priscila e toda a equipe dos Laboratórios de Saúde Animal de São José e Nuporanga, que colaboraram na construção desse projeto.

Ao Magno da empresa Acqua Regis, fica meu agradecimento por ter encarado o desafio de participar desse projeto, comprando a ideia de montar o protótipo e se dispondo a participar de inúmeros questionamentos e esclarecimentos.

E para finalizar, não tinha como não agradecer a parceria dos colegas Vamiré e Márcia, certamente vocês deixaram o mestrado muito mais divertido. Parceria essa que iniciou no momento que o Vamiré se matriculou e me incentivou a encarar o desafio juntamente com ele e como coisas boas devem ser replicadas, acabou que eu estendi o convite para a Márcia em uma visita de trabalho em São José, valeu pessoal!



*Epígrafe*

**“Cada descoberta nova da ciência é uma porta nova pela qual encontro mais uma vez Deus, o autor dela”.**

**(Albert Einstein)**

## Resumo

APPEL, Alessandra. **Avaliação do sistema de desinfecção de substrato (maravalha) de cama de aviários por processo Fotohidroionização**. 2020. 60f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Curso de Pós-Graduação em Produção e Sanidade Animal, Pró-reitora de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação, Instituto Federal Catarinense, Araquari, 2020.

Os procedimentos implementados na avicultura, como o cuidado intensivo da limpeza e desinfecção das instalações e de todos os materiais que terão contato com os plantéis, são imprescindíveis para prevenção das enfermidades. Portanto, o objetivo do estudo foi avaliar a eficiência da Fotohidroionização (PHI) sobre a desinfecção de maravalha nova, utilizada como substrato para camas utilizadas em aviários comerciais. O experimento foi conduzido utilizando-se maravalha nova, esterilizada por autoclavagem e desafiada com inóculos pré-estabelecidos: bacteriano, fúngico e viral. Os agentes bacterianos selecionados foram cepas de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Salmonella enterica* sorovar Abony. O agente fúngico de eleição foi *Saccharomyces cerevisiae* e o agente viral utilizado foi uma estirpe de campo do vírus da doença de Gumboro (VDG). Foram utilizados 250 g de maravalha para cada repetição, desafiadas com 32 ml de inóculo bacteriano e fúngico e 10 ml de inóculo viral, sendo realizadas 6 repetições em quatro tempos distintos expostos à Fotohidroionização: 0, 1, 5 e 10 minutos. O processo de desinfecção foi realizado em um Fotohidroionização de bancada equipado com 4 lâmpadas ultravioletas. Os agentes inoculados na maravalha foram recuperados após o processo de desinfecção por meio das análises de bactérias totais e enterobactérias, cultura fúngica e título viral. Os dados foram submetidos ao teste de normalidade e as análises de regressão (REG) e regressão *broken line* (NLIN) utilizando o SAS. Foram observados valores médios de 4,48; 1,73; 1 e 0,66 UFC/g de enterobactérias; 3,48; 2,56; 1,70 e 1,77 UFC/g de bactérias totais; 3,80; 3,65; 3,51 e 3,38 UFC/g de fungos e 2,84; 2,38, 0 e 0 de título viral/100 g de maravalha nos tempos 0, 1, 5 e 10 minutos, respectivamente. As contagens de enterobactérias e bactérias totais apresentaram efeito quadrático, enquanto as contagens de fungos e vírus apresentaram efeito linear negativo com aumento no tempo do processo de Fotohidroionização. Foram observados para enterobactérias efeito platô de resposta linear (LRP,  $P < 0,0147$ ), com ponto de tempo mínimo de 5,46 (R) minutos na contaminação mínima de 0,66 UFC/g (L) com redução de 82,27% do inóculo pré-estabelecido, enquanto para bactérias totais efeito LRP ( $P < 0,0001$ ), com ponto de tempo mínimo 1,90 (R) minutos na contaminação mínima de 1,74 UFC/g (L) com redução de 50,00% do inóculo pré-estabelecido. Para fungos foi encontrado efeito LRP ( $P < 0,0002$ ), com ponto de tempo mínimo de 7,93 (R) minutos na contaminação mínima de 3,38 UFC/g (L) com redução de 11,00% do inóculo pré-estabelecido. Para vírus foi observado efeito LRP ( $P < 0,0001$ ), com ponto de tempo mínimo de 5,01 (R) minutos na contaminação mínima de 0 título viral/100 g de maravalha (L) com redução de 64,78% do inóculo pré-estabelecido. Portanto, a Fotohidroionização foi efetiva em eliminar completamente o agente viral e reduzir os agentes bacterianos e fúngico da maravalha nova, utilizada como substrato para camas utilizadas em aviários comerciais.

**Palavras-chave:** cama de aviário; biosseguridade; Fotohidroionizador; sanitização; microrganismos patogênicos.

## Abstract

APPEL, Alessandra. **Evaluation the disinfection of the new poultry litter substrate (shavings) by the Photohydroionization process.** 2020. 60f. Dissertation (Master degree in Science) - Curso de Pós-Graduação em Produção e Sanidade Animal, Pró-reitora de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação, Instituto Federal Catarinense, Araquari, 2020.

The procedures implemented in the farms, such as the intensive care of cleaning and disinfection of the facilities and all materials that will have contact with the animals are essential for disease prevention. Therefore, the aim of this study was to test the disinfection of shavings, used as substrate for litter used in commercial poultry houses, through Photohydroionization (PHI). The experiment was carried out with 15 kg of new shaving, sterilized by autoclaving and challenged with pre-established bacterial, fungal and viral inoculum. The bacterial agents selected were *Escherichia coli* strain, *Staphylococcus aureus* and *Salmonella enterica* serovar Abony. The fungal agent used was *Saccharomyces cerevisiae*, the viral agent was the Gumboro disease virus (IBDV) isolated from the field. For each batch, 250 g of shavings challenged with 32 ml of bacterial and fungal inoculum and 10 ml of viral inoculum were used, being performed 6 repetitions at four different times: 0, 1, 5 and 10 minutes. The disinfection process was performed in a benchtop Photohydroionization equipped with 4 ultraviolet lamps. The agents inoculated in the shavings were recovered after the disinfection process through the analysis of total bacterial and enterobacterial, fungal cultures and viral titer. The data were submitted to the normality test and the regression (REG) and broken line regression (NLIN) analyzes using the SAS. Mean values of reduction were observed, such as, 4,48, 1,73, 1,00 and 0,66 CFU/g of enterobacterial, 3,48; 2,56; 1,70 and 1,77 CFU/g of total bacterial, 3,80; 3,65; 3,51 and 3,38 CFU/g of fungal and 2,84; 2,38, 0 e 0 of viral title per 100 g of shavings at times 0, 1, 5 and 10 minutes, respectively. Enterobacterial and total bacterial counting showed a quadratic effect, while the fungal counting and viral titer showed a negative linear effect with an increase in the time of the Photohydroionization process. The linear response plateau (LRP) effect for enterobacterial ( $P < 0,0147$ ) was observed, with a minimum time point of 5,46 (R) minutes at minimum contamination of 0,66 CFU/g (L) with a reduction of 82,27% in the pre-established inoculum. For the total bacterial LRP effect ( $P < 0,0001$ ) was observed, with a minimum time point of 1,90 (R) minutes in the minimum contamination of 1,74 CFU/g (L) with a reduction of 50,00% in the pre-established inoculum. For the fungal was found LRP effect ( $P < 0,0002$ ), with a minimum time point of 7,93 (R) minutes in the minimum contamination of 3,38 CFU/g (L) with a reduction of 11,00% in the pre-established inoculum. For the viral LRP effect ( $P < 0,0001$ ) was observed, with a minimum time point of 5,01 (R) minutes in the minimum contamination of 0% viral title per 100 g of shavings (L) with a reduction of 64,78% in the pre-established inoculum. Therefore, Photohydroionization process was effective in completely eliminating the viral agent and reducing the bacterial and fungal agents of the new poultry litter, used as a substrate for poultry houses.

**Keywords:** poultry litter; biosecurity; Photohydroionizer; sanitization; pathogenic microorganisms.

## Lista de Figuras

- Figura 1 Vista superior (a) e vista lateral (b) do Fotohidroionizador de bancada utilizado para a desinfecção da maravalha nova (c) dimensões do Fotohidroionizador..... 13

## Lista de Tabelas

- Tabela 1 Contagem de enterobactérias, bactérias totais, fungos e vírus em maravalha desafiada e tratada com Fotohidroionização..... 18
- Tabela 2 Platô de resposta linear (broken line) entre o tempo do processo de Fotohidroionização e a contagem dos agentes em maravalha desafiada com *Escherichia coli*, *Salmonella* entérica sorovar Abony (Enterobactérias), *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enterica* sorovar Abony (Bactérias totais), *Saccharomyces cerevisiae* (Fungos), Vírus da Doença de Gumboro (Vírus)..... 19

## Lista de Abreviaturas e Siglas

ACM	Chapa de alumínio composto
ATCC	American Type Culture Collection
C	Efeito cúbico
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DR	Redução decimal
EPM	Erro padrão de média
Fe <sup>2+</sup>	Ferro (II)
Fe <sup>3+</sup>	Ferro (III)
[Fe(OH)] <sup>2+</sup>	Hidróxido de ferro (II)
H <sup>+</sup>	Hidrogênio
H <sub>2</sub> O	Água
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Hidroperóxido de hidrogênio
hν	Efeito fotoelétrico
L	Efeito linear
LCA	Líquido cório-alantóide
Log	Logaritmo
LRP	Linear Response Plateau
NLIN	Broken line
NTCC	National Collection of Type Cultures
OIE	Organização mundial da saúde
OH	Hidroxila
PHI	Fotohidroionização
POA	Processo de oxidação avançada
Pr>F	Probabilidade
Q	Efeito quadrático
R <sup>2</sup>	Coeficiente de determinação
REG	Análise de Regressão



RNA	Ácido ribonucleico
Rpm	Rotação por minuto
SAS	Statistical Analysis System
SPF	Livres de Patógenos Específicos
TiO <sub>2</sub>	Dióxido de Titânio
UFC	Unidade formadora de colônia
UV	Ultravioleta
VDG	Vírus da Doença de Gumboro

## Lista de Símbolos

<	Menor
>	Maior
+	Mais
©	Copyright
$\Sigma$	Somatório
spp.	Espécies
sp.	Espécie
kg	Quilograma
ml	Mililitro
g	Grama
Cm	Centímetro
Cfm	Pé cúbico por minuto
Nm	Nanômetro
Mm	Milímetro
°C	Graus Celsius
$\mu$ l	Microlitro
cm <sup>3</sup>	Centímetro cúbico

## SUMÁRIO

1 CONTEXTUALIZAÇÃO DO PROBLEMA E ESTADO DA ARTE .....	1
2 OBJETIVOS .....	7
Geral .....	7
Específicos.....	8
3 Título do Artigo: Avaliação do sistema de desinfecção de substrato (maravalha) de cama de aviários por processo Fotohidroionização. ....	8
3.1 Introdução.....	8
3.2 Material e Métodos .....	11
3.2.1 Comitê ético .....	11
3.2.2 Descrição do Fotohidroionização de bancada .....	12
3.2.3 Preparação da Maravalha .....	15
3.2.4 Descrição dos inóculos.....	15
3.2.5 Execução do processo de Fotohidroionização.....	16
3.2.6 Análise de enterobactérias e de bactérias totais .....	17
3.2.7 Análise fúngica .....	18
3.2.8 Análise Viral .....	18
3.2.9 Análise Estatística .....	18
3.3 Resultados.....	19
3.4 Discussão.....	22
3.5 Conclusão .....	25
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	26
5 REFERÊNCIAS .....	27

## 1 CONTEXTUALIZAÇÃO DO PROBLEMA E ESTADO DA ARTE

O agronegócio brasileiro é destaque no mundo, sendo o Brasil um dos principais países no comércio internacional de produtos agropecuários como a soja, o café e as carnes (MAPA, 2020). Esta participação brasileira no mercado mundial tem contribuído positivamente com o resultado da balança comercial (IBGE, 2018). No ano de 2019, a população ocupada no agronegócio brasileiro somou 18,3 milhões de pessoas, correspondendo a 19,6% da participação no mercado de trabalho (BARROS et al., 2020), demonstrando a grande importância do setor no país. Neste contexto, a produção avícola brasileira se destaca, tendo em vista que a avicultura ocupa posição relevante, com produção anual de 13,245 milhões toneladas de carne e consumo per capita de 42,84 kg/habitante/ano (ABPA, 2020).

O Brasil alcançou uma posição relevante no mercado mundial de frangos de corte, atualmente classificado como o maior exportador e terceiro maior produtor de carne de frango produzidas no ano de 2019 (ABPA, 2020). O sucesso da avicultura brasileira se justifica principalmente pela evolução de fatores ligados a evolução genética, nutrição e o manejo das aves (VALENTIM, et al., 2020). Dentre estes fatores, a qualidade e manejo da cama aviária se destaca por influenciar diretamente na produtividade das aves.

Em granjas, as camas aviárias são utilizadas para proporcionar o isolamento térmico e absorção da umidade, evitando o contato direto dos animais com o solo (BJEDOV et al., 2013), além de funcionarem como substrato para absorção de água e ração, incorporando a excreta dos animais (GRIMES et al., 2002; BILGILI et al., 2009). Sendo assim, a cama mantém o ambiente o mais adequado possível para que os frangos cresçam saudáveis e sem desenvolver lesões corporais e problemas locomotores (VALENTIM et al., 2020). Desta forma, o material ou substrato de cama não deve ser apenas absorvente de umidade, mas também ter um tempo de secagem razoável (GRIMES et al., 2002; BILGILI et al., 2009).

Diversos materiais podem ser utilizados como fonte de cama aviária e a escolha do material geralmente varia de acordo com a região (MONIRA et al., 2003; ŠKRBIC et al., 2012), podendo ser: serragem, maravalha, casca de arroz ou aveia, polpa ou bagaço de cana, palha picada, subprodutos de fábricas de papel, areia, aparas de madeira, espigas de milho e folhas secas (SWAIN e SUNDARAM, 2000). A maravalha é o material convencionalmente usado na avicultura, principalmente na região sul, por seu alto poder de absorção e boa disponibilidade (AVILA, et al., 1992), sendo um subproduto do beneficiamento de madeira de reflorestamento, obtida do “fio da serra”, com partículas de tamanho aproximado de 2 mm (DAÍ PRÁ et al., 2009).

Independente do material escolhido, a qualidade da cama é essencial na produção avícola, não somente porque afeta a saúde e a produtividade das aves (BILGILI et al., 2006; BJEDOV et al., 2013; GARCÊS et al., 2013), mas também por atuar como potencial reservatório e veículo de transmissão de enfermidades. Os manejos de cama adotados devem, além de diminuir a incidência de lesões, ser capazes de controlar o nível de umidade e produção de pó, prevenir a proliferação de insetos e reduzir a exposição a agentes transmissores de doenças (GARCIA et al., 2011). Idealmente, o material de cama tem que ser inócuo para aves e para o produtor (GRIMES et al., 2007).

Camas novas de maravalha podem chegar ao aviário com a elevada carga contaminante, muitas vezes superior à carga bacteriana das camas tratadas e reutilizadas dentro das granjas. Portanto, esta informação deve ser considerada na eleição do fornecedor das camas, pois revela que este substrato provavelmente está vindo contaminado da origem (SILVA, 2011). Muniz et al. (2014) testaram 1.280 camas de aviário por sete lotes, e observaram maior predominância de *Salmonella spp* nas camas dos primeiros lotes quando comparado com as camas dos demais lotes avaliados. Fanelli et al. (1970) observaram maior persistência de *Salmonella infantis* e *Salmonella Typhimurium* em camas novas quando comparadas com as reutilizadas, sugerindo a presença de substâncias ou microrganismos inibitórios na cama

reutilizada. Segundo Jorge (1990), a cama reutilizada apresentou níveis baixos de problemas sanitários e menor mortalidade em relação a cama nova. Para Cressman et al. (2010), a cama de frango influencia no estabelecimento da microbiota intestinal, pois ao compararem camas novas e reutilizadas, observaram que as camas novas continham mais bactérias ambientais e as aves criadas nessas camas abrigaram as bactérias oriundas dessa cama.

Para viabilizar o uso de materiais que são subprodutos de outras indústrias, uma das alternativas seriam os tratamentos químicos, entretanto, tais procedimentos não têm eficácia garantida, além de acarretar aumento significativo do custo de produção e apresentar certa complexidade de execução, considerando a disponibilidade de tempo para fazê-lo (FERREIRA, 2008).

A família *Enterobacteriaceae* constitui um grande grupo heterogêneo de bactérias gram negativas que podem ser encontradas no solo, na água e na vegetação, além de poderem ser encontradas na microbiota intestinal dos animais e do ser humano (PUERTA GARCÍA e MATEOS-RODRÍGUEZ, 2010). Dentro desta família de microrganismos, algumas bactérias se destacam por causarem doenças entéricas, tanto em humanos quanto em animais, como *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., *Proteus* spp., *Shigella* spp. e *Salmonella* spp. (BRASIL, 2013), sendo esta última, uma das bactérias mais importantes na avicultura.

A contaminação ambiental, principalmente no substrato de cama, exerce papel de importância na transmissão das salmoneloses para aves e ovos. De acordo com Silva e Duarte (2002), a salmonelose é uma zoonose importante para a saúde pública em todo o mundo, é endêmica, possui alta morbidade, é de difícil controle e praticamente de impossível erradicação. Além disso, o microrganismo está frequentemente envolvido em surtos de doenças de origem alimentar em diversos países, inclusive no Brasil (LIRIO et al., 1998; GERMANO e GERMANO, 2001).

Embora o *Saccharomyces cerevisiae* não seja conhecido por causar doença em aves, esse microrganismo foi selecionado como um indicador fúngico, sendo que a

cama de aviário pode ser também fonte de contaminação fúngica para as aves, e essa pode ocorrer durante a estocagem do material a ser utilizado como cama de aviário em depósitos (PAGANINI, 2004). Os fungos mais frequentemente encontrados nos materiais de cama de aviário são os do gênero *Aspergillus*, principalmente o *Aspergillus flavus* e *A. fumigatus*. As aves se contaminam ao inalarem os esporos, que podem estar presentes no material utilizado como cama, desenvolvendo a forma respiratória da aspergilose, enfermidade que é a mais grave e mais frequente dentre as causadas por *Aspergillus spp.* (SANTOS et al., 2001).

O vírus da doença de Gumboro (VDG) é um agente altamente resistente no ambiente e essa resistência é atribuída a presença de um capsídeo proteico resistente a variações de pH e calor, que envolve e protege seu material genético, o que o torna viável entre 60 a 100 dias no ambiente, e amplamente resistente a desinfecção química e física, o que dificulta sua erradicação e propicia o surgimento de potenciais surtos da doença na avicultura (FERREIRA, 2012). No geral, o vírus da doença de Gumboro (VDG) é recomendado como um modelo para prever a inativação de vírus menos resistentes durante tratamentos de cama como poxvírus, adenovírus, NDV, reovírus e influenza aviária (GUAN et al., 2010).

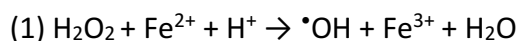
Neste âmbito, a utilização de substrato para cama de aves isenta de contaminantes biológicos e químicos é determinante na manutenção de plantéis com qualidade sanitária elevada. Tamanha é a preocupação com este item que, de acordo com o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), seguindo os preceitos da Organização Mundial da Saúde Animal (OIE), para certificar uma subpopulação, de matrizes e frangos de corte, com um status sanitário diferenciado para uma ou mais doenças específicas, há a necessidade ou exigência da utilização de substratos certificados (BRASIL, 2014).

Dentre a relação de medidas e procedimentos de biossegurança que constam como exigência para atingir a certificação de compartimento que favoreçam o controle de doenças e o comércio internacional, é obrigatório o uso de substrato de cama

produzido dentro da região delimitada geograficamente no compartimento e que tenha obrigatoriamente sido submetido a um tratamento térmico ou passado por um tratamento com eficácia cientificamente comprovada para inativação dos vírus de Influenza e Doença de Newcastle. Esse processo foi definido como tratamento de eleição pelo MAPA para atender supostamente a inativação dos principais patógenos de risco para avicultura mundial, como as salmoneloses, doença de Newcastle e Influenza Aviária (BRASIL, 2014).

Portanto, a desinfecção da maravalha antes da entrada nas granjas passa a ser fator determinante para evitar a entrada de contaminantes que podem ser carreados via esse substrato. Não obstante, este método exige corte de florestas específicas para produzir maravalha e a utilização de lenha para secagem via processo térmico, onerando a atividade e acarretando ônus ambiental ao processo produtivo. Com isso, assegura-se que a cama utilizada nos aviários possa estar isenta ou possuir baixa contaminação por fungos (BERCHIERI JUNIOR e MACARI, 2000).

O sistema de Fotohidroionização ou (PHI<sup>®</sup> - Photohydroionization), é uma tecnologia desenvolvida pela NASA – National Aeronautics and Space Administration, que tem como objetivo minimizar e neutralizar os poluentes do ar em ambientes fechados, como bactérias, vírus, mofo, gases e odores. Esse sistema tem como base a reação de Fenton, assim denominada por ter sido observada pela primeira vez por Henry John Horstman Fenton (FREIRE et al., 2000). A reação consiste em um método de oxidação avançada para degradação de poluentes orgânicos. Essa degradação ocorre através da produção de radicais de hidroxila pela interação de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e sais ferrosos (1) (RUPPERT, et al.; 1993), que fazem a oxidação dos compostos orgânicos (LEGRINI et al., 1993).

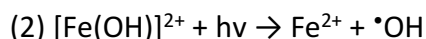


O poder de oxidação e degradação da reação de Fenton é aprimorado através da utilização de luz ultravioleta (UV), processo chamado de foto-Fenton. O PHI consiste em um processo de foto-Fenton que utiliza uma luz UV-C, de amplo espectro e alta



intensidade, direcionada para uma superfície pintada com um catalisador quad-metálico hidratado. A luz UV-C de amplo espectro reage com o catalisador e com a umidade encontrada no ar ambiental, para produzir um plasma de oxidação avançada que consiste em hidroperóxido, íons superóxido e íons hidróxido (MARS DEN et. al, 2012).

A ação dos fótons para produção dos oxidantes no processo de Fotohidroionização é complexa. A reação de Fenton (1) sem a utilização de luz UV tem como desvantagem o grande acúmulo de ferro, que desacelera a degradação dos poluentes. A luz UV-C presente no PHI evita essa desvantagem por provocar fotólise redutiva de  $[\text{Fe}(\text{OH})]^{2+}$  (2), ocasionando uma regeneração do  $\text{Fe}^{2+}$ , que catalisa a reação de Fenton (1) e produz OH adicional (BRILLAS, et al.; 2009).



Os oxidantes produzidos nesta reação realizam a degradação orgânica e desinfecção e, assim que entrarem em contato com o poluente, o eliminam não deixando qualquer tipo de traço residual (MARS DEN et. al, 2012). Cho et al., (2004), demonstraram uma correlação linear entre a quantidade de radical OH e a inativação da bactéria *E.coli*, o que comprova que a hidroxila produzida é o principal responsável pela inativação bacteriana em uma reação fotocatalítica. Além disso, os resultados indicam que o radical OH é aproximadamente mil a dez mil vezes mais eficaz para a inativação de *E. coli* do que outros desinfetantes químicos, como cloro, ozônio e dióxido de cloro, revelando assim o grande potencial desinfetante dos oxidantes, produto gerado pela Fotohidroionização.

O peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) e a irradiação de luz ultravioleta (UV) (KUO et al., 1997; COUFAL et al., 2003), componentes importantes do PHI, demonstraram ser métodos eficazes de higienização de superfícies de casca de ovo. A combinação de  $\text{H}_2\text{O}_2$  e irradiação UV (ultravioleta) como um processo de oxidação avançada representa uma importante alternativa aos convencionais sanitizantes químicos. O  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$  demonstrou-se efetivo para a inativação de bactérias vegetativas,

endósporos bacterianos e vírus (BAYLISS e WAITES, 1982; IKAI et al., 2010). A combinação de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/UV com oxidação, também tem demonstrado ser eficaz na redução de bactérias aeróbicas totais, *Salmonella enterica* sorovares Enteritidis e Typhimurium na superfície da casca de ovo (WELLS et al., 2010).

A luz ultravioleta (UV) é letal para maioria dos microrganismos existentes e é dividida em três subtipos de acordo com o comprimento de onda, sendo eles: UV-A (400 – 320 nm), UV-B (320–280 nm) e UV-C (100-280 nm). A luz UV-C é conhecida pelo seu potencial germicida e eliminação efetiva dos microrganismos (TURTOI e BORDA, 2014), pois causa uma reação fotoquímica nos ácidos nucleicos destas bactérias, levando a inativação celular (WELLS et al., 2010). Estudos relataram a eficácia da utilização de luz UV-C na redução de unidade formadora de colônias (UFC) de *S. Typhimurium*, bactérias anaeróbicas e mofo (Kuo et al., 1997), além de redução da população bacteriana incluindo a *Escherichia coli* (DE REU et al., 2005; BRANCO, 2017) na superfície das cascas de ovos. Sendo assim a Fotohidroionização é um método de desinfecção potencialmente promissor, pois alia as propriedades germicidas da luz UV e do peróxido de hidrogênio. Esta combinação de uma lâmpada UV de alta intensidade com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> poderá ser utilizada para esterilização rápida de superfícies e materiais por sua capacidade de inativar esporos das bactérias e fungos mais resistentes (BAYLISS e WAITES, 1982; WELLS et al., 2010).

## **2 OBJETIVOS**

### **Geral**

Avaliar a eficácia do processo de Fotohidroionização (PHI) na desinfecção de maravalha, utilizada como substrato para camas de aviários.

### **Específicos**

Validar o processo de Fotohidroionização em maravalha previamente esterilizada e contaminada com agentes patogênicos de interesse de controle na cadeia avícola.

Testar a capacidade de desinfecção da Fotohidroionização em quatro tempos determinados: 0, 1, 5 e 10 minutos sobre os agentes *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enterica* sorovar Abony, *Saccharomyces cerevisiae* e o vírus da doença de Gumboro.

### **3 Título do Artigo: Avaliação do sistema de desinfecção de substrato (maravalha) de cama de aviários por processo Fotohidroionização.**

#### **Autores**

Alessandra Appel<sup>1,3</sup>, João Zuffo<sup>3</sup>, Jônatas Wolf.<sup>3</sup>, Sabine Rippel Stahlhofer<sup>3</sup> Bruna Correia<sup>2</sup>, Fabiana Moreira<sup>1,2</sup>, Vanessa Peripolli<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Programa de Pós-Graduação em Produção e Sanidade Animal (PPGSA), Instituto Federal Catarinense, Campus Araquari, Araquari, SC, Brasil.

<sup>2</sup>Núcleo de Ensino, Extensão e Pesquisa em Produção Animal (NEPPA), Instituto Federal Catarinense, Campus Araquari, Araquari, SC, Brasil.

<sup>3</sup>Empresa Seara Alimentos Ltda, Itajaí, SC, Brasil.

#### **3.1 Introdução**

Na produção avícola, a qualidade e manejo da cama aviária se destaca por influenciar diretamente na produtividade das aves. Em granjas, as camas aviárias são utilizadas a fim de proporcionar o isolamento térmico e absorção da umidade,

evitando o contato direto dos animais com o solo, além de funcionarem como substratos para absorção de água e ração, incorporando a excreta dos animais (GRIMES et al., 2002; BILGILI et al., 2009). Ainda, a cama auxilia na redução das emissões de amônia (BJEDOV et al., 2013), mantendo o ambiente o mais adequado possível para o crescimento dos frangos de forma saudável, com menores índices de lesões corporais e problemas locomotores (VALENTIM et al., 2020).

Diversos materiais podem ser utilizados como fonte de cama aviária e a escolha do material geralmente varia de acordo com a região (MONIRA et al., 2003; ŠKRBIĆ et al., 2012). Frequentemente são utilizados materiais como serragem, maravalha, casca de arroz ou aveia, bagaço de cana, palha picada, subprodutos de fábricas de papel, areia, aparas de madeira, espigas de milho ou folhas secas (SWAIN e SUNDARAM, 2000).

Independente do material de escolha, a sua qualidade é essencial na produção do frango, não só porque afeta a saúde e a produtividade das aves (BILGILI et al., 2006; BJEDOV et al., 2013; GARCÊS et al., 2013), mas também por atuar como potencial reservatório e veículo de transmissão de enfermidades. Idealmente, o material de cama deve ser inócuo para as aves e para as pessoas (GRIMES et al., 2007).

A contaminação ambiental no substrato de cama exerce papel de importância na transmissão de bactérias, fungos e vírus para aves e ovos. Assim, a cama nova utilizada em lotes de frangos de corte pode atuar como fonte de contaminação por *Salmonella spp* (BHATIA et al., 1979). A salmonelose é uma zoonose importante para a saúde pública em todo o mundo, sendo endêmica, de alta morbidade, é de difícil controle, praticamente impossível de erradicar (SILVA E DUARTE 2002). Além disso, são responsáveis por consideráveis prejuízos econômicos para a indústria avícola (RIBEIRO, et al., 2009).

Os fungos mais frequentemente encontrados nos materiais de cama de aviário são os do gênero *Aspergillus*, principalmente o *Aspergillus flavus* e *A. fumigatus*. As aves se infectam ao inalarem os esporos, que podem estar presentes no material

utilizado como cama, desenvolvendo a forma respiratória da aspergilose, enfermidade fúngica que é a mais grave e mais frequente (SANTOS et al., 2001). A multiplicação fúngica ocorre principalmente durante a estocagem inadequada do material a ser utilizado como cama de aviário nos depósitos (PAGANINI, 2004).

O vírus da doença de Gumboro (VDG) é um agente altamente resistente no ambiente, e essa resistência é atribuída a presença de um capsídeo proteico resistente a variações de pH e calor, ainda, é amplamente resistente a desinfecção química e física, o que dificulta sua erradicação e propicia o surgimento de potenciais surtos da doença na avicultura (FERREIRA, 2012). No geral, o vírus da VDG é recomendado como modelo para prever a inativação de vírus menos resistentes durante tratamentos de cama, como poxvírus, adenovírus, vírus da doença de Newcastle (VNC), reovírus e ortomixovirus influenza (GUAN et al., 2010).

Dentre a relação de medidas e procedimentos de biosseguridade que constam como exigência para atingir a certificação de compartimento que favoreçam o controle de doenças e o comércio internacional, é obrigatório o uso de substrato de cama produzido dentro da região delimitada geograficamente no compartimento, e que tenha obrigatoriamente sido submetido a um tratamento térmico ou passado por um tratamento com eficácia cientificamente comprovada para inativação dos vírus de Influenza e Doença de Newcastle (BRASIL, 2014). Portanto, a desinfecção da maravalha antes da entrada nas granjas passa a ser fator determinante para evitar a entrada de contaminantes que podem ser carreados via esse substrato.

O sistema de Fotohidroionização ou (PHI® - Photohydroionization), é uma tecnologia desenvolvida pela NASA – National Aeronautics and Space Administration, que tem como objetivo minimizar e neutralizar os poluentes do ar em ambientes fechados, como bactérias, vírus, fungos, gases e odores. Esse sistema tem como base a reação de Fenton, que consiste em um método de oxidação avançada para degradação de poluentes orgânicos. Essa degradação ocorre através da produção de radicais de

hidroxila pela interação de peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) e sais ferrosos (RUPPERT, et al.; 1993), que fazem a oxidação dos compostos orgânicos (LEGRINI et al., 1993).

O PHI utiliza uma luz UV-C (100-280 nm) de amplo espectro e alta intensidade, direcionada para uma superfície pintada com um catalisador quad-metálico hidratado. A luz UV-C de amplo espectro reage com o catalisador e com a umidade encontrada no ar ambiental, para produzir um plasma de oxidação avançada que consiste em hidroperóxido, íons superóxido e íons hidróxido. Os oxidantes produzidos nesta reação realizam a degradação orgânica e desinfecção e, assim que entrarem em contato com o poluente, o eliminam não deixando qualquer tipo de traço residual (MARSDEN et al, 2012).

Estudos relataram a eficácia da utilização de luz UV-C na redução de unidade formadora de colônias (UFC) de *S. Typhimurium*, bactérias anaeróbicas e mofo (Kuo et al., 1997), além de redução da população bacteriana, incluindo a *Escherichia coli* (DE REU et al., 2005; BRANCO, 2017), em superfície das cascas de ovos. Sendo assim, a Fotohidroionização pode ser um método de desinfecção potencialmente promissor, pois alia conjuntamente as propriedades germicidas da luz UV de amplo espectro e de alta intensidade e do  $H_2O_2$ . Esta combinação pode ser utilizada para esterilização rápida de superfícies por sua capacidade de inativar esporos das bactérias e fungos mais resistentes (BAYLISS e WAITES, 1982; WELLS et al., 2010). Dessa forma, o objetivo deste estudo foi avaliar a Fotohidroionização na desinfecção de maravalha utilizada como substrato para cama em aviários.

## **3.2 Material e Métodos**

### **3.2.1 Comitê ético**

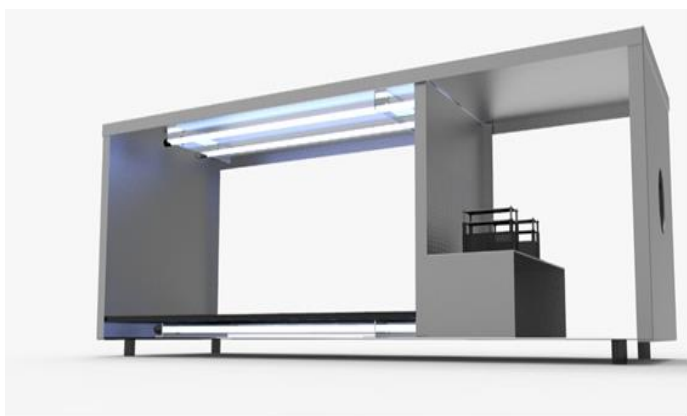
Os procedimentos realizados neste estudo foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais do Instituto Federal Catarinense (IFC) - Campus Araquari sob o protocolo nº 280/2018.

### 3.2.2 Descrição do Fotohidroionização de bancada

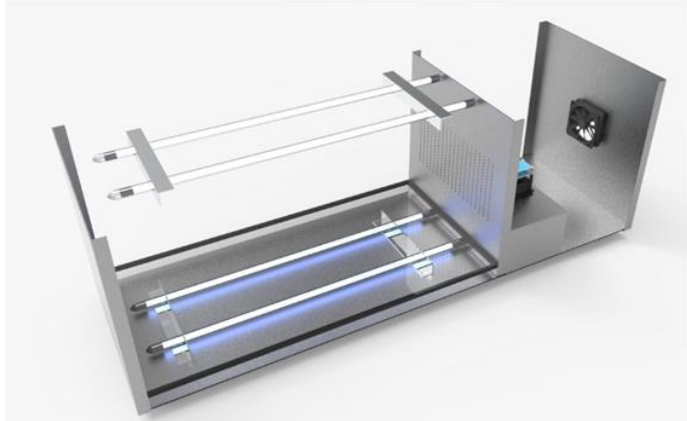
Foi utilizado um gerador de Fotohidroionização, equipamento de bancada fabricado com o intuito de testar a desinfecção através do processo de oxidação avançada (POA) denominado Fentox<sup>®</sup>, fazendo alusão ao processo oxidativo de Fenton, que consiste em uma maneira de produzir radicais hidroxila a partir de uma mistura de peróxido de hidrogênio e sais ferrosos, denominado de reação de Fenton (FREIRE et al., 2000).

O Fotohidroionização com dimensões de 50 x 50 x 150 cm, levou em sua constituição Chapas de Alumínio Composto (ACM). O equipamento foi dividido internamente em câmara de geração e câmara de contato, sendo que na câmara de geração foi instalado um ventilador de 120mm com capacidade de sugar o ar externo a uma velocidade de 1500 CFM, e dois reatores PHI de 16 gramas/hora cada. O ar succionado pelo ventilador, supria aos reatores PHI, como também, os mantinha arrefecidos na temperatura de trabalho ideal. Entre a câmara de geração e a câmara de contato, foi aplicado uma chapa de ACM perfurada, possibilitando a passagem do ar carregado com os agentes oxidantes. Na câmara de contato, foram instaladas quatro lâmpadas UV-C 55W de 254 nm cada uma, sendo aplicadas duas na tampa do equipamento, duas no fundo. A 13 cm do fundo do gabinete foi instalada uma placa de vidro de 3 mm incolor, que possibilitou a sustentação do material a ser esterilizado (Figura 1).

**Figura 1:** Vista superior (a) e vista lateral (b) do Fotohidroionizador de bancada utilizado para a desinfecção da maravalha nova (c) dimensões do Fotohidroionizador

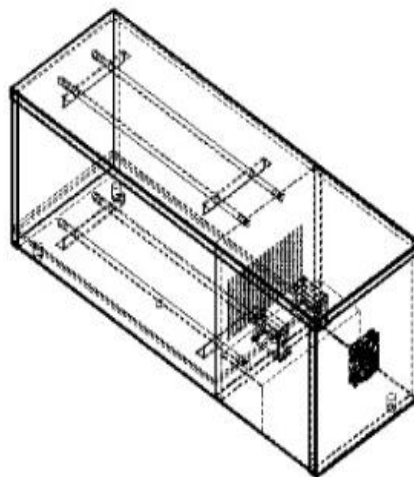


(a)



(b)





(c)

### 3.2.3 Preparação da Maravalha

Foram utilizados 15 kg de maravalha nova, previamente fracionada e pesada em porções de 250 gramas, acondicionadas em sacos de 20 litros, e posteriormente autoclavadas (esterilizadas) a uma temperatura de 121 °C durante 15 minutos, para eliminar possíveis interferências por contaminações desconhecidas.

### 3.2.4 Descrição dos inóculos

Foram utilizados inóculos bacterianos, fúngico e viral pré-estabelecidos. Os agentes bacterianos selecionados foram as cepas ATCC de *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) e NCTC de *Salmonella* Abony (NCTC 6017). O agente fúngico de eleição foi a ATCC de *Saccharomyces cerevisiae* (ATCC 9763). Enquanto que o agente viral utilizado foi uma estirpe isolada de campo do vírus da doença de Gumboro (VDG), fornecida pela Laboratório Simbios (9463).

Embora o *Saccharomyces cerevisiae* não seja conhecido por causar doença em aves, o agente foi selecionado neste estudo como um modelo experimental fúngico, visto que a cama de aviário pode ser também fonte de contaminação fúngica para as aves.

Os inóculos foram preparados previamente no Laboratório de Saúde Animal de São José – SC. As culturas foram, diluídas de forma seriada, sendo as bacterianas e fúngica padronizadas a partir da escala 0,5 MacFarland (aproximadamente  $1,5 \times 10^8$ ). Os inóculos foram preparados com concentrações aproximadas de  $1,5 \times 10^4$  UFC/ml. Após o preparo, foi realizado o plaqueamento para confirmação da concentração do inóculo por meio da contagem das unidades formadoras de colônias por mililitro (UFC/ml), de acordo com Silva et al. (2017).

Para preparar o inóculo de VDG, uma estirpe isolada de campo foi propagada em ovos embrionados livre de patógenos específicos (Specific Pathogen Free -SPF). Com o objetivo de obter um maior volume e maior concentração, o vírus foi propagado duas vezes. Na primeira propagação foram utilizados 10 embriões SPF com

10 dias de incubação, nos quais foram inoculados 0,2ml do vírus em cada ovo, por via cório-alantóide. Após 24 horas de inoculação viral, foi realizada a ovoscopia e os embriões mortos foram descartados (mortalidade inespecífica). Após 72 horas da inoculação, o líquido cório-alantóide (LCA) infectado por VDG foi coletado e congelado a  $-70^{\circ}\text{C}$ , para ser usado na segunda propagação viral.

Para a segunda propagação viral foram utilizados 70 ovos, onde repetiu-se as inoculações na membrana cório-alantóide embrionária e após 24 horas, dois embriões foram descartados por mortalidade inespecífica, restando 68 ovos para a coleta do líquido cório-alantóide (LCA) infectado, o qual foi congelado a  $-70^{\circ}\text{C}$ . Para a realização da titulação viral, foram utilizados ovos embrionados SPF com 10 dias de incubação. O LCA infectado com o VDG (100  $\mu\text{l}$ ) foi diluído de forma seriada em 900 $\mu\text{l}$  (1:10) de diluente de Marek, sete vezes (Correspondendo a diluição  $10^{-1}$  a  $10^{-7}$ ). Foram inoculados 0,2 ml das diluições de  $10^{-3}$  a  $10^{-7}$  por via cório-alantóide em 25 ovos (5 ovos para cada diluição). Nas primeiras 24 horas os embriões mortos foram descartados (mortalidade inespecífica). A mortalidade foi acompanhada durante 7 dias pós inoculação e registrados os números de embriões mortos para cada diluição. As lesões características provocadas pelo VDG nos embriões foram hemorragia e nanismo. Para a realização do cálculo do título viral, foi utilizado o método descrito por Reed e Muench (1938), chegando-se no título do inóculo de  $10^{4.79}$ .

### **3.2.5 Execução do processo de Fotohidroionização**

Os inóculos dos agentes bacterianos, fúngico e viral foram aspergidos sobre a maravalha esterilizada. Para cada repetição foram usados 250 g de maravalha, 32 ml de inóculo bacteriano, 32 ml de inóculo fúngico e 10 ml de inóculo viral, sendo que os grupos de agentes foram testados individualmente.

As inoculações foram realizadas dentro da capela de fluxo, com posterior homogeneização mecânica manual de 10 movimentações do inóculo mais maravalha, no saco de autoclave, devidamente fechado. O tempo de homogeneização do inóculo

na maravalha foi de aproximadamente 15 minutos. O processo de Fotohidroionização foi executado em diferentes períodos de tempo, sendo eles 0 (imediatamente após o processo de homogeneização); 1; 5 e 10 minutos, com 6 repetições para cada tempo.

A maravalha foi acomodada de forma laminar dentro do equipamento, então, o sistema foi acionado e os tempos cronometrados, sendo que na metade de cada tempo estabelecido, o equipamento era desligado e a maravalha revolvida manualmente de forma circular por 1 minuto para posterior finalização do processo dentro do tempo pré-estabelecido. Após o processo de desinfecção finalizado, toda a maravalha foi recolhida e embalada em pacotes estéreis para a posterior recuperação dos agentes inoculados.

### **3.2.6 Análise de enterobactérias e de bactérias totais**

Após o processo de desinfecção, 250 g de maravalha inoculada com os agentes bacterianos foram hidratadas com 2.250 ml de água peptonada e homogeneizadas manualmente. Foram realizadas diluições seriadas da suspensão de  $10^{-1}$  a  $10^{-5}$  e alíquotados 100  $\mu$ l em Ágar MacConkey para isolamento das enterobactérias (*Escherichia coli* e *Salmonella* Abony), e 1000  $\mu$ l em *Plate Count Agar* (PCA) para isolamento das bactérias totais, incluindo *Staphylococcus aureus*. As amostras foram incubadas a  $36 \pm 1^\circ\text{C}$  durante 48 horas para PCA e durante 18 a 24 horas para o Ágar MacConkey. A contagem foi definida por unidade formadora de colônias (UFC) de bactérias totais e de enterobactérias por grama de maravalha (UFC/ml), sendo realizadas as contagens de 30 a 300 colônias em placas, conforme Silva et al. (2007). As colônias remanescentes do Ágar MacConkey passaram por análise morfológica para identificar as bactérias predominantes, com posterior re-isolamento em Ágar MacConkey e confirmação com análise bioquímica no meio Rugai-Lisina.

### 3.2.7 Análise fúngica

A maravalha inoculada com o agente fúngico (*Saccharomyces cerevisiae*) após o processo de desinfecção foi hidratada com 2.250 ml de água peptonada para uma suspensão de 250 g de maravalha, e homogeneizada manualmente. As amostras foram diluídas até  $10^{-3}$  e inoculadas 100  $\mu$ l em meio de cultura seletivo do tipo *Potato Dextrose Ágar* (PDA), acrescido de ácido tartárico (10 ml/l) para posterior isolamento. As placas foram levadas a estufa por 4 dias a  $26 \pm 1^\circ\text{C}$ . Após incubação, foi realizada a contagem de colônias (UFC/ml).

### 3.2.8 Análise Viral

O processo de isolamento viral na maravalha após o processo de desinfecção se deu através da umidificação de 100 g de maravalha com 150 ml de *Brain Heart Infusion Broth* (BHI), em 100 ml de antibiótico na diluição de 1:10 (penicilina G potássica, estreptomicina, gentamicina, kanamicina e anfotericina B). Em seguida, a maravalha foi centrifugada a 4.500 rpm (rotações por minuto) por 10 minutos. As amostras foram filtradas utilizando um filtro de 0,22  $\mu$ m, o sobrenadante foi coletado, e diluído de forma seriada (1:10) até 4 vezes. Cinco ovos no 10º dia de incubação foram inoculados com cada diluição, totalizando 20 ovos para cada amostra de maravalha (5 para cada diluição). A mortalidade dos embriões foi acompanhada durante 7 dias, e a quantidade de mortes no final desse período foi atualizada para o cálculo de título viral, utilizando o método descrito por Reed e Muench, 1938.

### 3.2.9 Análise Estatística

Os dados foram analisados utilizando o software Statistical Analysis System (SAS Inst. Inc., Cary, NC, v.9,3) em delineamento inteiramente casualizado. A normalidade dos dados e homogeneidade dos resíduos foram avaliadas pelos testes de Shapiro-Wilk e Levene, respectivamente. Para avaliar os efeitos do tempo no processo de Fotohidroionização (0, 1, 5 e 10 minutos) sobre a inativação de bactérias, vírus e

fungos, os dados foram submetidos a análise de regressão (REG). A análise de regressão “*broken line*” (NLIN) foi realizada para descrever as mudanças na concentração de bactérias, vírus e fungos com o aumento do tempo no processo de Fotohidroionização.

### **3.3 Resultados**

Houve efeito do tempo no processo de Fotohidroionização para todos os agentes avaliados (Tabela 1). As contagens de enterobactérias e bactérias totais apresentaram efeito quadrático enquanto que as contagens de fungos e os títulos virais apresentaram efeito linear negativo com o aumento do tempo no processo de Fotohidroionização. Para o agente viral houve redução total dos títulos a partir de 5 minutos de ação.

Tabela 1. Contagem de enterobactérias, bactérias totais, fungos e vírus em maravalha desafiada e tratada com Fotohidroionização.

Agente	Tempo (minutos)				Média	EPM	R <sup>2</sup>	Pr>F			Equação de regressão
	0	1	5	10				L	Q	C	
<i>Escherichia coli</i> , <i>Salmonella</i> entérica sorovar Abony <b>(Enterobactérias, UFC/g log10)</b>	4,48	1,73	1	1,46	2,16	1,42	0,61	0,0039	0,0096	0,0531	$Y = 3,03080 - 0,67789x + 0,04468x^2$
<i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Salmonella</i> enterica sorovar Abony <b>(Bactérias totais, UFC/g log10)</b>	3,48	2,56	1,77	2,16	2,49	0,65	0,80	0,0048	0,0346	0,0689	$Y = 3,15007 - 0,46524x + 0,03291x^2$
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> <b>(Fungos, UFC/ g log10)</b>	3,80	3,65	3,38	3,54	3,59	0,17	0,65	0,0305	0,2477	0,2747	$Y = 3,70494 - 0,03384x$
Vírus da Doença de Gumboro <b>(Vírus, título viral/100g maravalha)</b>	2,84	2,38	0	0	1,30	1,26	0,98	0,0028	0,0586	0,1028	$Y = 2,32366 - 0,27618x$

EPM: erro padrão de média; R<sup>2</sup>: coeficiente de determinação; Pr>F: probabilidade; L: efeito linear; Q: efeito quadrático; C: efeito cúbico.

Foi observado para a variável enterobactérias efeito platô de resposta linear (LRP) ( $P < 0,0147$ ), com ponto de tempo mínimo de 5,46 (R) minutos na contaminação mínima de 0,66 UFC/mL log<sub>10</sub> (L) com redução de 82,27% do inóculo pré-estabelecido pelo processo de Fotohidroionização, sendo que as colônias remanescentes do Ágar MacConkey que passaram pelo re-isolamento e confirmação com análise bioquímica no meio Rugai-Lisina, foram confirmadas como de *Salmonella* entérica sorovar Abony, enquanto para bactérias totais um LRP ( $P < 0,0001$ ), com ponto de tempo mínimo 1,9 (R) minutos na contaminação mínima de 1,74 UFC/g log<sub>10</sub> (L) com redução de 50,00% do inóculo pré-estabelecido (Tabela 2). Para a variável Fungos foi encontrado efeito LRP ( $P < 0,0002$ ), com ponto de tempo mínimo de 7,93 (R) minutos na contaminação mínima de 3,38 UFC/ ml log 10 (L) com redução de 11% do inoculo pré-estabelecido. Para a variável vírus foi observado efeito LRP ( $P < 0,0001$ ), com ponto de tempo mínimo de 5,01 (R) minutos na contaminação mínima de 0,00 título viral/100 g de maravalha (L) com redução de 64,78% do inóculo pré-estabelecido pelo processo de Fotohidroionização (Tabela 2).

Tabela 2. Platô de resposta linear (broken line) entre o tempo do processo de Fotohidroionização e a contagem dos agentes em maravalha desafiada com *Escherichia coli*, *Salmonella* entérica sorovar Abony (Enterobactérias), *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* enterica sorovar Abony (Bactérias totais), *Saccharomyces cerevisiae* (Fungos), Vírus da Doença de Gumboro (Vírus).

Agentes	Broken line		R <sup>2</sup>	Pr > F	% redução
	L	R			
Enterobactérias, UFC/g log <sub>10</sub>	0,66	5,46	0,4	0,0147	85,27%
Bactérias totais, UFC/g log <sub>10</sub>	1,74	1,9	0,80	<0,0001	50,00%
Fungos, UFC/g log <sub>10</sub>	3,38	7,93	0,63	0,0002	11,00%
Vírus, título viral/100 g de maravalha	0,00	5,01	0,98	<0,0001	100,00%

L: representa a coordenada no eixo das ordenadas ; R: representa a coordenada no eixo das abcissas de um ponto de quebra (ponto de inflexão ou broken line); R<sup>2</sup>: coeficiente de determinação; Pr>F: probabilidade: % redução: considerando a concentração de inóculo no tempo zero e no ponto de inflexão.



### 3.4 Discussão

As enterobactérias possuem grande importância para a indústria avícola e saúde pública. Neste estudo a redução das enterobactérias foi acima de 80% com o processo de Fotohidroionização. Lucca et al. (2012) observaram que com a utilização de sulfato de alumínio, hidróxido de cálcio ou sulfato de cálcio para desinfecção da cama, não houve redução na contagem de UFC/g de enterobactérias. Kich et al (2004) testaram a eficiência de desinfetantes sobre *Salmonella* Typhimurium, onde a suspensão bacteriana (inóculo) inicial era de 10<sup>8</sup> unidades formadoras de colônia (UFC)/ml e a atividade desinfetante foi expressa por meio da redução decimal (DR) de 4 log (10<sup>4</sup>), observando uma queda de 50% na contaminação. Dos sete desinfetantes testados, na ausência de matéria orgânica, todos os desinfetantes foram eficazes.

As bactérias totais (*Staphylococcus aureus* e enterobactérias) tiveram uma redução de 50% com o processo de Fotohidroionização, condição menos satisfatória do que a encontrada por Neighbor et al., (1994), quando testou o efeito do peróxido de hidrogênio microaerossolizado em bactérias e vírus patogênicos de aves, onde houve reduções significativas no número das bactérias patogênicas testadas após exposição a 5% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Nos ensaios com *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, houve inativação completa após exposição ao H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, usando *Salmonella* Typhimurium, a exposição indireta resultou em inativação parcial, enquanto a exposição direta ao H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> resultou em inativação completa.

A maior redução bacteriana observada na contagem de Enterobacteriaceae pode estar relacionado ao fato desses microrganismos apresentarem características Gram-negativas, que são mais sensíveis à radiação ionizante do que as Gram-positivas (MIYAGUSKU, 2008). O que diferencia estes dois grandes grupos de bactérias é a estrutura da parede bacteriana responsável por conferir resistência mecânica às diferenças de osmolaridade entre os meios intra e extracelular. A parede celular é composta por peptidoglicano que nas bactérias Gram-positivas apresenta-se de forma espessa e nas Gram-negativas de forma mais fina (MOREIRA et al.,2015).

A redução do título viral do VDG foi o mais expressivo quando comparado com os demais agentes testados, pois a partir de cinco minutos de exposição ao processo de Fotohidroionização a eliminação do vírus foi completa, sendo um resultado satisfatório perante o VDG que é altamente infeccioso e resistente à inativação (Crespo et al, 2016).

Zhao, et al. (2013) analisaram um purificador de ar UV-PCO (oxidação fotocatalítica ultravioleta) em escala piloto quanto a sua eficiência na redução de *Enterococcus faecalis* e VDG em aerossol, e observaram que o purificador foi eficaz na eliminação de *E. faecalis* do ar, com redução de 99,7% das bactérias, enquanto para o VDG a eficiência na redução foi menos eficaz, com inativação de 72,4% do vírus no ar, podendo esta taxa de redução não ser alta o suficiente para garantir a segurança dos animais. No estudo de Harris (1987), os vírus em geral se mostraram mais resistentes a radiação ultravioleta do que as bactérias (*E. coli* e *S. faecalis*), pois a inativação de bactérias por UV resulta do processo de dimerização das bases de timina do DNA. Este processo também pode ser observado com o uracil dos RNA virais, porém não foi tão eficiente quanto o que ocorreu com as bactérias, explicando porque a redução bacteriana foi mais eficiente do que a viral, contrapondo o observado no presente estudo com o processo de Fotohidroionização.

Neighbor et al., (1994), quando testaram o efeito do peróxido de hidrogênio microaerossolizado 5% de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> em névoa de microaerossol obtiveram inativação completa do vírus causador da Laringotraqueíte Infecciosa das galinhas, porém em relação aos vírus da Doença de Newcastle, Bronquite Infecciosa e Influenza Aviária, apresentaram infectividade reduzida, mas não capaz de inativá-los completamente. Já na concentração de 10% de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> em névoa, os vírus apresentaram completa inativação. Turner (1983), citou que o modo de ação desinfetante do H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, que resulta da formação de um radical hidroxila livre é o que causa a oxidação dos lipídios da membrana, ácidos nucléicos e outros componentes celulares.

Neste estudo o fungo, representado pela levedura *Saccharomyces cerevisiae*, foi o que apresentou menor redução efetiva, isso pode ser explicado de acordo com os estudos de Siderius et al., (2000), no qual observaram que *S. cerevisiae* possui o potencial de resposta rápida e efetiva as mudanças do seu ambiente, podendo assim garantir a otimização da taxa de multiplicação e sobrevivência em circunstâncias adversas e com risco de vida. Gabriel (2012) demonstrou que as leveduras são mais resistentes a inativação pela luz UV-C do que a bactéria *E. coli*, pois a dose necessária para inativação da levedura *S. cerevisiae* foi 2,4 vezes maior do que para a população de *E. coli*. Guerrero e Barbosa (2005) testaram um sistema de desinfecção por luz UV quanto a resistência de *Saccharomyces cerevisiae*, *Listeria innocua* e *Escherichia coli*, após 30 minutos de tratamento, e observaram que a *S. cerevisiae* teve a redução 3,8 vezes quando comparado a *E. coli*, sendo também mais resistente do que *L. innocua*.

O tempo demonstrou ser um fator determinante no sucesso dos sistemas POA, Teodoro et al., (2017) estudaram processos oxidativos para avaliar a capacidade de desinfecção da água, utilizando UV, UV/TiO<sub>2</sub>, UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e UV/TiO<sub>2</sub>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Os processos UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e UV/TiO<sub>2</sub>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> alcançaram inativação máxima de coliformes totais e para *Enterococcus* obteve inativação total em 40 minutos, o processo UV/TiO<sub>2</sub> também alcançou inativação total em 90 minutos, os resultados foram semelhantes para *Pseudomonas aeruginosa*, evidenciando oportunidades de maior efetividade com a ascensão dos tempos de desinfecção.

O efeito quadrático observado para os agentes fungo e vírus, onde obtivemos redução até os 5 minutos com posterior aumento das unidades formadoras de colônias aos 10 minutos, pode ser associada a condição de apresentação estática do substrato sobre o Fotohidroionizador, fazendo com que o processo de Fotohidroionização não tivesse contato direto e uniforme com toda a maravalha desafiada integralmente, persistindo os agentes em locais aonde a irradiação não ocorreu de forma tão direta, condição semelhante à descrita por Neighbor et al., (1994), onde investigaram o efeito do H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> microaerosolizado a 5% em patógenos

bacterianos e virais de aves. Usando *Salmonella* Typhimurium, a exposição indireta resultou em apenas inativação parcial, enquanto a exposição direta ao  $H_2O_2$  apresentou inativação completa.

Cho et al., (2004), comprovaram que a hidroxila, presente nos hidróxidos, é o principal responsável pela inativação bacteriana em uma reação fotocatalítica. Além disso, os resultados indicam que o radical OH é aproximadamente mil a dez mil vezes mais eficaz para a inativação de *E. coli* do que outros desinfetantes químicos, como cloro, ozônio e dióxido de cloro, revelando assim o grande potencial desinfetante dos oxidantes, produto gerado pelo processo de Fotohidroionização.

A ação bactericida na radiação catalítica ionizante se baseia na ação do radical hidroxila no DNA das células, principalmente na desnaturação das proteínas (CHO et al., 2005). Esta carga elétrica causa alterações no DNA das células dos microrganismos, provocando alterações na estrutura celular ou funções fisiológicas, ocasionando na desnaturação de proteínas. Algumas células são inativadas e as que sobrevivem, podem replicar o DNA alterado, e as que não têm capacidade de reparar tais danos, morrem. A ação do peróxido de hidrogênio e do radical hidroxila no DNA dos microrganismos causam quebras das ligações químicas e leva à perda da capacidade da célula de se replicar. Uma alteração pequena no DNA de uma célula bacteriana pode destruí-la (TEZOTTO-ULIANA et al. 2014).

### **3.5 Conclusão**

O processo de Fotohidroionização na desinfecção de maravalha nova utilizada como substrato em camas de aviários tem potencial parcial como ferramenta de controle microbiológico, haja visto que a redução completa dos agentes utilizados ocorreu somente para o VDG, enquanto que para os demais microrganismos, obtiveram-se somente reduções das cargas bacterianas e fúngicas.

Assim, sabendo que nas condições de campo são necessárias a eliminação completa de bactérias, vírus e fungos, seriam necessárias mudanças no equipamento, tais como a movimentação da maravalha durante o processo de Fotohidroionização.

#### **4 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

A utilização do Fotohidroionização, onde se faz necessária a eliminação completa de bactérias e fungos, está condicionada à ajustes protocolares, levando em consideração a capacidade da área a ser desinfetada ( $\text{cm}^3$ ), o nível de irradiância, o tempo de contato, as concentrações de matéria orgânica e a suscetibilidade dos microrganismos alvos.

O presente trabalho permitiu um conhecimento mais aprofundado nos Processos Oxidativos Avançados (POA), expandindo a oportunidades para aplicação na agroindústria como substituto de meios de desinfecção convencionais em outros insumos, substratos e materiais inertes.

## 5 REFERÊNCIAS

ABPA - Associação Brasileira de Proteína Animal. Relatório Anual 2020. <http://abpa-br.org/abpa-lanca-relatorio-anual-2020/>. Acesso em: 04 jul. 2020.

AVILA, V. S. de; MAZZUCO, H.; FIGUEIREDO, E. A. P. de. Cama de aviário: materiais, reutilização, uso como alimento e fertilizante. Circular técnica, n. 16, EMBRAPA-CNPSA, 1992.

BARROS, G.S.C.; CASTRO, N.R.; MORAIS, A.C.P.; MACHADO, G.C.; ALMEIDA, F.M.S.; ALMEIDA, A.N. Boletim mercado de trabalho do agronegócio brasileiro. Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada (CEPEA) e Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz (FEALQ). Piracicaba, n.4, 2020.

BAYLISS, C.E.; WAITES, W.M.; Effect of simultaneous high intensity ultraviolet irradiation and hydrogen peroxide on bacterial spores. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 17, n. 4, p. 467-470, 1982.

BERCHIERI, J. A.; MACARI, M. **Doenças das aves**. 1a ed. Campinas, FACTA. 490p, 2000.

BILGILI, S. F.; ALLEY, M. A.; HESS, J. B. AND NAGARAJ, M. Influence of age and sex on footpad quality and yield in broiler chickens reared on low and high-density diets. *Journal of Applied Poultry Research* 15:433-441. 2006.

BILGILI, S.F.; HESS, J.B.; BLAKE, J.P.; MACKLIN, K.S.; SAENMAHAYAK, B.; SIBLEY, J.L. Influence of bedding material on footpad dermatitis in broiler chickens. **The Journal of Applied Poultry Research** 18:583–589, 2009.

BHATIA, T.R.; McNABB, G.D.; WYMAN, H.; NAYAR, G.P. Salmonella isolation from litter as an indicator of flock infection and carcass contamination. **Avian Diseases**, v. 23, n. 4, p. 838-847, 1979.

BJEDOV, S.; ŽIKIĆ, D.; PERIĆ, L.; ĐUKIĆ STOJČIĆ, M. AND MILOŠEVIĆ, N. 2013. Effect of different litter treatments on production performance of broiler chickens. *Biotechnology in Animal Husbandry* 29:625-630, 2013.

BRANCO, José Renato de Oliveira. **Eficiência da luz ultravioleta na desinfecção de ovos férteis de reprodutoras pesadas**. 2017. 46 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Animais) - Universidade de Brasília, Brasília, 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. Detecção e Identificação de Bactérias de Importância Médica. Módulo VI, 2013. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/manuais/microbiologia.asp>>. Acessado em: 5 mar. 2017

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento – MAPA. Instrução Normativa nº 21, de 21 de outubro de 2014. Lex: Estabelecer as normas técnicas de Certificação Sanitária da Compartimentação da Cadeia Produtiva Avícola das granjas de reprodução, de corte e incubatórios, de galinhas ou perus, para a infecção pelos vírus de influenza aviária - IA e doença de Newcastle – DNC, Brasília, DF, 2014.

BRILLAS, Enric; SIRÉS, Ignasi; OTURAN, Mehmet A. Electro-Fenton process and related electrochemical technologies based on Fenton's reaction chemistry. **Chemical reviews**, v. 109, n. 12, p. 6570-6631, 2009.

CHO, Min et al. Linear correlation between inactivation of E. coli and OH radical concentration in TiO<sub>2</sub> photocatalytic disinfection. **Water research**, v. 38, n. 4, p. 1069-1077, 2004.

CRESSMAN, M.D.; YU, Z.; NELSON, M. C.; MOELLER, S. J.; LILBURN, M. S.; ZERBY, H. N. Interrelations between the microbiota in the litter and in the intestines of commercial broiler chickens. **Applied and Environmental Microbiology**. 76, 6572-6582, 2010.

CRESPO, R.; BADCOE, L.M; WILLIAMS, C.; BARY, A.I. Inactivation of Infectious Bursal Disease Virus Through Composting of Litter from Poultry Houses. **Avian Diseases**, vol.60(2), pp.506-10, 2016.

COUFAL, C. D.; CHAVEZ, C.; KNAPE, K. D.; CAREY, J. B. Evaluation of a Method of Ultraviolet Light Sanitation of Broiler Hatching Eggs. *Poultry Science* 82:754–759, 2003.

DAI PRÁ, M. A., CORRÊA, E. K., CORRÊA, L. B., LOBO, M. S., SPEROTTO, L., MORES, E. Compostagem como alternativa para gestão ambiental na produção de suínos. Ed. EVANGRAF, Porto Alegre, RS, 2009.

DE REU, K.; GRIJSPEERDT, K.; HERMAN, L.; HEYNDRIKX, M.; UYTENDAELE, M.; DEBEVERE, J.; PUTIRULAN, F.F.; BOLDER, N.M. The effect of a commercial UV disinfection system on the bacterial load of shell eggs. **Letters in applied microbiology**, v. 42, n. 2, p. 144-148, 2005.

FANELLI, M.J.; SASLER, W.W.; BROWNELL, J.R. Preliminary studies on persistence of salmonellae in poultry litter. **Avian Diseases**, v.14, n.1, p.131-41, 1970.

FERREIRA, H.C. O desafio da Limpeza e Desinfecção de Galpões na Avicultura. In. CONFERÊNCIA APINCO, 2008. Anais Simpósio sobre Bem-Estar de Frangos e Perus. Santos: APINCO, 2008. p.199-203, 2008.

FERREIRA, P.W. **Comparação da resposta imunológica de aves vacinadas ou não com imuno complexos do vírus da Doença de Gumboro desafiadas aos 21 ou 28 dias de idade com uma cepa forte. 2012.** 85f. Dissertação (Mestrado – Ciências Veterinárias) – Universidade Federal do Paraná (UFPR), Curitiba, 2012.

FREIRE, R.S.; PELEGRINI, R.; KUBOTA, L.T.K.; DURAN, N.; ZAMORA, P.P. Novas tendências para o tratamento de resíduos industriais contendo espécies organocloradas. *Química Nova*. v. 23, n. 4, p. 504 – 511, 2000.

GABRIEL, A. A. Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 and spoilage yeasts in germicidal UV-C-irradiated and heat-treated clear apple juice. *Food Control*, 25(2), 425–432, 2012.

GARCÊS, A.; AFONSO, S. M. S.; CHILUNDO, A. AND JAIROCE, C. T. S. Evaluation of different litter materials for broiler production in a hot and humid environment: 1. Litter characteristics and quality. ***Journal of Applied Poultry Research***, 22:168-176, 2013.

GARCIA, R. G.; PAZ, I. C. L. A.; CALDARA, F. R. Papel da cama na produção e bem estar de frangos de corte. *Revista Avisite*, v. 47, p. 46-50, 2011.

GERMANO, P.M.L.; GERMANO M.I.S. Higiene e vigilância sanitária de alimentos. São Paulo: Varela. Ed. 2001. p.629, 2001.

GRIMES, J. L.; CARTER, T. A.; GERNAT, A. E. AND GODWIN, J. L. A novel bedding material made from cotton waste, gypsum, and old newsprint for rearing turkeys. ***Journal of Applied Poultry Research*** 16:598-604, 2007.

GRIMES, J. L.; SMITH, J., WILLIAMS, C. M. Some alternative litter materials used for growing broilers and turkeys. *World's Poultry Sci. J.* 58:515–526, 2002.

GUAN, J.; CHAN M.; BROOKS, B.W.; SPENCER, J.L. Infectious bursal disease virus as a surrogate for studies on survival of various poultry viruses in compost. ***Avian Diseases***, 54, p.919-922, 2010.

GUERRERO B.J.A.; BARBOSA, C.G.V. Reduction of *Saccharomyces cerevisiae*, *Escherichia coli* and *Listeria innocua* in apple juice by ultraviolet light. ***Journal of Food Process Engineering***, 28(5), 437–452, 2005.



HARRIS, G. D.; ADAMS, V. D.; SORENSEN, D. L.; CURTIS, M. S. Ultraviolet inactivation of selected bacteria and viruses with photoreactivation of the bacteria. *Water Research*, 21(6), 687–692, 1987

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em: <https://brasilemsintese.ibge.gov.br/agropecuaria.html>. Acesso 14 out. 2018.

IKAI, H.; NAKAMURA, K.; SHIRATO, M.; KANNO, T.; IWASAWA, A.; SASAKI, K.; NIWANO, Y.; KOHNO, M. Photolysis of Hydrogen Peroxide, an Effective Disinfection System via Hydroxyl Radical Formation. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. Vol. 54, No. 12 Dec. 2010, p. 5086–5091, 2010.

JORGE, M.A. Cama de frangos de corte: como fazer dela sua aliada na prevenção de enfermidades. In: Conferência de ciência e tecnologia avícola, 1990, Campinas. **Anais...** Campinas: Associação Brasileira dos Produtores de Pintos de Corte, 1990. p.21-28, 1990.

KICH, J.D.; BOROWSKY, L.M.; SILVA, V.S.; RAMENZONI, M.; TRIQUES, N.; KOOLER, F.L.; CARDOSO, M.R.I. Evaluation of the antibacterial activity of six commercial disinfectants against *Salmonella Typhimurium* strains isolated from swine. **Acta Scientiae Veterinariae**. 32(1): p. 33 - 39, 2004.

KUO, F.L.; CAREY, J.B.; RICKE, S.C.; UV irradiation of shell eggs: Effect on populations of aerobes, molds, and inoculated *Salmonella Typhimurium*. **Journal of Food Protection**, v. 60, n. 6, p. 639-643, 1997.

LEGRINI, O.; BRAUN, A.M. Photochemical Processes for Water Treatment. *Chemical Reviews*, 1993. v. 93, n. 2, p. 671-698, 1993.

LÍRIO, V. S.; SILVA E. A; STEFONI, S. Frequência de 17 sorotipos de *Salmonella* isolados em alimentos. *Higiene Alimentar*, v.12, p. 36-42, 1998.

LUCCA, W.; CECCHIN, R.; TIMBOLA. E. et al. Efeito de diferentes tratamentos químicos em cama para aves de corte. **Revista Agrogeoambiental**, v. 4, p.25-31, 2012.

MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 2020. Disponível em: <<http://indicadores.agricultura.gov.br/index.htm>>. Acesso em: 29 de abril de 2020.

MARSDEN, J.; FINK, R.G.; ELLIS, W.B. Hydro-Peroxide for Indoor Air Quality, 2012. <https://www.rgf.com/wp-content/uploads/2016/02/Hydroperoxide-for-IAQ.pdf?x12494>. Acesso em: 05 jul. 2020.

MIYAGUSKU, L.; CHEN, F.; LEITÃO, M. F.; F.; BAFFA, O. Avaliação microbiológica e sensorial da vida-útil de cortes de peito de frango irradiados. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 23, p. 7-16, 2003.

MONIRA, K. N.; ISLAM, M. A.; ALAM, M. J. AND WAHID, M. A. Effect of litter material on broiler performance and evaluation of manurial value of used litter in late autumn. Asian-Australasian. **Journal of Animal Sciences**, 16:555-557, 2003.

MOREIRA, J. L. B.; CARVALHO, C. B. M. DE.; FROTA, C.C. Visualização bacteriana e colorações. 1. ed. Fortaleza: Imprensa Universitária da Universidade Federal do Ceará (UFC), 2015.

MUNIZ E.; MESA D.; CUASPA R.; SOUZA A.M.; SANTIN E. *Presence of Salmonella spp. in reused broiler litter*. **Revista Colombiana de Ciências Pecuárias**, 27:12-27, 2014.

NEIGHBOR, N. K.; NEWBERRY, L. A.; BAYYARI, G. R.; SKEELES, J. K.; BEASLEY, J. N.; McNEW R. W. The Effect of Microaerosolized Hydrogen Peroxide on Bacterial and Viral Poultry Pathogens. Environment and health. **Poultry Science**, 73:1511-1516, 1994.

PAGANINI F.J. Manejo da cama. In: MENDES A.A, NAAS I.A, MACARI M. (Eds) Produção de frangos de corte. Campinas, FACTA. p.107-116, 2004.

PUERTA-GARCÍA, A.; MATEOS-RODRÍGUEZ, F. Enterobacterias. *Medicine*, 10, 3426-3431, 2010.

REED, L. J.; MUENCH A. H. A simple method of estimating fifty per cent endpoints l'2. **The American Journal of Hygiene**, v. 27, No. 3, MAY, 1938.

RIBEIRO, S.A.M.; PAIVA, J.B.; ZOTESSO, F.; LEMOS, M.V.; BERCHIERI, A.J. Molecular differentiation between *Salmonella* entérica subsp entérica serovar Pullorum and *Salmonella* entérica subsp entérica serovar Gallinarum. **Brazilian Journal of Microbiology**, 40: 184–188, 2009.

RUPPERT, G.; BAUER, R.; HEISLER, G. The photo-Fenton reaction—an effective photochemical wastewater treatment process. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, v. 73, n. 1, p. 75-78, 1993.

SANTOS, B.M.; FARIA, J.E.; RIBEIRO, V.V. Principais doenças bacterianas das aves, Cadernos Didáticos, 1ª Ed. Viçosa, UFV. p.47, 2001.

SIDERIUS, M.; WUYTSWINKEL, O.V.; REIJENGA, K.A.; KELDERS, M.; MAGER, W.H. The control of intracellular glycerol in *Saccharomyces cerevisiae* influences osmotic stress

response and resistance to increased temperature. **Molecular Microbiology**. p.1381-1390, 2000.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.J.A.; SILVEIRA, N.F.A. Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e Água, 5 ed. Editora Blucher, 2017.

SILVA, E.N.; DUARTE A.; *Salmonella* Enteritidis em Aves: Retrospectiva no Brasil. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, Campinas, v. 4.2, 2002.

SILVA, V.S. Métodos e segurança sanitária na reutilização de cama de aviários. Manejo ambiental na avicultura, Embrapa Suínos e Aves (CNPISA), p. 192, 2011.

ŠKRBIĆ, Z.; PAVLOVSKI, Z.; LUKIĆ, M.; PETRIČEVIĆ, V. AND MILIĆ, D. The effect of lighting program and type of litter on production and carcass performance of two broiler genotypes. **Biotechnology in Animal Husbandry** 28:807-816, 2012.

SOUZA, A. V. C. de.; LIMA, C. A. R. de.; SILVA, A. A. da.; GREGORUT, F. P. Alternativas ao uso de antibióticos como aditivos promotores de crescimento em Frangos de corte. **Ciência Animal Brasileira**, 10, 18-28, 2009.

SWAIN, B. K.; SUNDARAM, R. N. S. Effect of different types of litter material for rearing broilers. **British Poultry Science**, 41:261-262. *Pluimveehouderij* 42/7. p. 3031, 2000.

TEODORO, A; BONCZ, M. A; PAULO, P. L; JUNIOR, A. M. Desinfecção de água cinza por fotocatalise heterogênea. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v.22, p.1017-1026, 2017.

TEZOTTO-ULIANA, J. V.; SILVA, P. P. M.; KLUGE, R. A.; SPOTO, M. H. F. Radiação Gama em Produtos de Origem Vegetal. **Revista Virtual de Química**, v. 7, n. 1, p. 267-277, 2014.

TURTOI, M.; BORDA, D. Decontamination of egg shells using ultraviolet light treatment. **World's Poultry Science Journal**, v. 70, n. 2, p. 265-278, 2014.

TURNER, F. J. Hydrogen peroxide and other oxidant disinfectants. Pages 240-249 in: *Disinfection, Sterilization, and Preservation*. 3rd ed. S. S. Block, ed. Lea and Febiger, Philadelphia, PA, 1983.

VALENTIM, J. K.; DUTRA, F.M.; NASCIMENTO, L.E.; KOMIYAMA, M.; PRZYBULINSKI, B.B.; BARBOSA, D. K.; GARCIA, R.G.; CASTILHO, V.A.R.; SERPA, F.C.; BURBARELLI, M.F.C.; BERHART, B.S.; Meat quality of broilers submitted to different types of litter with inclusion of grass. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 5, p. 12952991, 2020.

ZHAO, Y.; AARNINK, A. J. A.; XIN, H. Inactivation of airborne *Enterococcus faecalis* and infectious bursal disease virus using a pilot-scale ultraviolet photocatalytic oxidation. **Journal of the Air & Waste Management Association**, 64(1):38–46, 2013

WELLS, J. B.; COUFAL, C.D.; PARKER, H.M.; MCDANIEL, C.D. Disinfection of eggshells using ultraviolet light and hydrogen peroxide independently and in combination. **Poultry Science**, v. 89, n. 11, p. 2499-2505, 2010.



Ministério da Educação  
Instituto Federal Catarinense *Campus Araquari*

**COMITÊ DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS  
DO INSTITUTO FEDERAL CATARINENSE, *CAMPUS ARAQUARI***

**Parecer do Relator do Projeto**

**O PROJETO SÓ PODERÁ SER INICIADO APÓS O PARECER DE APROVAÇÃO**

**Nº do Protocolo do Processo:** 280/2018

**Título do Projeto:** Desinfecção de maravalha, de uso em avicultura, com Fotohidroionização

**Parecer do Relator:**

- ( X ) Aprovado**
- ( ) com pendências**
- ( ) Retirado**
- ( ) Não Aprovado**

**Observações:**

O adendo de modificação da metodologia do projeto foi aprovado.

Araquari, 11 de dezembro de 2019.

Elizabeth Schwegler  
Médica Veterinária (CRMV/RS 10058)  
Prof. EBTT (Siape nº 1046884)  
Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais do IFC - Campus Araquari  
Portaria nº 247/2018/Reitoria