

Condição microbiológica de cama tratada com Impact P[®] em matrizes de frangos de corte

Broiler breeder microbiological litter condition following treatment with Impact P[®]

Victor Fernando Büttow Roll^{I*} Lorena Lacava Lopes^{II} Fernanda Medeiros Gonçalves^{III}
Marcos Anciuti^{IV} Fabio Leivas Leite^V Erico Kunde Corrêa^I Eduardo Gonçalves Xavier^I

- NOTA -

RESUMO

Foram avaliados os efeitos da aplicação de Impact P[®] sobre a cama de aviário de matrizes de corte mediante o monitoramento de parâmetros microbiológicos. O Impact P[®] é um produto formulado através de *Bacillus subtilis* e suas enzimas que atuam sobre os dejetos animais e matéria orgânica, utilizando-os como fonte alimentar, visando melhorar as condições da cama dentro de aviários. Na 58ª semana de idade das matrizes foi trocado todo material de cama e então aplicados os seguintes tratamentos: T1- controle; T2 - Impact P[®] na dosagem de 2,5g m⁻² de cama; T3 - Impact P[®] na dosagem de 5,0g m⁻² de cama. Foram realizadas contagens de enterobactérias totais em agar McConkey em amostra de cama nova e após 3, 10, 17, 24 e 31 dias de uso da cama pelas aves e tratamentos com Impact P[®]. A análise estatística foi realizada no procedimento General Linear Models – GLM que utiliza o método dos quadrados mínimos, em um esquema fatorial 3x4 (tratamento x tempo de uso da cama) em delineamento completamente casualizado, com quatro repetições por tratamento, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey. A dosagem de 5,0g de Impact P[®] por m² de cama foi eficiente para reduzir em aproximadamente 13% a contagem logarítmica total de enterobactérias em comparação com o grupo não tratado (2,89 versus 3,31log₁₀ (UFC), respectivamente, P<0,05).

Palavras-chave: cama de aviário, bactérias gram negativas.

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the utilization of Impact P[®] in used litter from floor pens of broiler breeders through the monitoring of microbiological parameters. Impact P[®] is a commercial product obtained from *Bacillus subtilis* and its enzymes. Using animal litter and organic matter as a feed source, the product was designed to improve the quality of floor pens of broiler breeders. When hens aged 58 weeks, all used floor pens material was replaced with a new one and the following treatments were tested: T1 - control; T2 - 2.5g Impact P[®] m⁻² litter; T3- 5.0g Impact P[®] m⁻² litter. Counting of number of enterobacterium colonies in agar Mac-ConcKey was performed in a sample of new floor pens material and after 3, 10, 17, 24 and 31 days of litter treatment with Impact P[®]. The statistical analysis was accomplished with the General Linear Models - GLM procedure, using the minimum square method in a 3x4 factorial (treatment vs. time of floor pens utilization), in a completely randomized design with four replications. The averages were compared by Tukey test. The utilization of 5.0g Impact P[®] m⁻² litter was efficient to reducing approximately 13% logarithmic total counting of the enterobacterium in comparison to the untreated group (2.89 versus 3.31log₁₀ (CFU), respectively, P<0.05).

Key words: litter, enterobacterium, gram negative bacteria.

A cama de aviário é uma cobertura que varia de 5 a 10cm de espessura disposta sobre o piso do

^IDepartamento de Zootecnia, Universidade Federal de Pelotas (UFPEL), Campus Universitário, s/n, CP 354, 96010-900, Pelotas, RS, Brasil. E-mail: roll2@hotmail.com. *Autor para correspondência.

^{II}Curso de Medicina Veterinária, UFPEL, Pelotas, RS, Brasil.

^{III}Programa de Pós-graduação em Zootecnia, UFPEL, Pelotas, RS, Brasil.

^{IV}Conjunto Agrotécnico Visconde da Graça (CAVG), UFPEL, Pelotas, RS, Brasil.

^VInstituto de Biologia, UFPEL, Pelotas, RS, Brasil.

galpão, que utiliza diversos materiais, como por exemplo, serragem ou maravalha de pinus, eucalipto, madeira de lei, casca de arroz, bagaço de cana, sabugo de milho ou palha podendo ser renovada a cada ciclo de produção ou reutilizada em até seis lotes (ÁVILA et al., 1992; OLIVEIRA et al., 2003). No entanto, a reutilização da cama em lotes sucessivos dificulta a desinfecção do ambiente alterando a qualidade microbiológica do sistema de produção (WALTER, 2000). Este fator pode contribuir para a prevalência de microrganismos no ambiente, como a *Salmonella* spp. (CHERNAKILEFFER et al., 2002). Por esta razão, faz-se necessário desenvolver e implementar produtos que reduzam a contaminação dos animais e alimentos consumidos pelo homem. Neste sentido, várias substâncias têm sido adicionadas na cama de aviário tentando melhorar sua qualidade microbiológica, tais como, cal apagada ou extinta que é o hidróxido de cálcio Ca(OH)_2 obtido pela reação de cal virgem com a água (SINGH et al., 1990), sulfato de alumínio (MOORE et al., 1995), bissulfeto de sódio (POPE & CHERRY, 2000), gesso agrícola - $\text{CaSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (PROCHONOW et al., 2001) e *Bacillus subtilis* (BRITO & TAGLIARI, 2007).

O Impact P® é um produto formulado através do *Bacillus subtilis* e suas enzimas proteases, que atuam sobre os dejetos animais e matéria orgânica presentes na cama de aviário, utilizando os como fonte nutricional com o desdobramento e utilização destes substratos reduz, por exemplo, os níveis de amônia, melhorando assim, as condições ambientais gerais dentro do aviário.

BRITO & TAGLIARI, (2007) constataram que a adição de Impact - P® em frangos de corte reduziu a quantidade de *Escherichia coli* na cama a partir de 24 horas de contato e também preveniu significativamente a ocorrência de celulite em frangos expostos as cepas de *Escherichia coli* patogênicas. Assim, o presente estudo foi realizado com o objetivo de avaliar o efeito da utilização do Impact - P® aplicado em diferentes dosagens sobre o controle da atividade microbiana patogênica.

O experimento foi conduzido no Aviário Experimental do Conjunto Agrotécnico Visconde da Graça - CAVG - UFPEL. Foram utilizados 180 matrizes de frangos de corte com 58 semanas de idade e 24 galos da mesma idade, alojados em 12 boxes (17 aves/box - 4,25 aves m⁻²) com cama constituída por partículas de madeira produzidas pelo beneficiamento e plainagem de tábuas de *Pinus elliottii* em madeiras, com peso específico aproximado de 85kg m⁻³ e granulometria média de 24,0mm. Cada tratamento teve quatro repetições, sendo que cada box foi definido como uma unidade experimental. O experimento teve duração de

quatro semanas, que corresponde ao tempo médio de troca de cama dentro do manejo de cama no galpão de matrizes de frangos de corte no Conjunto Agrotécnico Visconde da Graça - CAVG/UFPEL. Os tratamentos aplicados as unidades experimentais foram os seguintes: T1 - Controle (sem a aplicação do produto); T2 - aplicação de 2,5g m⁻² de Impact P® sobre a cama das aves; T3 - aplicação de Impact P® 5g m⁻² sobre a cama das aves.

Para a análise microbiológica foram realizadas cinco coletas de amostras. A primeira no momento da distribuição da cama nova nas unidades experimentais, a segunda três dias após a aplicação do Impact P®, a terceira, quarta e quinta coletas aos 10, 17, 24 e 31 dias, respectivamente. Foram coletadas alíquotas individuais (coletados em cinco pontos equidistantes entre si - um metro - quatro deles localizados em cada canto e o quinto no centro do box) de cada unidade experimental correspondente a um tratamento, as quais foram acondicionadas em uma única embalagem plástica estéril, compondo, dessa maneira, uma única amostra de cada tratamento. A partir destas amostras, procedeu-se a contagem de enterobactérias em agar MacConkey. Neste meio, foram diferenciadas as colônias fermentadoras e não fermentadoras da lactose. As amostras foram pesadas, e submetidas a diluições decimais (até 10⁻⁴) em solução salina a 0,85%, sendo posteriormente, homogeneizadas e inoculadas em placas de agar Mac Conkey. Após 24h de incubação em estufa com uma temperatura de 37°C, foram feitas as contagens e diferenciações das colônias em lactose positiva ou negativa.

A análise estatística foi realizada no procedimento General Linear Models - GLM que utiliza o método dos quadrados mínimos, em um esquema fatorial 3x4 (tratamento x tempo de uso da cama) em delineamento completamente casualizado, com quatro repetições por tratamento.

As médias foram comparadas pelo teste de Tukey (P < 0,05) segundo o modelo: $Y_{ijk} = \mu + A_i + \beta_j + (A\beta)_{ij} + E_{ijk}$, em que: Y_{ijk} = variável resposta na repetição k, nível j de β e nível i de A; μ = média geral; A_i = efeito do fator Impact P® ao nível (i=1, 2, 3.); β_j = efeito do fator tempo de uso da cama ao nível (j=1, 2, 3, 4.); $(A\beta)_{ij}$ = efeito da interação A β ao nível i, j; E_{ijk} = Erro aleatório

Como se pode observar na tabela 1, os resultados demonstram que a aplicação de Impact P® na dosagem de 5,0g m⁻² de cama, recomendada pelo fabricante, proporcionou melhor qualidade microbiológica devido a menor contagem logarítmica de enterobactérias, apresentando uma redução de 12,9% comparados ao grupo controle (2,89 versus 3,31 log₁₀ (UFC), respectivamente, P < 0,05) e também uma

Tabela 1 – Efeitos dos tratamentos e do tempo de uso da cama após aplicação de Impact P[®] sobre o número de UFC em meio seletivo para enterobactérias (log₁₀ UFC).

| Tratamentos* | log ₁₀ (UFC) | Tempo de uso da cama (semanas)** | log ₁₀ (UFC) |
|-----------------------------------|-------------------------|----------------------------------|-------------------------|
| T1 (controle) | 3,31 A | 1 | 2,65 A |
| T2 (2,5g m ⁻² de cama) | 3,30 A | 2 | 3,27 B |
| T3 (5,0g m ⁻² de cama) | 2,89 B | 3 | 3,21 AB |
| | | 4 | 3,40 B |
| Tratamento | | prob = 0,0034 | |
| Tempo de uso da cama | | prob = 0,0104 | |
| Tratamento x Tempo | | prob = 0,58 | |

Médias seguidas por letras diferentes na coluna diferem significativamente pelo teste de Tukey- Kramer (P<0,05).

* Período de avaliação (1 a 4 semanas).

** Dados dos Tratamentos 1, 2 e 3 analisados estatisticamente em conjunto para verificar o efeito do tempo de uso da cama.

redução significativa de 12,8% em relação à aplicação em sub-dosagem de 2,5g m⁻² do produto (2,89 *versus* 3,30 log₁₀ (UFC), respectivamente, P<0,05). Observa-se também, que o tempo de uso da cama, afetou significativamente a contagem de enterobactérias, isto é, as aves incorporam gradativamente uma grande quantidade de dejetos à cama aumentando a sua população microbiológica. A interação entre os fatores tratamento e tempo de uso da cama não foi significativa, portanto, os efeitos dos fatores podem ser estudados separadamente.

Estes resultados sugerem que a aplicação da dose recomendada pelo fabricante de Impact P[®] proporciona quantidade suficiente de *Bacillus subtilis* na cama capaz de inibir ou controlar o crescimento de outras bactérias. Estes microrganismos produzem proteases, enzimas que quebram ligações peptídicas entre os aminoácidos das proteínas, que atuam sobre os resíduos animais e matéria orgânica da cama de aviário, degradando-os. Segundo KIEHL, (2004) a natureza da população microbiana, o número e as espécies existentes dependem das condições favoráveis presentes no substrato. Desta forma, a aplicação de Impact P[®] na dose recomendada proporciona um ambiente desfavorável para o crescimento de microrganismos devido a competição por alimento no substrato.

O equilíbrio dinâmico dos microrganismos presentes na cama depende da sua capacidade de adaptação ao meio, que por sua vez, irá determinar a sua maior ou menor competitividade (TIQUIA et al., 1997). Pelos resultados obtidos no T3 supõe-se que a adaptação e a atividade de *Bacillus subtilis* na cama de aviário dependem da sua população inicial, já que o T2, que contém a metade da dose recomendada, não diferiu do grupo controle.

De acordo com BRITO & TAGLIARI, (2007) houve uma redução acentuada na quantidade de

Escherichia coli na cama de frangos de corte a partir de 24 horas de contato de Impact P[®] com a cama. Neste mesmo estudo os autores verificaram que a utilização de Impact P[®] foi capaz de prevenir significativamente a ocorrência de celulite em frangos expostos as cepas de *Escherichia coli* patogênicas.

Como se pode observar na tabela 1, a contagem de enterobactérias aumentou com o tempo de uso da cama (P<0,05). Esse resultado sugere a necessidade de uma possível reaplicação do produto Impact P[®] após duas semanas de uso pelas matrizes de frangos de corte para manter a população de enterobactérias em menores níveis do que quando não se aplica o produto. Em condições confinadas, as enfermidades estão diretamente relacionadas ao nível de contaminação ambiental (SOBESTIANSKY, 2002). É importante salientar, que no caso das matrizes, houve a incorporação de uma carga diária de dejetos muito grande à cama, além de ração e água.

Na tabela 2 são mostradas as contagens de enterobactérias das camas de frango, após contagem em agar McConkey. Novamente os resultados indicam a superioridade do tratamento com 5,0g m⁻² de Impact

Tabela 2 - Efeitos da aplicação de Impact P[®] na cama de aviário sobre o número de colônias em meio seletivo para enterobactérias Mac Conkey (log₁₀ UFC).

| Tratamentos | Lactose positiva | Lactose negativa |
|-----------------------------------|-------------------------|-------------------------|
| | log ₁₀ (UFC) | log ₁₀ (UFC) |
| T1 (controle) | 1,05 A | 1,60 A |
| T2 (2,5g m ⁻² de cama) | 1,15 A | 1,56 A |
| T3 (5,0g m ⁻² de cama) | 0,68 B | 1,15 B |

Médias seguidas por letras diferentes na coluna diferem significativamente pelo teste de Tukey- Kramer (P<0,05).

* Médias das avaliações de tempo de uso da cama (semanas 1, 2, 3 e 4).

P® para a redução da população microbiana na cama de aviário, entre eles, possivelmente *Escherichia coli* e *Salmonella*.

Conclui-se que a aplicação de Impact P®, na dosagem de 5g m⁻² de cama reduz significativamente o número de bactérias na cama de matrizes de frango de corte.

AGRADECIMENTOS

À Schering-Plough, através dos Srs. Ernani Iablonski e Eduardo Leffer, por disponibilizar o Impact P® para a realização deste trabalho.

REFERÊNCIAS

- AVILA, V.S. et al. **Cama de aviário: materiais, reutilização, uso como alimento e fertilizante**. Concórdia, Brasil: EMBRAPA-CNPSA, 1992. 90p.
- BRITO, B.G.; TAGLIARI, K.C. Efeito da utilização de Impact-p na ocorrência de celulite em frangos de corte. **A Hora Veterinária**, v.26, n.155, p.13-20, 2007
- CHERNAKI-LEFFER. A.M. et al. Isolamento de Enterobactérias em *Alphitobius diaperinus* e na cama de aviários no oeste do Estado do Paraná, Brasil. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v.4 n.3, p.243-247, 2002
- KIEHL, E.J. **Manual de compostagem**. 4.ed. Piracicaba: Ceres, 2004. 173p.
- MOORE, P.A. et al. Effect of chemical amendments on ammonia volatilization from poultry litter. **Journal of Environmental Quality**, v.24, n.2, p.293-300, 1995.
- OLIVEIRA, M.C. et al. Teor de matéria seca, pH e amônia volatilizada da cama de frango tratada ou não com diferentes aditivos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, n.4, p.824-829, 2003.
- PROCHONOW, L.I. et al. Controle da volatilização de amônia em compostagem, mediante adição de gesso agrícola e superfosfato com diferentes níveis de acidez residual. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.25, n.1, p.65-70, 2001.
- POPE, M.; CHERRY, T.E. Evaluation of the presence of pathogens on broilers raised on poultry litter treatment®-treated litter. **Poultry Science**, v.79, n.9. p.1351-1355, 2000.
- SINGH, H.P. et al. Effect of different methods of treatment of used litter on growth, feed efficiency and economies in broiler production. **Indian Journal Production and Management**. v.6, 109-114, 1990
- SOBESTIANSKY, J. **Sistema intensivo de produção de suínos – Programa de biossegurança**. Goiânia, GO: Art 3. Impressos especiais, 2002. 130p.
- TIQUIA, S.M. et al. Effects of turning frequency on composting of spent pig-manure sawdust litter. **Bioresource Technology**, v.62, n.1, p.37-42, 1997.
- WALTER, L. Manejo da cama de frangos de corte e aspectos microbiológicos no ambiente de produção. In: SEMINÁRIO INTERNACIONAL SOBRE COCCIDIOSE E QUALIDADE INTESTINAL, 2000, Campinas, SP. **Anais...** Campinas: COCCIFORUM, 2000. 129p. p.44-54.