

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
CAMPUS DOIS VIZINHOS
CURSO DE ZOOTECNIA**

DANIEL MULLER

**CONTROLE DE *SALMONELLA* HEIDELBERG COM UTILIZAÇÃO DE
BLEND DE ÁCIDOS ORGÂNICOS EM FRANGOS DE CORTE**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

DOIS VIZINHOS

2015

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
CURSO DE ZOOTECNIA**

DANIEL MULLER

**CONTROLE DE *SALMONELLA* HEIDELBERG COM UTILIZAÇÃO DE
BLEND DE ÁCIDOS ORGÂNICOS EM FRANGOS DE CORTE**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

DOIS VIZINHOS

2015

DANIEL MULLER

**CONTROLE DE *SALMONELLA* HEIDELBERG COM UTILIZAÇÃO DE
BLEND DE ÁCIDOS ORGÂNICOS EM FRANGOS DE CORTE**

Trabalho de Conclusão de Curso,
apresentado ao Curso de Zootecnia da
Universidade Tecnológica Federal do
Paraná, Câmpus Dois Vizinhos, como
requisito parcial à obtenção do título de
ZOOTECNISTA

Orientador: Prof. Dr. Angélica S. Mendes

DOIS VIZINHOS

2015

Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Campus Dois Vizinhos
Gerência de Ensino e Pesquisa
Curso de Zootecnia



TERMO DE APROVAÇÃO
TCC

**CONTROLE DE *SALMONELLA* HEIDELBERG COM UTILIZAÇÃO DE BLEND DE
ÁCIDOS ORGÂNICOS EM FRANGOS DE CORTE**

Autor: Daniel Muller

Orientador: Prof. Dra. Angélica S. Mendes

TITULAÇÃO: Zootecnista

APROVADO em de de 2015.

Prof. Dr. Angélica S. Mendes
(Orientador)

RESUMO

MULLER, Daniel. Controle de *Salmonella* Heidelberg com utilização de blend de ácidos orgânicos via água de bebida e/ou ração em frangos de corte. TCC (Curso de Zootecnia), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Dois Vizinhos, 2015.

O presente trabalho teve como finalidade avaliar o controle de *Salmonella* Heidelberg através do uso de Ácidos Orgânicos (*blend*) via água de bebida e/ou via ração. O experimento foi conduzido entre os meses de agosto e setembro de 2014 no aviário experimental do Laboratório de Inovações Avícolas/LINAV da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Câmpus Dois Vizinhos. Foram utilizados 325 pintos de corte fêmea, da linhagem Cobb 500, de um dia de idade e com certificação de livre de *Salmonella*. O delineamento experimental foi o de blocos casualizados com 5 tratamentos e 5 repetições totalizando 25 boxes, com 13 aves em cada. As aves foram distribuídas aleatoriamente nas unidades experimentais e todas desafiadas através de inoculação com 1 mL de uma solução contendo $1,2 \times 10^6$ UFC (Unidades Formadoras de Colônia) de *Salmonella* Heidelberg (SH), através de uma pipeta estéril de 3 ml por via oro esofágica no momento do alojamento. Todos os tratamentos foram realizados após alojamento, com duração de sete dias consecutivos, repetindo quatro dias consecutivos antes do abate (28, 29, 30 e 31 dias). Os cinco tratamentos foram: T1 Testemunha (0 de ácido + 0 de SH); T2- Controle positivo (0 ácido + SH); T3 – Ácido via água + SH; T4 – Ácido via ração SH; e T5 - Combinação ácido via Ração + Ácido via Água + SH. Foram coletadas 15 aves por tratamento aos nove dias de idade e aos trinta e um dias de idade (momento do abate) para a realização das análises microbiológicas, e recuperação de *Salmonella* Heidelberg através da coleta asséptica das porções intestinais (íleo, tonsilas cecais e cecos) e papo, utilizando o método de análise do número mais provável (NMP) de células bacterianas. Também foram realizadas análises bacteriológicas de *swab* de arrasto aos dezesseis dias de idade para identificar presença ou ausência de *Salmonella*. O *blend* de ácidos orgânicos demonstrou eficácia numérica na redução de positividade no isolamento de *Salmonella* Heidelberg entre os grupos tratados nas necropsias aos nove e trinta e um dias e na coleta de *swab* aos 16 dias, mas não houve diferenças ($p \geq 0,05$) entre os grupos tratados e os grupos controle.

Palavras-chave: Avicultura, Contaminação, Sanidade.

ABSTRACT

MULLER, Daniel. Control of *Salmonella* Heidelberg using blend of organic acids via water to drink and / or feed in broilers. TCC (Curso de Zootecnia), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Dois Vizinhos, 2015.

The present work had as objective to evaluate the control of *Salmonella* Heidelberg by using Organic Acids (*blend*) via drinking water and/or via feed. The experiment was conducted between the months of August and September 2014 in experimental laboratory of Aviary Poultry Innovations/LINAV the Federal Technological University of Paraná-Campus Dois Vizinhos. 325 chicks were used female cutting, cobb 500 lineage of one day old with free certification of *Salmonella*. The experimental design was randomized blocks with 5 treatments and 5 repetitions totaling 25 boxes, with 13 birds in each. The birds were randomly distributed in the experimental units and all challenged through inoculation with 1 mL of a solution containing $1, 2 \times 10^6$ CFU (Colony-forming Units) of *Salmonella* Heidelberg, through a sterile pipette 3 ml per via oro at time of esophageal accommodation. All treatments were performed after accommodation, lasting for seven consecutive days, repeating four consecutive days before slaughter (28, 29, 30 and 31 days). The five treatments were: T1 Witness (acid + 0 0 SH); T2-positive control-0 + acid SH; T3 – via Acid water-hydrogen via water + SH; T4-Acido-Acid infeed infeed + SH; and T5-acid Combination infeed + water-Feed + water + sh. were collected 15 birds per treatment at nine days old and at the age of thirty-one days of age (time of slaughter) to the realization of microbiological analysis, and recovery of *Salmonella* Heidelberg through the aseptic collection of bowel portions (ileum, tonsil cecais and cecos), heart, liver and spleen using the method of analysis of most probable number (MPN) of bacterial cells. Bacteriological analyses were performed also for swab of drag at sixteen days of age to identify the presence or absence of *Salmonella*. The blend of organic acids has shown effectiveness in reducing numerical positivity in the isolation of *Salmonella* Heidelberg between the groups treated in necropsies on nine and thirty-one days and collect swab for 16 days, but there were no differences ($p < 0.05$) between the groups treated and control groups.

Keywords: Poultry, Contamination, Sanity.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	6
2. OBJETIVOS.....	8
2.1. OBJETIVO GERAL	8
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	8
3. REVISÃO DE LITERATURA.....	9
3.1. CENÁRIO DA AVICULTURA MUNDIAL E NACIONAL.....	9
3.2. ÁCIDOS ORGÂNICOS.....	9
3.3. <i>SALMONELLA</i>	11
4. MATERIAIS E MÉTODOS	14
5. RESULTADOS E DISCUÇÕES.....	19
6. CONCLUSÃO	24
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	25

1. INTRODUÇÃO

Com o grande aumento populacional em escala significativa e rápida, houve a necessidade de aumentar a produção do setor alimentício mundial. Um exemplo é a alta demanda por carne de frango. Com isto, muitos países estimularam os produtores a aumentarem sua produção para que se tivesse uma maior oferta do produto no mercado. Nesse contexto, o Brasil é o país que mais está se destacando em aumento da produção e também em consumo, sendo atualmente o maior exportador da carne de frango (STERZO, 2008).

Esse grande potencial que o Brasil tem hoje em produção de aves se deve muito ao uso de modernas técnicas que permitem uma máxima produção em um curto espaço de tempo, se destacando o manejo e nutrição das aves durante a criação (DICKEL, 2004). Outro fator muito importante que pode ter influência direta na produção são as questões sanitárias, pois exigem grandes avanços, particularmente no controle de agentes infecciosos como a *Salmonella* (GAST, 1997)

Com mais de 2000 sorotipos descritos de *Salmonella*, elas são encontradas em alimentos e transmitidas ao homem (PINTO, 2000). A salmonelose é caracterizada como uma doença que atinge o ser humano e todas as espécies animais, por isto é considerada uma zoonose.

A Salmonelose é classificada como a segunda doença mais freqüente nos Estados Unidos, Canadá e na Comunidade Européia, caracterizada como doença de transmissão alimentar (EFSA, 2012). No Brasil, dados do Ministério da Saúde, mostram a Salmonelose como a principal doença bacteriana transmitida por alimento ocorrida entre os anos de 1999 e 2011 (BRASIL, 2011).

Os modos de transmissão da *Salmonella* na cadeia produtiva aviária envolve a transmissão vertical via ovo, onde os pintainhos nascem livres e a contaminação ocorre ao entrar em contato com o ovo e horizontal, quando se tem o ambiente e a ração contaminada e o animal adquire a *Salmonella* durante sua vida, sendo uma tarefa difícil o controle da Salmonelose. Várias medidas vêm sendo utilizadas no controle desta bactéria nas aves sendo elas: aquisição de aves, rações e matérias primas livres de *Salmonella*, biosseguridade, uso de ácidos orgânicos, entre outros (STERZO, 2008).

Conforme Ostermann et al. (2005), os acidificantes orgânicos são utilizados

na alimentação das aves no auxílio da prevenção e controle das infecções causadas por bactérias patogênicas, os mesmos tem ação antibacteriana, em particular com as bactérias Gram negativas, além de diminuir o pH do trato gastro intestinal.

Entre os sorovares de *Salmonella* responsáveis por causar infecções em humanos, a *Salmonella* Heidelberg é caracterizada por ser a mais invasiva causando doenças mais graves que os outros sorovares paratíficos (COLLA et al., 2012).

Vários estudos apresentados nas últimas décadas vêm relatando que a principal forma de controle de enfermidades bacterianas, está sendo o uso de antimicrobianos. Mas o uso destas drogas vem sendo questionado, principalmente quando usadas como medida preventiva, uma vez que estão surgindo, cada vez mais, casos de resistência aos antimicrobianos por bactérias patogênicas (PARRY, 2003).

Dessa forma o presente trabalho teve como objetivo avaliar o controle de *Salmonella* Heidelberg através do uso de ácidos orgânicos (*blend*) via água de bebida e/ou via ração, em frangos de corte de 31 dias.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Avaliar a eficácia de um *Blend* de Ácidos Orgânicos no controle de *Salmonella* Heidelberg em frangos de corte aos 9 dias e aos 31 dias de idade.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Avaliar a eficácia de um ácido orgânico via água de bebida em frangos de corte.
2. Avaliar a eficácia de um ácido orgânico via ração em frangos de corte.
3. Avaliar a eficácia do ácido orgânico via água de bebida e via ração em frangos de corte.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. CENÁRIO DA AVICULTURA MUNDIAL E NACIONAL

A produção Brasileira de frangos de corte tem um grande papel no mercado de exportação de carnes, assumiu desde 2004 a posição de maior exportador mundial, apresentando em 2013 uma produção de carne de 12,3 milhões de toneladas, sendo que 3,9 milhões de toneladas tem destino a mais de 152 países. Em 2011 a produção brasileira atingiu a marca histórica de 13,058 milhões de toneladas, deixando o Brasil entre os três maiores produtores mundiais de carne de frango do mundo, ao lado de Estados Unidos e China (UBPA, 2014).

Já como maiores importadores de carne de frango aparecem Japão, Arábia Saudita, União Europeia, México e Iraque, que compram o produto principalmente do Brasil que está classificado como maior exportador, Estados Unidos e União Europeia (UBA, 2014).

Do montante produzido no Brasil 68,4% da produção fica no País para consumo interno e o restante vai para exportação. Entre os estados que mais produzem se destaca o Paraná que é o maior produtor com 31,12% da produção nacional, seguido por Santa Catarina (16,6%), Rio Grande do Sul (14,5%) e São Paulo (10,9%), com um consumo per capita em 2011 de 47,3 kg/habitante e diminuindo para 41,8 kg/habitante em 2013 (UBA, 2014).

3.2. ÁCIDOS ORGÂNICOS

Acidificantes orgânicos podem ser qualquer ácido carboxílico orgânico, incluindo os ácidos graxos e aminoácidos, com estrutura geral de R-COOH, ou seja, aqueles que contem átomos de carbono. Porém, nem todos estes ácidos causam efeito sobre a microbiota intestinal. No entanto, os ácidos orgânicos ligados com atividades antimicrobianas específicas são considerados ácidos de cadeia curta (C1-C7) e, também ácidos monocarboxílicos simples como o ácido fórmico, acético, propiônico e butírico ou ácidos carboxílicos possuindo um grupo hidroxila (DIBNER, 2002). Acidificantes orgânicos são considerados ácidos fracos encontrados

facilmente em sucos de frutas e alimentos que sofrem fermentação e são utilizados como conservantes em alimentos (LÜCK e JAGER, 1997).

Segundo Nuria et al. (2004) os ácidos orgânicos vem sendo utilizados já a vários anos por diversos pesquisadores e pela indústria avícola, como uma forma de prevenção e proteção de alimentos contra a destruição microbiana e de fungos ou para aumentar a preservação de alimentos fermentados, sendo particularmente a finalidade dos ácidos fórmico e propiônico.

Os ácidos orgânicos penetram a parede celular das bactérias e interrompem o funcionamento normal de certos tipos de bactérias (DHAWALE, 2005). Também, reduzem o pH da digesta, fazendo com que a secreção pancreática aumente tendo efeito trófico na mucosa do trato gastro-intestinal (DIBNER, 2002).

Os ácidos orgânicos tem uma ação lipofílica em que ocorre a penetração de íons de hidrogênio na célula do microrganismo, ocorrendo a acidificação do seu interior e inibindo o transporte de nutrientes, tendo assim a ação antimicrobiana (SILVA et al., 2001).

Quando não dissociados, os ácidos orgânicos se difundem passivamente pela parede celular das bactérias, onde os íons de H^+ promovem a diminuição do pH interno, sendo que certas bactérias não toleram o pH baixo, entrando em uso um mecanismo de resistência que tem ação a este tipo de estresse celular, onde os prótons são bombeados para fora da bactéria por ação da bomba de ATPase, como este fenômeno consome energia a bactéria fica completamente esgotada (CHIQUEIRI, 2009).

De acordo com Hayashi (2012) as bactérias absorvem facilmente os acidificantes orgânicos, e a porção aniônica do ácido faz com que o DNA do núcleo das células das bactérias sejam danificado e como consequência a bactérias não se dividem ou morrem, já a porção catiônica que os ácidos liberam reduz o nível do pH da célula da bactéria, fazendo com que ela utilize sua energia armazenada para liberar os prótons e por fim acontece a exaustão celular.

As formas mais encontradas dos ácidos orgânicos são líquido e pó, fornecidos via água de bebida ou ração, também observa-se alguns ácidos orgânicos livres que atuam na porção anterior do trato gastrointestinal, e outros ainda protegidos por triglicerídeos, que sofrem a ação dos sais biliares, e são liberados no intestino delgado sem que ocorra interferência das enzimas pancreáticas e intestinais. O objetivo dos ácidos orgânicos que se procura é o

equilíbrio da microbiota do intestino grosso tendo uma menor produção de gases e nitrogênio, também se procura aumentar as bactérias produtoras de ácidos graxos voláteis (HAYASHI, 2012).

Quando usados corretamente aliados a medidas de manejo nutricionais e de biossegurança, os acidificantes orgânicos podem ser uma ferramenta de grande importância para manter a saúde do trato intestinal do animal, não deixando resíduos como os dos antibióticos e melhorando os índices zootécnicos (PARTANEN & MROZ, 1999).

3.3. SALMONELLA

Há uma ampla propagação de sorovares de *Salmonella* entre os animais e sua permanência no ambiente, são características que ajudam positivamente para que este patógeno seja uma zoonose de grande importância mundial, sendo que ela está presente em alimentos ocasionando contaminação em humanos e animais (WEISS et al., 2002).

Segundo Forshell e Wierup (2006) a *Salmonella* é considerada uma bactéria Gram negativa, aeróbia ou anaeróbia facultativa, não forma esporos, oxidase positiva, catalase negativa, fermentadora de açúcares produzindo gases recorrentes dessa fermentação, produz H₂S e tem comportamento de patógeno intracelular facultativo.

O gênero *Salmonella* está dividida em duas espécies: *Salmonella Entérica* e *Salmonella Bongori*. A espécie *Salmonella Entérica* é composta de seis subespécies: *Entérica*, *Salamae*, *Aarizonae*, *Diarizonae*, *Houtenae* e *Indica* (GRIMONT & WEILL, 2007).

De acordo com o esquema clássico de Kauffman-White, cada subespécie é conhecida pelos diferentes sorovares ou sorotipos, com base na caracterização de seus antígenos H (flagelares), O (somático) e ocasionalmente Vi (capsular) é a seguinte: *Salmonella Entérica* subsp. *Entérica* (1.547 sorotipos); *Salmonella Entérica* subsp. *Salamae* (513 sorotipos); *Salmonella Entérica* subsp. *Arizonae* (100 sorotipos); *Salmonella Entérica* subsp. *Diarizonae* (341 sorotipos); *Salmonella Entérica* subsp. *Houtenae* (73 sorotipos); *Salmonella Entérica* subsp. *Indica* (13 sorotipos); *Salmonella Bongori* (23 sorotipos); os quais não reconhecem a espécie

proposta *Salmonella* subterranea tendo sido a mesma inserida como sorotipo da espécie *Bongori* (GUIBOURDENCHE et al., 2010).

O local onde são encontradas as *Salmonellas* pode ser dividido em três categorias, dependendo da especificidade do hospedeiro e seu padrão clínico, sendo as categorias: causadores da febre entérica em humanos, que são *Salmonella* Typhi e *Salmonella* Paratyphi sendo altamente adaptadas ao humano; causadores do paratifo animal, *Salmonella* Dublin (bovinos), *Salmonella* Choleraesuis e *Salmonella* Typhisuis (suínos), *Salmonella* Pullorum e *Salmonella* Gallinarum (aves), muito bem adaptados aos animais; e por ultimo as que são responsáveis pela transmissão de doenças via alimento, incluindo a maioria dos sorovares que atingem os animais e os humanos, chamadas de *Salmonellas* Zoonoticas (RODRIGUES, 2011).

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), quando se trata de doenças transmitidas por alimentos, a *Salmonella* aparece como o agente bacteriano que mais está envolvido como transmissor de doenças, sendo que o contato com os humanos ocorre por meio de alimentos, principalmente os de origem animal, como carne, ovos e leite (NASCIMENTO et al., 2012), sendo ela, segundo o Center for Disease Control and Prevention (CDC), a responsável de deixar pelo menos 1,4 milhões de pessoas doentes, 15.000 hospitalizadas e 400 mortas por ano nos Estados Unidos (GAST, 2008).

Quando se tem produção de aves em confinamento, alguns fatores de riscos que contribuem para a disseminação de *Salmonella* spp. são encontrados, sendo eles: a água e alimentos contaminados, má higienização da granja, presença de pragas nos locais de criação, presença de animais infectados e o uso indevido de promotores de crescimento (HERMANN, 2012).

A *Salmonella* possui vários sorotipos que podem causar infecções fatais em várias aves jovens, e nas adultas não fatais, sendo que 40% das *Salmonellas* são encontradas em galinhas, perus e outras aves. Como os principais reservatórios deste patógeno são os produtos oriundos destes animais, carne e ovos, se tem um grande risco aos humanos, os quais são consumidos frequentemente pela população (PORTER e CURTISS 1997).

A *Salmonella* entérica, sorovar Heidelberg é pertencente ao grupo de salmonelas paratíficas. Este sorotipo não é específico de aves porém causa doença em humanos, através do consumo de carne de frango ou ovos contaminados,

gerando prejuízos para a indústria, governo e riscos à saúde pública. Um dos fatores que contribui para alta incidência de *salmonellas* paratíficas é o alto grau de diversidade antigênica que esse gênero possui, facilitando sua adaptação a diversos hospedeiros (BERNDT et al., 2007).

O sorotipo Heidelberg aparece como o terceiro sorovar de *Salmonella* mais encontrado na avicultura do Canadá e nos Estados Unidos como o quarto em doenças transmitidas por alimentos (CHITTICK et al., 2006). Também no Canadá, a *Salmonella* Heidelberg disputa a posição de segundo e terceiro lugar com a *Salmonella* Enteritidis entre os sorovares que mais acometem os humanos, sendo destaque em saúde pública (DEMCZUK et al., 2003).

Em 1962, o sorovar Heidelberg foi isolado e identificado no Brasil, em produtos derivados de aves e no próprio animal (COLLA et al., 2012). Nascimento et al. (1997) isolou a *Salmonella* em carcaças e partes de frango, sendo que do total dos sorovares isolados 11% era de *Salmonella* Heidelberg. Já Dickel (2004) identificou entre os sorovares presentes, 63,9% de *Salmonella* Heidelberg na carcaça de frangos de três matadouros no sul do Brasil.

Entre os sorovares de *Salmonella* responsáveis por causar infecções em humanos, a *Salmonella* Heidelberg se caracteriza por ser mais invasiva causando doenças mais graves que os outros sorovares paratíficos (COLLA et al., 2012).

4. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no aviário experimental do Laboratório de Inovações Avícolas (LINA), da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Dois Vizinhos. O laboratório está localizado na mesorregião sudoeste do Estado do Paraná, a uma latitude de 25° 45' 00" sul, e uma longitude 53° 03' 25" oeste, estando a uma altitude média de 509 m, com características de clima subtropical Cfa.

O estudo foi conduzido entre os meses de Agosto a Setembro de 2014, totalizando 31 dias, onde foram utilizados 325 frangos de corte com peso médio inicial de $42,80 \pm 0,30g$, fêmeas, da linhagem comercial Cobb 500, vacinados no incubatório contra doença de Marek, Gumborro, New Castle, Bouba Aviária e Bronquite Infecciosa, posteriormente distribuídos em 25 boxes.

Para a manipulação dos animais foram seguidas as normas do Comitê de Ética e Pesquisa Animal da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, que por sua vez segue as determinações do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

Todos os boxes tinham dimensões de 1m² e foram equipados com um comedouro modelo tubular e um bebedouro infantil. O piso era constituído de concreto e para constituição da cama foi utilizado maravalha de pinus (*Pinus taeda* L.) na espessura de sete centímetros do chão (figura 1).

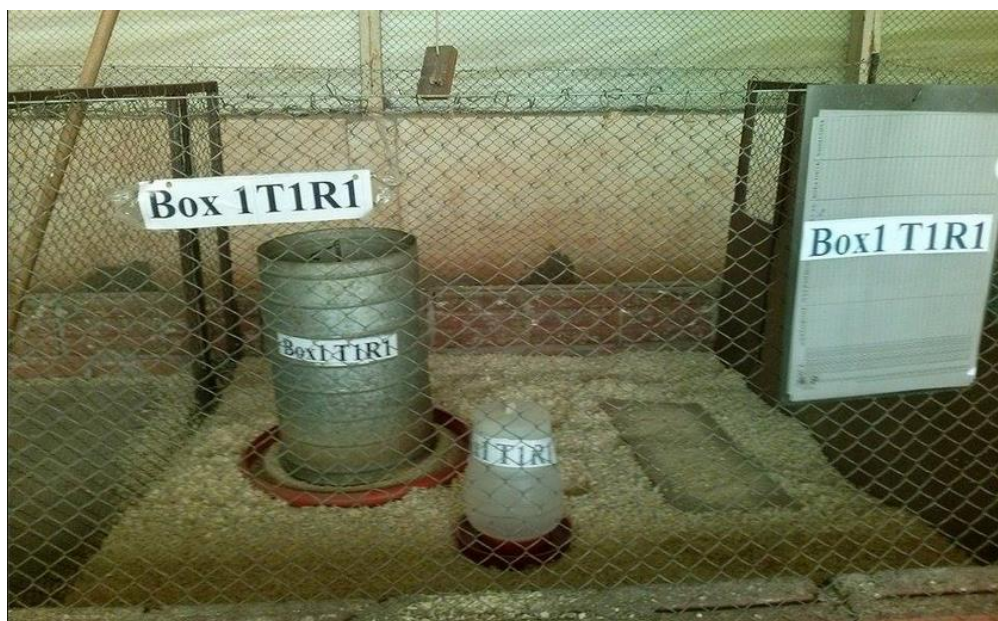


Figura 1: Box onde foram alojados as aves.

A instalação possuía uma fornalha a lenha marca Debona®, modelo 11-10, ligada a um painel de acionamento automático com uma sonda de temperatura. A renovação de ar foi realizada com um ventilador instalado na parede do fundo do aviário, simulando uma ventilação tipo túnel. Esta ventilação era acionada por meio de um painel automático da marca Smái® 1 ligado à uma sonda de temperatura e umidade, onde a ventilação era ligada automaticamente. Foi realizada ventilação mínima automática, com o mesmo controlador, durante todo o período de criação das aves.

O programa de nutrição foi dividido em duas etapas, ração pré-inicial/inicial (1 a 14 dias) e ração crescimento/final (15 a 31 dias). A matéria prima da ração era constituída a base de milho, farelo de soja e farinha de ossos e carne sendo que a mesma não continha nenhum agente anticoccidiano e também nenhum promotor de crescimento. As dietas foram formuladas de acordo com as exigências nutricionais indicadas por Rostagno et al (2011).

As aves foram mantidas do 1° ao 31° dia de vida em temperatura ideal de conforto em função da idade, com fornecimento de água e ração à vontade.

O programa de luz utilizado foi o recomendado para a própria linhagem: primeiro dia 24L:0E (L: luz E: escuro), segundo ao sétimo dia 23L:1E, oitavo dia aos vigésimo oitavo dia 18L:6E, do vigésimo nono dia até ao trigésimo primeiro dia (abate), 23L:1E.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizados (DIC), sendo 5 tratamentos com 5 repetições, totalizando 25 boxes (unidades experimentais), contendo 13 aves em cada box, respeitando-se a densidade recomendada pela linhagem de 13 aves/m². As 325 aves foram distribuídas aleatoriamente entre os boxes. Os cinco tratamentos utilizados foram: T1 – Controle Negativo (sem ácidos + inoculação de 0,5ml de solução fisiológica); T2 – Controle Positivo (sem ácidos + inoculação de 0,5ml de *Salmonella* Heidelberg (1,2X10⁶ UFC)); T3 – Ácido Via Água de Bebida (inoculação de 0,5ml de *Salmonella* Heidelberg (1,2X10⁶ UFC)); T4 – Ácido Via ração (inoculação de 0,5ml de *Salmonella* Heidelberg (1,2X10⁶ UFC)); T5 – Ácido Via Água de Bebida e Ácido Via Ração (inoculação de 0,5ml de *Salmonella* Heidelberg (1X10⁶ UFC)).

O *blend* de ácidos orgânicos administrados via água de bebida e/ou ração, é constituído por ácido fumarínico e ácido cítrico. É um produto comercial, no entanto, não disponível no mercado brasileiro, porém registrado no Ministério da Agricultura.

O *blend* de ácidos orgânicos via água de bebida e/ou ração, foi fornecido desde o alojamento até o sétimo dia de vida, por 24 horas por dia. Após este período, as aves receberam água e ração *ad libitum*, sem nenhum tipo de tratamento. Este manejo se repetiu nos últimos quatro dias de vida dos frangos, onde novamente estes frangos receberam o *blend* de ácidos orgânicos via água de bebida e/ou ração de acordo com os tratamentos, por 24 horas por dia, até o período de jejum pré-abate, que foi de 5 horas de jejum sólido.

A cepa de *Salmonella* Heidelberg isolada de uma amostra de campo resistente ao ácido nalidíxico, recuperada a partir de culturas liofilizadas. A cultura foi semeada em xilose ágar desoxicolato lisina (XLD) e incubadas a 37° C durante 24 horas. Para o preparo do inóculo uma colônia foi retirada do ágar estoque e incubada em solução de BHI (Brain Heart Infusion) por 24h a 37°C. Em seguida, semeou-se em uma placa de Ágar por 24h a 37°C. A placa foi lavada com solução fisiológica estéril, e retirou-se o líquido que foi diluído até alcançar a concentração de $1,2 \times 10^6$ UFC de *Salmonella* Heidelberg/ml. Foram utilizadas diluições seriadas para a determinação das UFC.

No momento do alojamento no tratamento 1 (controle negativo) as aves foram inoculadas com 0,5 ml de solução fisiológicas, e em seguida todas as aves dos tratamentos 2, 3, 4 e 5 foram inoculadas com 0,5 ml de uma solução contendo $1,2 \times 10^6$ UFC de *Salmonella* Heidelberg/ml, para isto foi utilizado uma pipeta estéril de 3 ml por via oroesofágica.



Figura 2: Ave sendo inoculada com *Salmonella* Heidelberg

Aos nove dias de idade, às 07:00 horas da manhã foram necropsiadas 15 aves por tratamento, para obtenção as amostras de *pool* de íleo, cecos e tonsilas cecais, sendo três aves por repetição. A eutanásia foi realizada a partir de deslocamento cervical, momentos antes da necropsia. Para realizar as necropsias foram utilizados instrumentos cirúrgicos e luvas de procedimento, previamente esterilizados, onde de forma asséptica foram coletados os órgãos (*pool* de íleo, cecos e tonsilas cecais). Mesmo procedimento foi utilizado para obtenção das amostras de papo no momento de abate aos 31 dias de idade.

Os instrumentos cirúrgicos e as luvas de procedimentos foram trocados cada vez que se trocava o box de origem das aves. Foram colocadas amostra de uma ave por saco de armazenamento específico para órgãos. Estas amostras foram armazenadas em caixa de isopor, acondicionadas com gelo reciclável e encaminhadas no mesmo dia, para o laboratório responsável pelas análises.

Para o isolamento de *Salmonella* Heidelberg nas fezes das aves, foram coletados *swab* de arrasto aos 16 dias de idade, nos 25 boxes alojados. Os *swab* foram coletados seguindo a IN nº56. Para evitar a contaminação cruzada entre os blocos, utilizaram-se botas plásticas descartáveis e luvas de procedimento para cada amostra de *swab*.

Da mesma maneira, as amostras foram coletadas e armazenadas em sacos de armazenamentos específicos para *swab*. Foram colocadas amostra de um box por saco de armazenamento. Estas amostras foram armazenadas em caixa de isopor, acondicionadas com gelo reciclável e encaminhadas no mesmo dia, para o laboratório responsável pelas análises.

Para avaliar a eficácia dos tratamentos em relação à colonização de *Salmonella* Heidelberg no trato gastrointestinal realizaram-se culturas de amostras de *pool* de íleo, tonsilas cecais e cecos e culturas das amostras de papo, em conformidade com a Portaria nº 126 do MAPA. Foi avaliado o percentual de positividade de cama, através do *swab* de arrasto, conforme a mesma portaria. O laboratório responsável pela análise das amostras microbiológicas é um laboratório de saúde animal particular, reconhecido pelo Ministério da Agricultura e Abastecimento (MAPA).

O isolamento de *Salmonella* foi realizado seguindo a Portaria nº 126 do MAPA. Foi realizada através dos seguintes procedimentos: pré-enriquecimento em água peptonada 1% na proporção 1:10 (amostra incubada em saco tipo Nasco a

37°C±1°C/18-24h), enriquecimento seletivo no meio Semi-sólido Modificado Rapaport Vassiliadis (MSRV) (41°C±1°C/24h±3h), isolamento e seleção através da semeadura em ágar xilose lisina desoxicolato (XLD) (37°C±1°C/24h). Após foi observada a presença ou ausência de colônias com características fenotípicas de *Salmonella spp.*, e submetidas à análise bioquímica em ágar tríplice de açúcar e ferro (TSI - Triple Sugar Iron), ágar lisina-ferro (LIA - Lysine Iron Agar), meio sulfeto-indol-motilidade (SIM - Sulphur Indol Motility), caldo de uréia e agar nutriente. (37°C±1°C/24h). Onde foram identificadas as colônias de *Salmonella* Heidelberg.

O objetivo foi o de testar em nível de 5% de significância, por meio de comparações Bayesianas a hipótese nula de igualdade entre tratamentos. Para tal foram utilizadas distribuições a priori não informativas no procedimento.

Foi considerado que isolamento de *Salmonella* Heidelberg em *swab* e necropsias seguem distribuição a priori Beta:

Para cada foram consideradas a priori:

$$Y_i \sim \text{Beta}(\mu_i, \sigma_i^2) \text{ com } i = 1, 2, 3, 4 \text{ e } 5 \text{ (correspondendo aos tratamentos)}$$

Para cada μ_i e σ_i^2 foram consideradas a priori:

$$\mu_i \sim \text{Beta}(0, 10^6) \text{ e } \sigma_i^2 \sim \text{Binomial}(10^3, 10^3) \text{ (sua família conjugada)}.$$

Foram realizadas comparações múltiplas entre as distribuições a posteriori das médias. Foram considerados como diferentes, em nível de 5% de significância, os tratamentos onde os intervalos de credibilidade para as diferenças não contemplavam o valor zero. Os resultados foram obtidos por meio dos pacotes R2OpenBUGS, MASS, BRugs e CODA do programa R® (2014).

Foram gerados valores em um processo iterativo MCMC (Monte Carlo Markov Chain). Para os parâmetros isolamento de *Salmonella* Heidelberg em *swab* e necropsias foram gerados 10.000 valores com descarte amostral inicial de 1.000 valores. A análise de convergência das cadeias foi realizada pelo critério de Heidelberger (1983).

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Com relação ao isolamento de *Salmonella* Heidelberg em frangos de corte, verificou-se que todos os grupos desafiados apresentaram positividade na coleta de *pool* de intestinos aos nove dias (Tabela 1). Com isto, comprova-se a eficácia da inoculação, sendo que o grupo controle negativo foi aquele que obteve melhor resultado na avaliação microbiológica (6,66% de positividade). Este fato era esperado, pois estas aves não foram inoculadas com *Salmonella* Heidelberg, porém comprovou-se que houve uma contaminação mínima que pode ser considerada normal, em se tratando de um galpão experimental sem isolamento total entre blocos (Tabela 1).

Já o grupo controle positivo obteve 86% de positividade, comprovando a eficácia na inoculação da *Salmonella* Heidelberg no primeiro dia de vida (Tabela 1). Para os demais tratamentos, foi observado um número menor de positividade devido aos tratamentos realizados (Tabela 1).

Tabela 1: Positividade de *Salmonella* Heidelberg em coletas de *pool* de íleo, tonsilas cecais e cecos, em necropsias realizada aos 9 dias de idade.

	T1	T2	T3	T4	T5
Positividade	6,66%	86,60%	66,60%	80,00%	60,00%

Na coleta de *swab* de arrasto aos 16 dias observou-se isolamento de *Salmonella* Heidelberg nos grupos desafiados, com exceção do tratamento T5, o qual não apresentou nenhuma positividade (Tabela2).

Tabela 2: Positividade *Salmonella* Heidelberg em *swab* de arrasto, realizados aos 16 dias de idade.

	T1	T2	T3	T4	T5
Positividade	0%	60%	20%	20%	0%

Na coleta de papo aos 31 dias (ao abate), observou-se isolamento de *Salmonella* Heidelberg em todos os grupos desafiados (Tabela 3).

Tabela 3: Positividade para *Salmonella* Heidelberg em amostras de papo realizadas aos 31 dias de idade.

	T1	T2	T3	T4	T5
Positividade	0%	33,33%	6,67%	6,67%	13,33%

Na Tabela 4, pode-se visualizar os resultados das avaliações feitas entre os tratamentos. Observou-se diferença significativa somente quando se compara os grupos desafiados com *Salmonella* Heidelberg e tratados com ácidos orgânicos com o grupo controle negativo, na avaliação de *pools* de intestinos coletados aos nove dias de idade.

Tabela 4: Estimativas Bayesianas a posteriori para pesquisa de *Salmonella* Heidelberg em amostras de *pool* de íleo, tonsilas cecais e cecos, em necropsias realizadas aos 9 dias e amostras de papo realizadas da mesma maneira aos 31 dias de idade.

Contraste*		C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9	C10
9 dias	Delta	-0,7051	-0,5305	-0,6472	-0,4711	0,1747	0,0580	0,2341	-0,1167	0,0593	0,1760
	Valor-p	0,01181	0,01348	0,0125	0,01389	0,1428	0,1336	0,1460	0,1501	0,1599	0,1522
	Significância**	s	s	s	s	ns	ns	ns	Ns	ns	ns
31 dias	Delta	-0,2935	-0,0592	-0,0585	-0,1185	0,2342	0,2349	0,1749	0,0006	-0,0593	-0,0600
	Valor-p	0,01254	0,0937	0,0935	0,1063	0,1354	0,1354	0,1443	0,1065	0,1187	0,1178
	Significância**	s	ns	ns	ns	ns	ns	ns	Ns	ns	ns

*: *Contraste* corresponde às comparações realizadas na análise estatística. Sendo C1: (T1 xT2); C2: (T1 x T3); C3:(T1 x T4); C4:(T1 x T5) C5:(T2 X T3); C6:(T2 x T4); C7:(T2 x T5); C8:(T3 x T4); C9:(T3 x T5); C10(T4 x T5).

** S e NS (significativo e não significativo respectivamente ao nível de 5% de probabilidade).

Avaliando os resultados obtidos para isolamento de *Salmonella* Heidelberg em *pool* de órgãos aos nove dias de idade, observaram-se resultados numericamente melhores nos grupos tratados com o *blend* de ácidos orgânicos, quando comparados com o grupo controle positivo. No tratamento T3, visualizou-se 33,33% de redução na positividade (cinco amostras negativas em 15 amostras coletadas) para *Salmonella* Heidelberg em *pool* de órgãos. No tratamento T4, visualizou-se 20% de redução na positividade (três amostras negativas em 15 coletadas) para *Salmonella* Heidelberg em *pools* de órgãos e no tratamento T5, visualizou-se 40% de redução na positividade (seis amostras negativas em 15 coletadas) para *Salmonella* Heidelberg em *pool* de órgãos. Mesmo sendo observadas diferenças numéricas nestes resultados, os mesmos não obtiveram diferença ($p \geq 0,05$) na comparação com o tratamento T2, que é o controle positivo.

Na avaliação de positividade para *Salmonella* Heidelberg avaliada em papo aos 31 dias de idade, observou-se diferença significativa somente quando comparados o grupo controle negativo com o grupo controle positivo, convalidando que o grupo controle negativo obteve o melhor resultado. Entre os demais tratamentos não houve diferença significativa.

Em relação às análises de papo, obtidas através de necropsias realizadas aos 31 dias de idade, observou-se positividade para *Salmonella* Heidelberg em todos

os grupos desafiados. O número de positivities foi relativamente menor que na avaliação realizada em *pools* de intestinos aos nove dias. No tratamento T3, observou-se redução na positividade para *Salmonella* Heidelberg de 93,33% (uma amostra positiva entre 15 amostras). No tratamento T4, redução de 93,33% (uma amostra positiva entre 15 amostras) e no tratamento T5, redução de 86,67% (duas amostras positivas entre 15 amostras).

Bassan et al. (2008), adicionou ácidos orgânicos e Mananoligossacarídeos (MOS) na ração e tratou pintinhos desafiados com *Salmonella* Enteritidis, com isto obteve resultados semelhantes ao encontrado neste trabalho. Tendo uma redução de 40% na positividade no grupo tratado com ácidos orgânicos e 20% de redução no grupo tratado com MOS, na avaliação de fezes e tonsilas cecais, aos 25 dias de idade.

A grande dificuldade em comprovar a eficácia dos ácidos orgânicos na redução de positividade para *Salmonellas* é fazer com que este produto permaneça ativo até o final do trato gastrointestinal. Esta característica é particular de cada produto levando-se em conta, principalmente, o veículo utilizado na composição do produto e se o mesmo é protegido ou não, o que condiz com o trabalho de Le (2005).

Segundo Le (2005), a única forma de garantir que os ácidos orgânicos sejam efetivos, ou seja, que cheguem ativos as partes inferiores do trato gastrointestinal como o ceco, é protegendo-os dentro de uma matriz que tenha capacidade de passar intacta pela região anterior do trato digestório, sem ser inativado. Sendo que este fato também explica o porquê se obteve um melhor resultado numérico na avaliação de positividade em papo, pois o ácido orgânico chega neste órgão intacto, antes de passar pelo trato gastrointestinal, e tem ação direta sobre o mesmo, sem sofrer ação das enzimas digestivas.

A via de administração do *blend* de ácidos orgânicos apresentou diferentes resultados numéricos para isolamento de *Salmonella* Heidelberg em *pool* de órgãos. Quando administrado via água de bebida, a redução da contaminação foi maior quando comparado com o grupo que recebeu o ácido orgânico via ração.

Quando se buscam na literatura resultados de controle de outros sorotipos de *Salmonellas*, a maioria tem comprovado que ácidos orgânicos são efetivos no controle, principalmente de *Salmonella* Enteritidis (Sterzo et al, 2007 e Bassan et al, 2008).

Rúbio et al.(2009) relatam em seu trabalho, que o uso de ácido butírico

protegido ou não, foram eficazes no controle de *Salmonella* Enteritidis em frangos de corte. Mostram ainda que o ácido butírico protegido com gordura vegetal, foi melhor no controle de excreção fecal de *Salmonella* Enteritidis, quando comparado aos resultados dos tratamentos somente com o ácido orgânico

A Tabela 5 mostra os resultados de isolamento de *Salmonella* Heidelberg em *swab* de arrasto em todos os tratamentos e repetições, bem como suas comparações entre os tratamentos. As amostras de *swab* de arrasto foram coletadas aos 16 dias e não houve diferença significativa em nenhuma avaliação realizada entre os tratamentos. Avaliados os resultados entre os tratamentos de cada amostra feita em cada repetição observou-se: Nenhuma amostra positiva no tratamento T1; Três amostras positivas no tratamento T2; Uma amostra positiva no tratamento T3; Uma amostra positiva no tratamento T4 e nenhuma amostra positiva no tratamento T5.

Tabela 5: Estimativas Bayesianas a posteriori para pesquisa de *Salmonella* Heidelberg em *swab* de arrasto, realizados aos 16 dias de idade.

	Contraste*	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9	C10
Swab16	Delta	-0,4293	-0,2846	-0,1442	0,1363	0,1448	0,2851	0,4293	0,1404	0,2846	0,1442
dias	Valor-p	0,2135	0,2146	0,2009	0,1714	0,2489	0,2383	0,2136	0,2355	0,2131	0,2009
	Significância**	Ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

*: *Contraste* corresponde às comparações realizadas na análise estatística. Sendo C1: (T1 xT2); C2: (T1 x T3); C3:(T1 x T4); C4:(T1 x T5) C5:(T2 X T3); C6:(T2 x T4); C7(T2 x T5); C8:(T3 x T4); C9(T3 x T5); C10(T4 x T5).

** S e NS (significativo e não significativo respectivamente ao nível de 5% de probabilidade).

Pickler et al. (2012) avaliaram a presença/ausência de *Salmonella* Enteritidis em *swab* de cloaca após 48 h de inoculação em grupos tratados com ácidos orgânicos, e como resultado observou que não houve diferença significativa na contagem de amostras de *swab* 48h após a inoculação, mas aos sete dias, a mistura de ácidos orgânicos mostrou ser eficaz no controle da colonização de *Salmonella* Enteritidis no ceco das aves.

Ao analisar as características da *Salmonella* Heidelberg, conclui-se que o baixo número de amostras positivas de *swab* de arrasto encontrados neste trabalho pode estar relacionado aos fatores de que este sorotipo tem, principalmente, a formação de biofilme e a baixa excreção de bactéria nas fezes. Os resultados negativos podem estar associados também ao método utilizado para análise, que tem como resposta a presença ou ausência da bactéria. Ao se realizar a análise com resultados obtidos com avaliação de contagem de células bacterianas, poderíamos analisar melhor estes resultados.

Alali et al. (2013), administraram alguns ácidos orgânicos via água de bebida

e forneceram a aves previamente desafiadas com *Salmonella* Heidelberg. Após analisaram a eficácia destes ácidos no controle da *Salmonella*, fazendo *swab* de arrasto aos 14 dias de idade das aves, concluíram que os ácidos orgânicos não foram eficientes no controle da infecção de *Salmonella* Heidelberg em frangos de corte, resultados muito semelhantes aos encontrados no presente trabalho.

Os ácidos orgânicos não dissociados penetram na célula bacteriana reduzindo o pH interno, fazendo com que as bactérias aumentem o consumo de energia para mantença até morrerem, exercendo assim ação bactericida, o que segundo Lambert e Stratford (1999) é o principal mecanismo de ação dos ácidos orgânicos.

Oliveira et al. (2000) mostraram que os ácidos orgânicos adicionados à ração não foram capazes de prevenir a infecção de aves com os sorovares de *Salmonella* Enteritidis, *Salmonella* Agona, *Salmonella* Infantis e *Salmonella* Typhimurium, na avaliação de *swab* de arrasto aos 15 dias de idade das aves, da mesma forma que os resultados das análises de *swab* de arrasto obtidos neste trabalho não foram significativos para controle de *Salmonella* Heidelberg em relação ao grupo controle positivo.

Analisando os resultados obtidos neste trabalho e comparando com os resultados dos demais autores, podemos observar o quanto é difícil chegar a uma fórmula perfeita para o controle de *Salmonella* em frangos de corte. As normas de biossegurança, conhecidas e validadas, devem sempre andar junto no controle de *Salmonella* em granjas avícolas. Aliado às normas de biossegurança e manejo, outras maneiras de combater a *Salmonella*, são o uso de alguns produtos com este fim, estes devem ser exaustivamente estudados e testados, para gradativamente haver mais opções para aplicar em diferentes situações de campo.

A partir disso, surge a necessidade de mais estudos do uso deste *blend* de ácidos orgânicos no controle de *Salmonella* Heidelberg, assim como também mais estudos voltados para o controle da *Salmonella* Heidelberg em especial, pois está é um dos principais sorotipos evidenciados no sul do Brasil, principalmente no Paraná.

6. CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos em avaliações de *pool* de órgãos, de papo e de *swab* de arrasto, pode se concluir que o uso do *blend* de ácidos orgânicos fornecidos via água de bebida ou/e ração, não foi eficaz na redução do percentual de isolamento de *Salmonella* Heidelberg em frangos de corte previamente desafiados com *Salmonella* Heidelberg.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALALI, W. Q, et al; Effect of essential oil compound on shedding and colonization of *Salmonella enterica* serovar Heidelberg in boilers. **Poultry Science**, v. 92, p.836-841. 2013.

BASSAN, Joana Darc, et al; Controle da infecção por *Salmonella Enteritidis* em frangos de corte com ácidos orgânicos e mananoligossacarídeo. **Ciencia Rural**, v.38, n.7. 2008.

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

BRASIL. Ministério da Saúde. Coordenação de Vigilância das doenças de transmissão hídrica e alimentar. **Análise epidemiológica de surtos de doenças transmitidas por alimentos no Brasil**. Brasília, 2011. Disponível em: <http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/analise_ep_surtos_dta_brasil_2011.pdf>

CHIQUIERI, J. et al; Ácidos orgânicos na alimentação de leitões desmamados, **Arquivos de zootecnia** vol. 58, pag. 612. 2009.

CHITTICK, Paul et al; Summary of National Reports of foodborn outbreaks of *Salmonella Heidelberg* infections in the United States: clues for disease prevention. **Journal of Food Protection**, vol.69, n.5, pag.1150-1153. 2006.

COLLA F.L.; Isolamento de *salmonella heidelberg* em diferentes pontos da tecnologia de abate de frangos de corte. **Arq. Inst. Biol**, São Paulo, vol.79, n.4, pag.603-606, 2012.

DEMCZUK, Walter et al; Phage-based typing scheme for *Salmonella enterica* Serovar Heidelberg, a causative agent of food poisonings in Canada. **Journal of Clinical Microbiology**, vol.41, n.9, pag.4279-4284, 2003.

DHAWALE, A; Better eggs hell quality with a gut acidifier. **Poultry International**, vol. 44, pag. 18–21, 2005

DICKEL, Elci Lotar; **Utilização da técnica microbiológica convencional, reação em cadeia pela polimerase (PCR) e ensaio imunoenzimático (ELISA) no**

monitoramento de Salmonella em carcaças de frango para o controle higiênico sanitário do processo de abate. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias) - Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2004.

DIBNER, J. J; BUTTIN, P; Use of organic acids as a model to study the impact of gut microflora on nutrition and metabolism. **Journal of Applied Poultry Research**, vol. 11, no. 4, pag. 453–463, 2002.

EUROPEAN FOOD SAFETY AGENCY (EFSA), 2012. The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2010. **EFSA Journal** 10(3):2597.

FORSHELL, L.P.; WIERUP, M; Salmonella contamination: a significant challenge to the global marketing of animal foods products. **Revue Scientifique Technique Office International des Epizooties**, Paris, vol.25, n.2, pag.541-554. 2006.

GAST, Richard K; Salmonella infections – Paratyphoid Infections. **Disease of Poultry**. pag.636-665. 2008.

GAST, Richard K. et al; Applying tests specific yolk antibodies to predict contamination by Salmonella Enteritidis in eggs from experimentally infected laying hens. Avian Diseases, **Kennett Square**, vol. 41, n. 1, pag. 195-202, 1997.

GRIMONT, P. A. D., WEILL, F. X. Antigenic Formulae of the Salmonella Serovars. WHO Collaborating Center for Reference and Research on Salmonella. France: **Institute Pasteur**. 2007.

GUIBOURDENCHE, M., ROGGENTIN, P., MIKOLEIT, M., FIELDS, P. I., BOCKEMÜHL, J., GRIMONT, P. A. D., WEIL, F.-X. Supplement 2003 – 2007 (No. 47) to the White – Kauffmann – Le Minor scheme. **Research in Microbiology**. v.161, p. 26 – 29, 2010.

HAYASHI, Ricardo M.; Acidificantes ganham espaço na alimentação animal. **A Lavoura** NO 689, 2012.

HEIDELBERGER, P., Welch, P. 1983. Simulation run length control in the presence of an initial transient. **Operations Research**, Baltimore. vol 31: pag. 1109-44. 1983.

HERMANN, S. Principais pontos críticos de controle de ciclo da *Salmonella* na cadeia de produção avícola. **XIII Simpósio Brasil Sul de Avicultura**, Chapecó (SC). pag.13-26, 2012.

LAMBERT, R. J. e STRATFORD, M. Weak-acid preservative: modeling microbial inhibition and response. **Journal of applied Microbiology**. v. 86, p. 157-164. 1999.

LE, N.Y. Use of organic acids in poultry production. Mode of action and applications. I **Fórum internacional de avicultura**. Foz do Iguaçu, p. 158-164. 2005.

LÜCK, Erich; JAGER, Martin. Antimicrobial food additives: characteristics, uses, effects, **Springer-Verlag, Berlin, Germany** pp: 137: 144,239, 1997.

NASCIMENTO, Vladimir Pinheiro et al; Exigências Internacionais na qualidade microbiológica da carne de frangos para exportação. **Simpósio Brasil Sul de Avicultura**, Chapecó, SC. Anais. 2012.

NURIA, C.R.M et al. An overview of the effect of organic acids on gut flora and gut health Danish Institute of Agricultural Science, **Research Centre Foulum, Denmark**. 2004.

OLIVEIRA, Glaucia Helaine; BERCHIERI, Junior Angelo; BARROW, Paul A. Prevention of *Salmonella* infection contact using intestinal flora of adult birds and/or a mixture of organic acids. **Brazilian Journal of Microbiology**. São Paulo. vol.31 n.2 2000.

OSTERMANN, P. et al. Metabolismo e bases conceituais para a ação benéfica de ácidos orgânicos para frangos de corte. **Ave World: A Revista do Agricultor Moderno**, vol 3, n.15, pag.28- 31, 2005.

PARRY, C.M. Antimicrobial drug resistance in *Salmonella enterica*. **Opinion in Infectious Diseases**, v. 16, p. 467–472, 2003.

PARTANEN, Kirsi H; MROZ, Zdzislaw; Organic acids for performance enhancement in pig diets. **Nutrition research review**, vol.12, pag.117-145, 1999.

PICKLER, Larissa, et al; Avaliação microbiológica, histológica e imunológica de frangos de corte desafiados com *Salmonella Enteritidis* e Minnesota e tratados com ácidos orgânicos. **Pesq. Vet. Bras.**, v.32, p. 27-36. 2012.

PINTO, Paulo Sergio de Arruda; Aspectos sanitarios da salmonelose como uma zoonose. **Rev. Higiene Alimentar**. Vol. 14, n. 73, pag 39-43, Junho de 2000.

PORTER, Susan B; CURTISS, Roy; Effect of inv Mutations on Salmonella Virulence and Colonization in – Day – Old White Leghrn Chicks. **Avian Diseases**, vol. 41, pag. 45 – 57, 1997.

R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. **R Foundation for Statistical Computing**, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>. 2014.

ROSTAGNO, Horacio. S. et all; Tabelas brasileiras para aves e suínos. Composição de alimentos e exigências nutricionais. 2ª ed. Viçosa: UF, 2005.

RODRIGUES, Dália dos Prazeres; Perspectivas atuais e falhas no diagnostico antigênico de Salmonella spp: importância no reconhecimento dos sorovares circulantes, emergentes e exóticos. **Seminário Internacional Sobre Salmoneloses Aviárias**, Rio de Janeiro, RJ. Anais..., CD Room. 2011.

RUBIO, Fernandez. et al; Butyric acid-based feed additives help protect broiler chickens from Salmonella Enteritidis infection. **Poultry Science**, v.88, p, 943-948. 2009.

STERZO, Elton Vinicius; VARZONE, José Ricardo Mattos; FERRARI, Rosana; Salmoneloses aviárias **Ensaio e Ciência: Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde**, Universidade Anhanguera Brasil vol. 12, n. 2, pag. 129-138, 2008.

STERZO, Elton Vinicius, et al; Organic acids and/or compound with defined microorganisms to control Salmonella enterica serovar Enteritidis experimental infection in chickens. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v.9 , n.1 p. 69 – 73. 2007.

SILVA, João Andrade; SOARES Leonardo Ferreira; COSTA, Elizabete Lourenço; Sanitização de Carcaças de Frango com Soluções de Ácidos Orgânicos Comerciais e Suco de Limão - **Revista Tec. Carnes**. Campinas, SP, vol.3, n.1, pag.19-26. 2001.

UBA (União Brasileira de Avicultura), Relatório Anual, 2014

UBPA – Relatórios Anuais. União Brasileira de Proteína Animal. Disponível em http://www.ubabef.com.br/a_avicultura_brasileira/historia_da_avicultura_no_brasil. Acesso em: 17 de junho de 2014.

WEISS, Lúcia et al; M., Ocorrência de Salmonella sp em suínos de terminação no Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, vol.22, n.3, pag.104-108, 2002.