

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

LOURENÇO SAUSEN

**USO DE *BLEND* DE ÁCIDOS ORGÂNICOS NO CONTROLE DA DISSEMINAÇÃO
DE *SALMONELLA* HEIDELBERG EM FRANGOS DE CORTE**

DISSERTAÇÃO

DOIS VIZINHOS

2015

LOURENÇO SAUSEN

**USO DE *BLEND* DE ÁCIDOS ORGÂNICOS NO CONTROLE DA DISSEMINAÇÃO
DE *SALMONELLA* HEIDELBERG EM FRANGOS DE CORTE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Zootecnia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Zootecnia - Área de Concentração: Produção e Nutrição Animal.

Orientação: Prof.^a Dr.^a Angélica Signor Mendes

DOIS VIZINHOS

2015

S259u Sausen, Lourenço.

Uso de *Blend* de ácidos orgânicos no controle da disseminação de *Salmonella* Heidelberg em frangos de corte – Dois Vizinhos: [s.n], 2015
64f.

Orientadora: Angélica Signor Mendes.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Programa de Pós-graduação em Zootecnia.

Dois Vizinhos, 2015.

Inclui bibliografia

1.Frango de corte 2.Salmonelose 3.Segurança alimentar I. Mendes, Angélica Signor, orient. II.Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Dois Vizinhos.III.Título.

CDD: 636.513

Ficha catalográfica elaborada por Rosana Oliveira da Silva CRB:9/174

AGRADECIMENTOS

Meus agradecimentos à minha família, que sempre me apoiou em todos os momentos, sendo exemplos pessoais e profissionais a serem seguidos.

À minha noiva Sally pelo empenho incondicional durante todo o mestrado e pelo amor, carinho e compreensão em mim depositados.

À Professora Dr^a Angélica Signor Mendes, pela oportunidade de estar fazendo este Mestrado junto ao PPGZO, por acreditar no meu potencial, e pela ajuda durante todo este processo.

Aos estagiários: Daniel Müller, Rosiane Uliana, Cássia Zapparoli, Romário Bellorini, Jonata da Costa, Douglas Bonamigo, muito obrigado pela ajuda incondicional, pois sem vocês, este trabalho não teria sucesso.

À Professora Msc. Rosana Refatti Sikorski, pela ajuda durante o projeto de mestrado e pela orientação na Docência Orientada. Muito Obrigado.

Aos colegas de mestrado e amigos, Elisandro Rafael Dias e Claudia Helena Zago Dias. Muito obrigado por toda a ajuda durante o Mestrado.

Ao amigo Ronaldo João Scariot, por permitir que eu realizasse o mestrado, mesmo estando trabalhando. Muito obrigado, pois não teria como realizá-lo sem esta ajuda.

Ao amigo João Nelson Tolfo Arruda, pelo exemplo e apoio, pessoal e profissional, durante esta jornada. Muito Obrigado.

Agradeço a todos que de alguma forma contribuíram para a conclusão de mais esta etapa acadêmica de minha carreira.

Muito Obrigado!!!



Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Câmpus Dois Vizinhos
Diretoria de Pesquisa e Pós-Graduação
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia



TERMO DE APROVAÇÃO

Título da Dissertação nº 048

Uso de *blend* de ácidos orgânicos no controle da disseminação de *Salmonella* Heidelberg em Frangos de Corte

Laurenço Sausen

Dissertação apresentada às oito horas e trinta minutos do dia vinte e quatro de abril de dois mil e quinze, como requisito parcial para obtenção do título de MESTRE EM ZOOTECNIA, Linha de Pesquisa – Produção e Nutrição Animal, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia (Área de Concentração: Produção animal), Universidade Tecnológica Federal do Paraná, *Câmpus* Dois Vizinhos. O candidato foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho.

Banca examinadora:

Angélica Signor Mendes
UTFPR-DV

Antônio Carlos Pedroso
UFFS - Realeza

Marta Helena Dias da Silveira
UTFPR-PB

Prof. Dr. Ricardo Yuji Sado
Coordenador do PPGZO

*A Folha de Aprovação assinada encontra-se na Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia.

SAUSEN, Lourenço. **Uso de *blend* de ácidos orgânicos no controle da disseminação de *Salmonella Heidelberg* em Frangos de Corte**. 2015. 64 folhas. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Dois Vizinhos, 2015.

RESUMO

Com o aumento da densidade populacional e com as mudanças demográficas humanas, vem se relatando um aumento gradativo da incidência de casos de doenças transmitidas por alimentos, sendo a *Salmonella* o principal agente causador dos surtos de toxinfecções alimentares. Diversos países, como os Estados Unidos, Canadá e União Europeia têm como o principal agente causador de toxinfecções alimentares a *Salmonella*. No Brasil, na última década, este agente foi o principal causador de doenças transmitidas por alimentos. Essa bactéria é um bacilo Gram-negativo, não formador de esporos e devido a diferenças bioquímicas subdivide-se em duas espécies: *Salmonella bongori* e *Salmonella enterica* sendo que a última divide-se em seis subespécies: *enterica*, *salamae*, *arizonae*, *diarizonae*, *houtenae* e *indica*. A *Salmonella enterica enterica* sorovar Heidelberg é um dos principais sorovares encontrados em aves que está relacionado com Salmonelose em humanos. Nos últimos anos a principal forma de controle de enfermidades bacterianas foi o uso de antibióticos. O uso generalizado destas drogas como ferramenta preventiva vem sendo muito questionado, uma vez que estão aparecendo bactérias patogênicas sensíveis aos antibióticos em várias partes do mundo. A proibição de diversos antibióticos na avicultura moderna tem gerado a necessidade do desenvolvimento de novas formas de controle das infecções bacterianas e também da melhora no desempenho zootécnico das aves. Os ácidos orgânicos vêm sendo usados largamente na avicultura moderna com este fim e têm como principal mecanismo de ação, a atividade antimicrobiana, devido à redução do pH no interior da célula microbiana agindo como inibidores do crescimento bacteriano. Porém não existem estudos que possam comprovar quais ácidos orgânicos, ou qual mistura de ácidos orgânicos são mais eficazes para cada sorotipo de *Salmonella*. Neste contexto o objetivo do presente estudo é abordar por meio de uma revisão bibliográfica a importância da *Salmonella* na saúde pública e os ácidos orgânicos como relevante ferramenta de controle de Salmonelose, principalmente no controle de *Salmonella Heidelberg*. Um segundo objetivo é elaborar um capítulo com um artigo intitulado: “Uso de *blend* de Ácidos Orgânicos no Controle da Disseminação de *Salmonella Heidelberg* em Frangos de Corte”.

Palavras-chave: Saúde das aves, Saúde Pública, Segurança Alimentar. Ácidos Orgânicos, *Salmonella Heidelberg*.

SAUSEN, Lourenço. **Use of organic acids blends on the control of Salmonella Heidelberg in Broilers**. 2015. 64 leaves. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Dois Vizinhos, 2015.

ABSTRACT

With the increased population density, as well as human demographic changes, reporting has been increasingly, the incidence of food-borne illnesses being Salmonella, the main cause of the schedule of food poisoning outbreaks. Several countries as United States of America, Canada and European Union have as the main causative agent of food poisoning the. In Brazil, in the last decade Salmonella bacteria was the main cause of foodborne illness. The Salmonella bacteria is a Gram-negative bacillus, non-spore-forming and due to biochemical differences subdivided into two species: Salmonella bongori and Salmonella enterica and the last subdivided into six subspecies: enterica, salamae, arizonae, diarizonae, houtenae and indica. The Salmonella enterica entérica serovar Heidelberg is a major serovars found in birds that is related to salmonellosis in humans. In recent years the main way to control diseases bacterians was the use of antibiotics. The widespread use of these drugs as a preventive tool has been widely questioned, as are appearing pathogenic bacteria sensitive to antibiotics in several parts of the world. The prohibition of various antibiotics in modern poultry industry has generated the need to develop new ways of controlling bacterial infections and also the improvement in the performance of birds. The organics acids has been widely used in modern poultry industry for this purpose and have the main mechanism of action, antimicrobial activity, due to reduction of the pH within the microbial cell acting as bacterial growth inhibitors. But there are no studies to prove that organic acids, or which mixture of organic acids that are most effective for each type of Salmonella. In this context, the objective of this study is to address through a literature review the importance of Salmonella in public health and organic acids as relevant Salmonellosis control tool, especially in Salmonella control Heidelberg. A second objective is to create a chapter with an article entitled: "Use of organic acids blend in the control of Salmonella Heidelberg in Broiler Chickens".

Keywords: Bird health , Public Health, Food Safety, Organic acids, Salmonella Heidelberg.

LISTA DE TABELAS

Capítulo 1

- Tabela 1 - Estimativas Bayesianas para a conversão alimentar (CA) a *posteriori* aos sete dias de idade dos tratamentos.....pagina 67
- Tabela 2. Estimativas Bayesianas para a conversão alimentar (CA) a *posteriori* aos 14 dias de idade dos tratamentos.....pagina 67
- Tabela 3. Estimativas Bayesianas para a conversão alimentar (CA) a *posteriori* aos 21 dias de idade dos tratamentos.....pagina 68
- Tabela 4. Estimativas Bayesianas para a conversão alimentar (CA) a *posteriori* aos 28 dias de idade dos tratamentos.....pagina 68
- Tabela 5. Estimativas Bayesianas para a conversão alimentar (CA) a *posteriori* aos 31 dias de idade dos tratamentos.....pagina 69
- Tabela 6. Estimativas Bayesianas para peso médio (PM) a *posteriori* aos sete dias de idade dos tratamentos.....pagina 69
- Tabela 7. Estimativas Bayesianas para peso médio (PM) a *posteriori* aos 14 dias de idade dos tratamentos.....pagina 70
- Tabela 8. Estimativas Bayesianas para peso médio (PM) a *posteriori* aos 21 dias de idade dos tratamentos.....pagina 70
- Tabela 9. Estimativas Bayesianas para peso médio (PM) a *posteriori* aos 28 dias de idade dos tratamentos.....pagina 71
- Tabela 10. Estimativas Bayesianas para peso médio (PM) a *posteriori* aos 31 dias de idade dos tratamentos.....pagina 71
- Tabela 11. Estimativas Bayesianas a *posteriori* para pesquisa de *Salmonella* Heidelberg em amostras de pool de íleo, tonsilas cecais e cecos, em necropsias realizadas aos nove dias e amostras de papo em necropsias realizadas aos 31 dias de idade.pagina 72
- Tabela 12. Estimativas Bayesianas a *posteriori* para pesquisa de *Salmonella* Heidelberg em suabe de arrasto, realizados aos 16 dias de idade.pagina 72

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL.....	9
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	14
2.1 <i>SALMONELLA</i> : CARACTERÍSTICAS GERAIS	14
2.2 <i>SALMONELLA</i> HEIDELBERG E TOXINFECÇÕES EM HUMANOS	15
2.3 <i>SALMONELLA</i> HEIDELBERG EM AVES	17
2.4 HOMEOSTASE INTESTINAL EM AVES	19
2.5 RESISTÊNCIA A ANTIMICROBIANOS	21
2.6 FORMAS DE CONTROLE DE <i>SALMONELLA</i> EM FRANGOS DE CORTE	22
REFERÊNCIAS.....	28
CAPÍTULO 1.....	37
RESUMO.....	38
INTRODUÇÃO	40
MATERIAL E MÉTODOS	41
Animais, Ambiente e Dieta do Experimento.	42
Delineamento Experimental.....	43
Preparação do inóculo de <i>Salmonella</i> Heidelberg e desafio das aves.....	44
Desempenho zootécnico.....	44
Análises Microbiológicas.....	45
Isolamento de <i>Salmonella</i> Heidelberg.....	46
Análise Estatística	46
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	48
Desempenho Zootécnico	48
Isolamento de <i>Salmonella</i> Heidelberg.....	53
CONCLUSÕES	58
REFERÊNCIAS.....	61
TABELAS	67

1 INTRODUÇÃO GERAL

Nas últimas décadas a densidade populacional aumentou consideravelmente, aumentando também a demanda por alimentos. Estes fatores fazem com que as indústrias de proteína animal busquem aumentar a produção de alimentos. Nesse contexto, cada vez mais tem se relatado doenças transmitidas por alimentos. Essas doenças estão relacionadas com as mudanças nos sistemas de criação por parte das empresas. A globalização do comércio em geral, como também a modernização dos processos produtivos, leva às indústrias a se adequarem para atender a demanda de alimentos, devido aos hábitos alimentares da população em geral (CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION, 2007).

Considerando os problemas de doenças transmitidas por alimentos, a *Salmonella*, aparece como um dos agentes mais importantes em surtos de toxinfecções alimentares. Governos de diversos países adotaram programas de prevenção a fim de melhorar o nível de segurança alimentar dos seus produtos. Exemplos podem ser citados em países como a Dinamarca, Suécia, Finlândia, Estados Unidos da América e Reino Unido, que adotaram controles rígidos para a redução das *Salmonellas* em toda a cadeia de produção (LAKE et al., 2002).

Dentre os diversos patógenos vinculados aos alimentos, o gênero *Salmonella* destaca-se como um dos mais importantes, principalmente pela sua característica de estar amplamente distribuído na natureza, e possuir um grande número de reservatórios. Além disso, apresenta sorotipos inespecíficos quanto aos hospedeiros, apresentando cepas multirresistentes aos antimicrobianos (BERSOT, 2006).

Devido aos enormes riscos de transmissão vertical, ou transmissão dos ovos e da carne aos seres humanos, um dos mais temidos problemas sanitários na avicultura é o surgimento de uma Salmonelose nos planteis, principalmente quando falamos em contaminação por *Salmonella Gallinarum*, *Salmonella Typhimurium*, *Salmonella Enteritidis* ou mais recentemente *Salmonella Heidelberg* (BERCHIERI, 1993).

A Salmonelose está entre as doenças que mais causam problemas por transmissão alimentar, sendo considerada a segunda mais frequente em países como Estados Unidos, Canadá e União Européia, onde é causa de aproximadamente 14% dos surtos ocorridos no ano de 2010 (EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY, 2012). No Brasil desde 1999 até 2011, dados do Ministério da Saúde apontam a *Salmonella* como a principal bactéria causadora de doenças transmitidas por alimentos no Brasil (BRASIL, 2011).

O Brasil tem seus esforços no Plano Nacional de Sanidade Avícola (PNSA) que visa à manutenção do *status* sanitário dos plantéis avícolas e no programa de Redução de Patógenos, instituído no Governo Federal em Outubro de 2003, visando à inocuidade dos alimentos, mediante o controle do sistema de produção (BRASIL, 2003).

A infecção causada por bactérias do gênero *Salmonella* da família Enterobacteriaceae, tem como nome o termo “Salmonelose”. Sendo esta bactéria um bacilo Gram-negativo, não formador de esporos que se divide em duas espécies, devido as suas diferenças bioquímicas, sendo essas: *Salmonella bongori* e *Salmonella entérica*. Sendo que a última subdivide-se em seis subespécies: *entérica*, *salamae*, *arizonae*, *diarizonae*, *houtenae* e *indica*.

São anaeróbios facultativos, produzem gás a partir de glicose (exceto *Salmonella* Typhimurium) e são capazes de utilizar o citrato como única fonte de carbono. A maioria é móvel, através de flagelos peritríquios, exceção desta à *Salmonella* Pullorum e à *Salmonella* Gallinarum, que são imóveis. A taxonomia do gênero *Salmonella* é baseada na composição de seus antígenos de superfície, que são os antígenos somáticos (O), os flagelares (H) e os capsulares (Vi) (FRANCO e LANDGRAF, 2004).

Os antígenos O são designados por números arábicos (1, 2, 4, etc.). Os antígenos H são designados por letras minúsculas do alfabeto e por números arábicos. Só existe um tipo imunológico de antígeno Vi, encontrado somente em *S. typhi*, *S. Dublin* e *S. hirschfeldii*. Os antígenos O e Vi são termorresistentes, não sendo destruídos pelo aquecimento a 100° C por duas horas. Os antígenos H são termolábeis. Para determinação do sorotipo de uma *Salmonella*, os antígenos H que recobrem a célula precisam ser eliminados pelo aquecimento (FRANCO e LANDGRAF, 2004).

A atividade de água (Aw) afeta diretamente o desenvolvimento da bactéria embora o limite mínimo seja de 0,94, as *Salmonellas* podem sobreviver por até mais de um ano em alimentos com baixa Aw (GERMANO 2008).

O pH ótimo para a multiplicação das salmonelas fica próximo de 7,0, sendo que valores superiores a 9,0 e inferiores à 4,0 são bactericidas. Dependendo da natureza do ácido utilizado para a acidificação, o pH mínimo pode subir para 5,5. O ácido acético, o ácido propiônico e o ácido butírico são mais inibitórios do que o ácido clorídrico ou o ácido acético, para um mesmo pH. As *Salmonellas* não toleram concentrações de sal superiores a 9%. O nitrito é inibitório e seu efeito é acentuado pelo pH ácido. A temperatura ideal para a multiplicação da *Salmonella* é 35-37° C, sendo a mínima de 5° C e a máxima de 47° C. Porém valores máximo e mínimo dependem do sorotipo (FRANCO e LANDGRAF, 2004).

No Canadá e nos Estados Unidos, o sorovar *Salmonella entérica entéria* Heidelberg, tem aparecido como o terceiro e quarto, respectivamente, isolados em doenças transmitidas por alimentos. (CHITTICK et al., 2006).

No Brasil, desde 1962, a *Salmonella* Heidelberg tem sido isolada de aves e produtos derivados (HOFER et al., 1997). A presença deste sorovar em carcaças e partes de frangos na região Sul do Brasil foi reportada por Borsoi et al. (2006).

A *Salmonella* Heidelberg tem sido identificada como um agente patogênico transmitido por ovo. Por muitos anos a mesma *Salmonella* tem estado entre os sorotipos mais comumente encontrados na América do Norte em lotes de galinhas poedeiras e seu ambiente de habitação. Em estudos experimentais de infecção, a inoculação oral de galinhas poedeiras com *Salmonella* Heidelberg tem causado colonização dos órgãos reprodutores e também a contaminação interna dos ovos. Quando comparamos a frequência de isolados de diferentes sorotipos de *Salmonella* em ovos, podemos identificar que há maior incidência de *Salmonella* Heidelberg, quando comparados a *Salmonella* Enteritidis (GAST et al. 2007).

Yao et al. (2011) relata que devido ao sistema de produção em confinamento e aos programas nacionais de isolamento e identificação de *Salmonella* Spp, as aves têm se mantido como os maiores reservatórios de *Salmonella* Spp existentes. Tendo o isolamento feito em aves e também em seus subprodutos. Dentre os sintomas mais comumente relatados em seres humanos, podemos citar: diarreia, febre, e cólicas abdominais, sendo que estes ocorrem normalmente de 12 a 72 horas após o consumo de alimentos de origem animal, contaminados (CDC 2010). A prevenção e o controle desta doença são um grande desafio há muitos anos (LAHIRI et al., 2010).

A *Salmonella* Heidelberg não é espécie-específica de aves, portanto, não induz sinais clínicos em aves. Por outro lado, causa enormes prejuízos na cadeia avícola devido a barreiras sanitárias de exportação de produtos cárneos, além de aumento nos dias de vazio sanitário dos lotes contaminados. Nas plantas frigoríficas têm-se grandes prejuízos financeiros, onde a mesma passa por vários processos de limpeza após abater lotes contaminados com esta bactéria.

A grande preocupação com os aspectos relacionados à Salmonelose em seres humanos impõe para a cadeia avícola a busca incansável por alternativas que minimizem o aparecimento de lotes contaminados por esta bactéria. As alternativas são basicamente voltadas para o cumprimento de rigorosos procedimentos que envolvem Boas Práticas de Produção (BPP), blindagem das propriedades e um intensivo programa de biossegurança na produção de carnes e ovos. Junto às ferramentas de biossegurança, a cadeia avícola busca

outras ferramentas que auxiliem no controle e disseminação de *Salmonella* nos planteís avícolas, como é o caso do uso de ácidos orgânicos como forma de controle de *Salmonella* Heidelberg em frangos de corte, através de pesquisas voltadas para o tema.

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 medidas preventivas, uma vez que estão surgindo, cada vez mais, casos de resistência aos antimicrobianos por bactérias patogênicas. (PARRY, 2003).

Segundo Cox e Pavic (2010), alguns antibióticos podem facilitar a colonização, aumentar a excreção e prolongar a disseminação de *Salmonella* Spp. Nessa forma de pensar, foram proibidos diversos tipos de antibióticos na avicultura, e isto tem gerado a necessidade do desenvolvimento de novas formas de controle das infecções bacterianas.

Pensando em auxiliar na prevenção e controle das infecções bacterianas patogênicas, são adicionados ácidos orgânicos à dieta dos frangos. Estes tem ação antimicrobiana alterando o pH (Potencial Hidrogeniônico) intestinal, tendo ação principalmente em bactérias Gram negativas (OSTERMANN et al., 2005).

Unindo-se medidas nutricionais, de manejo e biosseguridade, o uso de ácidos orgânicos, pode ser uma ferramenta poderosa para manter a saúde do trato gastro-intestinal das aves, melhorando o rendimento zootécnico e diminuindo a incidência de contaminações por *Salmonellas*, sem riscos de resíduos na carne e ovos, como é o caso do uso de antibióticos para este fim. (PARTANEN e MROZ, 1999).

Segundo Cherrington et al. (1991) e Roth et al. (1998), os ácidos orgânicos tem como principal mecanismo de ação a atividade antimicrobiana devido a redução do pH no interior da célula microbiana. Os ácidos orgânicos agem como inibidores do crescimento bacteriano, por isso são usados largamente como conservantes de grãos e alimentos, usados para sanitização do alimento e também como promotor de crescimento em dietas animais.

Um dos principais desafios da avicultura moderna é a busca de um equilíbrio entre a microbiota intestinal e o hospedeiro, seja através de produtos químicos ou através de conforto térmico ou a união destes dois fatores. Este equilíbrio baseia-se em eliminar microorganismos maléficos á microbiota intestinal e manter os microorganismos benéficos ao animal sem alteração da microbiota intestinal do hospedeiro. Na busca de soluções para manter este equilíbrio, alguns produtos químicos podem auxiliar neste controle, como é o caso dos ácidos orgânicos, que são usados como melhoradores de desempenho zootécnico das aves, assim como moduladores da microbiota intestinal.

Frente a isso, este estudo tem como objetivo abordar, por meio de uma revisão bibliográfica, a importância da *Salmonella* Heidelberg na saúde pública, assim como na avicultura moderna. Além disso, objetiva avaliar o uso de ácidos orgânicos no controle de bactérias patogênicas e avaliar experimentalmente a eficácia de um *blend* de ácidos orgânicos como ferramenta no controle de *Salmonella* Heidelberg e o seu efeito sob o desempenho zootécnico das aves desafiadas com *Salmonella* Heidelberg. Para tal elaborou-se um capítulo com o artigo intitulado: “Uso de *blend* de ácidos orgânicos no controle da disseminação de *Salmonella* Heidelberg em frangos de corte”.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 *SALMONELLA*: CARACTERÍSTICAS GERAIS

Salmonella é um bacilo Gram negativo, aeróbio ou anaeróbio facultativo, não formador de esporos, oxidase positivo, catalase negativo, fermenta açúcares com produção de gás, produção de H₂S, comporta-se como patógeno intracelular facultativo e é normalmente móvel com flagelos peritríqueos, exceto para *Salmonella Pullorum* e *Salmonella Gallinarum* que são imóveis (FORSHELL e WIERUP, 2006). O gênero *Salmonella* consiste de apenas duas espécies: *Salmonella enterica* e *Salmonella bongori*. A espécie *Salmonella enterica* é dividida em seis subespécies: *enterica*, *salamae*, *arizonae*, *diarizonae*, *houtenae* e *indica* (GRIMONT e WEILL, 2007).

Em cada subespécie são reconhecidos diferentes sorovares totalizando na atualidade 2.610, segundo o esquema clássico de Kauffman-White, com base na caracterização de seus antígenos H (flagelares), O (somático) e ocasionalmente Vi (capsular). A distribuição de acordo com as espécies e subespécies é como se segue: *Salmonella enterica* subespécie *enterica* (1.547 sorovares); *Salmonella enterica* subespécie *salamae* (513 sorovares); *Salmonella enterica* subespécie *arizonae* (100 sorovares); *Salmonella enterica* subespécie *diarizonae* (341 sorovares); *Salmonella enterica* subespécie *houtenae* (73 sorovares); *Salmonella enterica* subespécie *Indica* (13 sorovares); *Salmonella bongori* (23 sorovares); os quais não reconhecem a espécie proposta *Salmonella subterranea* tendo sido a mesma inserida como sorovar da espécie *bongori* (GUIBOURDENCHE et al., 2010).

Segundo Rodrigues (2011), a doença causada por *Salmonella* é genericamente chamada de Salmonelose, e seu *habitat* natural pode ser dividido em três categorias com base na especificidade do hospedeiro e padrão clínico por ele determinado: *Salmonellas* altamente adaptadas ao homem incluindo *Salmonella Typhi* e *Salmonella Paratyphi* (A, B e C), que são agentes da febre entérica; *Salmonellas* altamente adaptadas aos animais, *Salmonella Dublin* (bovinos), *Salmonella Choleraesuis* e *Salmonella Typhisuis* (suínos), *Salmonella Pullorum* e *Salmonella Gallinarum* (aves), responsáveis pelo paratifo animal. As *Salmonellas* zoonóticas, responsáveis por doenças de transmissão por alimentos, são correspondentes à terceira categoria. Estas são detectadas na maioria dos animais utilizados para alimentação animal, além de animais silvestres e animais domésticos.

A *Salmonella enterica* sorovar Heidelberg, é uma *Salmonella* paratifoide pertencente

ao grupo “B”, e é um frequente agente de infecções de origem alimentar em seres humanos, sendo uma preocupação em saúde pública mundialmente, (DAVIS et al., 2008; NAYAK et al., 2007; DEMCZUK et al., 2004), por ocasionar infecções invasivas e mortalidade em seres humanos (HAN et al., 2012).

2.2 SALMOENELLA HEIDELBERG E TOXINFECÇÕES EM HUMANOS

O crescimento do comércio internacional e o aumento da demanda por carne de frango elevou a disseminação de agentes patogênicos e contaminantes nos alimentos consumidos principalmente *in natura*. O mundo está inter-relacionado e interdependente, devido a isso, os surtos de doenças transmitidas por alimentos têm se tornado uma ameaça potencial para o mundo inteiro (TAUXE et al., 2010).

Analisando os dados da Organização Mundial da Saúde (OMS), a *Salmonella*, é o agente bacteriano que está mais frequentemente envolvido em casos de doenças transmitidas por alimentos em todo o mundo. Sendo os principais transmissores desta doença, os alimentos feitos com carne, ovos e leite contaminados (NASCIMENTO et al., 2012).

Vários autores vêm descrevendo o aumento de toxinfecções alimentares em humanos, relacionados à contaminação dos alimentos por *Salmonella* Heidelberg, e segundo Foley e Lynne (2008), a subespécie *Salmonella* entérica sorovar Heidelberg é umas das cinco principais *Salmonellas* associadas a estes problemas, e também uma das mais comumente isoladas em galinhas, perus e suínos. Quando se trata de *Salmonellas* isoladas em ingredientes de origem animal e ração, a *Salmonella* Heidelberg está ocupando a 4ª posição entre os sorotipos mais isolados a infecções em seres humanos (HAN et al., 2011).

O Sorovar Heidelberg está entre os três principais agentes isolados de pessoas com toxinfecções alimentares por *Salmonella* na América do Norte, maior até que em outras regiões do mundo (MENCONI, 2011).

No Brasil, a *Salmonella* Heidelberg foi isolada, e é relatada, desde 1962 em aves e produtos de origem avícola (BORSOI et al., 2011), sendo o nono sorovar em ordem de maior prevalência no país, ocorrendo, principalmente nas regiões Centro Oeste, Sudeste e Sul. Entre estes, os estados do Sul aparecem com mais casos de isolamentos, sendo a *Salmonella* Heidelberg, a quinta *Salmonella* de maior prevalência na região (FREITAS e SANTOS, 2011).

As toxinfecções alimentares por *Salmonella* Heidelberg em humanos tendem a causar uma porcentagem muito alta de infecções invasivas, diferentemente das demais

toxinfecções, que são autolimitantes e resolvem-se dentro de alguns dias. No caso da *Salmonella* Heidelberg, a terapia antimicrobiana é justificada pelos efeitos colaterais que surgem, fazendo com isso, a resistência aos antibióticos uma preocupação. Sorovares resistentes já têm sido isolados a partir de seres humanos, carnes e ração para animais (HAN et al., 2011).

Durante muito tempo as doenças de origem alimentares, eram causadas principalmente pela *Salmonella* Typhimurium. Já nas últimas décadas a *Salmonella* Enteritidis foi a mais frequentemente envolvida em surtos de Salmonelose (KOTTWITZ et al., 2010). Devido a estes fatores tem-se uma grande preocupação com o aumento de infecções humanas causadas por outros sorovares de *Salmonellas* como Infantis, Agona, Hadar, Heidelberg e Virchow (FREITAS et al., 2011).

Hennessy et al (2004), relatam que surtos causados por *Salmonella* Heidelberg, são associados a alimentos como: carne de frango, suínos, queijo cheddar e ovos. Surtos de infecções em seres humanos por *Salmonella* Heidelberg, também podem ser associados ao consumo de produtos de aves, incluindo *nuggets* de frango e ovos (ANDRYSIAK et al., 2008).

Devido a sua patogenicidade, a *Salmonella* Heidelberg se tornou uma preocupação em Saúde Pública. Segundo pesquisa publicada pela *Foodborne Diseases Active Surveillance Network* (CDC, 2011), a correlação entre o número de casos de doenças por contaminação alimentar em seres humanos nos Estados Unidos e as toxinfecções causadas por *Salmonella*, correspondem à 43,25% dos casos confirmados em laboratório, sendo também o maior número de internações (2290 casos) e mortes (29 casos).

O período de incubação da doença em seres humanos é de aproximadamente 10 dias e em 47% dos casos são necessários atendimentos hospitalares (CURRIE et al., 2005). Porém, segundo o CDC, (2011), a maioria das pessoas recupera-se sem tratamento. Infecções por *Salmonella* tendem a desenvolver febre, diarreia e cólicas abdominais de doze a setenta e duas horas após a infecção. Sendo que deste, 33% dos casos apresentam diarreia sanguinolenta (CURRIE et al., 2005). Ainda, segundo Demczuk et al. (2003) as infecções por *Salmonella* Heidelberg são associadas a sintomas de doenças graves, incluindo infecções extra-intestinais, septicemia e miocardite.

De acordo com dados do Ministério da Saúde do Brasil, 7234 casos de doenças transmitidas por alimentos foram registrados entre 1999 e 2011, sendo a *Salmonella* spp. a causadora de 43% dos casos em que o agente etiológico foi identificado, tendo 1660 casos confirmados por laboratório. A carne, processados e miúdos de frango representam 6% e ovos

e produtos a base de ovos representam 26% do total de surtos de doenças transmitidas por alimentos (BRASIL, 2012).

Em um de seus estudos, Hennessy et al. (2004), verificaram que o principal fator de risco para a infecção esporádica com *Salmonella*, foi o consumo de ovos preparados fora de casa. Estes autores sugerem que medidas de controle para diminuir a contaminação de ovos, poderiam reduzir substancialmente a incidência de infecção por *Salmonella* Heidelberg em seres humanos. Entretanto, resultados do trabalho de Currie et al. (2005) indicam que *nuggets* e tiras de frango preparados em casa e ovos mal cozidos também foram envolvidos como fatores de risco para infecções endêmicas de *Salmonella* Heidelberg no Canadá.

2.3 SALMONELLA HEIDELBERG EM AVES

As infecções por *Salmonellas* em aves apresentam grande variedade de sinais clínicos. Estes podem ser graves e acarretar em eliminação dos lotes, como é o caso de Salmoneloses causadas por *Salmonella* Pulum (Pulrose) e por *Salmonella* Galinarum (tifo aviário), ou terem sinais clínicos mais brandos, sendo percebidas somente na diminuição da produtividade e na monitoria de *Salmonella* no aviário. Neste último caso tem-se um grave problema, pois a infecção é assintomática ou inaparente, denominada como infecção paratífica. Este tipo de infecção é responsável por queda da produtividade do plantel ou não, e as aves infectadas se tornam disseminadoras para outras espécies animais, excretando o microrganismo nas fezes (HOFER et al., 1997).

A *Salmonella enterica* subesp. *enterica* sorovar Heidelberg é pertencente ao grupo de *Salmonellas* paratíficas. Este sorotipo não é específico de aves e 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).

Durante vários anos a *Salmonella* Heidelberg vem ganhando destaque na produção de aves na América do Norte e em outros países, principalmente pelo seu isolamento nas monitorias de *Salmonella* os plantéis avícolas (BORSOI et al., 2011). A *Salmonella* Heidelberg é um dos cinco principais sorotipos mais comumente associados com a salmonelose humana e é normalmente um dos sorovares mais frequentemente isolados em

frangos de corte e matrizes de postura, perus e suínos nos Estados Unidos e Canadá (ANDRYSIK et al., 2008; FOLEY e LYNNE, 2008; NAYAK et al., 2007).

A principal fonte de contaminação de *Salmonella* Heidelberg das galinhas é a via orofaríngea após a ingestão de fontes alimentares contaminadas por esta. As bactérias se fixam ao trato gastrointestinal através das células epiteliais da mucosa e a partir disso disseminam-se sistemicamente para órgãos internos, incluindo o ovário e oviduto (GAST et al., 2005).

As alterações da mucosa intestinal causadas pela infecção por *Salmonella* Heidelberg, segundo Borsoi et al. (2011), são semelhantes as causadas pela *Salmonella* Enteritidis, e apesar de pintos desafiados com ambos sorovares permanecerem excretando bactérias nas fezes por mais de 20 dias, aves infectadas com *Salmonella* Heidelberg excretam menor quantidade de bactérias que aves desafiadas com *Salmonella* Enteritidis.

Nascimento et al. (1995) estudaram a prevalência da *Salmonella* Heidelberg em indústrias avícolas brasileiras e verificaram que este sorotipo está presente em 15,1% de carcaças de frangos e 26,1% de cortes de frango. Borsoi et al. (2006) em um estudo conduzido em abatedouros do Sul do Brasil pesquisaram a prevalência de *Salmonella* em carcaças de frango de corte e verificaram a presença de 32% de *Salmonella* Enteritidis e 9% de *Salmonella* Heidelberg.

Rodrigues et al. (2008) avaliaram 15 cepas de *Salmonella* Heidelberg, isoladas de abatedouros, quanto a características de permanência da bactéria em plantas de processamento de aves e verificaram que todas as amostras formavam biofilme em placas de poliestireno, favorecendo a permanência da bactéria no ambiente de abate de aves.

Nos últimos anos, tem-se observado à campo um aumento da frequência de isolamento da *Salmonella enterica* sorotipo Heidelberg. Esse sorotipo possui características especiais quando comparados aos demais sorotipos normalmente isolados à campo, principalmente em relação à formação de biofilme e alta hidrofobicidade (Rodrigues et al. 2008). A formação de biofilme e a alta hidrofobicidade vêm dificultando o controle da *Salmonella* Heidelberg quando trata-se das práticas comuns de biossegurança. Com o aumento presença de *Salmonella* Heidelberg no campo temos o aumento da positividade na indústria e conseqüentemente no produto final o que pode gerar problemas as exportações de carne de frango.

2.4 HOMEOSTASE INTESTINAL EM AVES

A habilidade de o intestino defender-se e prevenir-se da colonização de agentes patogênicos, ou ainda, a capacidade de manter o equilíbrio dinâmico entre a mucosa intestinal e o conteúdo luminal e também da preservação das características estruturais e funcionais da mucosa dentro dos padrões esperados para a espécie e linhagem de aves, tem como definição Homeostase intestinal (THOMPSON e APPLGATE, 2006).

Os benefícios de uma microbiota equilibrada proporcionam a inibição do crescimento de bactérias patogênicas, o estímulo ao sistema imune (influenciando o número, distribuição e grau de ativação da população de células de defesa do intestino), síntese de vitaminas (B, B9, K e E), redução da produção de gases e melhor digestão e absorção dos nutrientes. Por outro lado, variações extremas que resultam em uma excessiva oferta de substrato ou supressão das bactérias benéficas podem apresentar efeitos prejudiciais ao hospedeiro, como diarreia, infecções, distúrbios hepáticos, carcinogênese, putrefação intestinal, redução da digestão e absorção de nutrientes (WELTZIEN, 2003).

Dentro do conjunto de defesas que o organismo tem contra microrganismos invasores, a microbiota do trato gastrointestinal beneficia o animal hospedeiro com proteção prevenindo-o da colonização de bactérias patogênicas por meio de exclusão competitiva. Outro benefício é o desenvolvimento de defesas intestinais como o muco, a camada epitelial e a lâmina própria, além da produção de ácidos graxos de cadeia curta, vitaminas e aminoácidos. Os ácidos graxos de cadeia curta fornecem energia e auxiliam o controle de microrganismos não desejados, estimulam a proliferação de células epiteliais e o tamanho das vilosidades, aumentando a superfície de absorção (HART et al. 2002; DIBNER e RICHARDS, 2005).

Dentre as inúmeras espécies de bactérias que compõe a microbiota intestinal, destacam-se os *Lactobacillus*, os *Enterococcus* e os Coliformes. Estes formam um sistema complexo e dinâmico, que pode ser responsável por influenciar fatores microbiológicos, imunológicos, fisiológicos e bioquímicos no hospedeiro (TANNOCK, 1998).

As bactérias saprófitas do intestino têm importantes funções no trato gastrointestinal, como a criação de um ambiente ácido e com baixos teores de oxigênio, o que dificulta a sobrevivência de outras bactérias, e também de impedir a aderência de bactérias patogênicas, formando uma estrutura filamentosa ao longo do intestino. (MACARI, 2001).

A adequada relação microbiológica e as atividades fisiológicas e funcionais, assim como a plena integridade anatômica podem ser consideradas como o conceito de equilíbrio

intestinal, ou seja, a ausência de qualquer transtorno digestivo, indicativo da relação harmônica entre a microbiota dita benéfica e a patogênica do hospedeiro. Pensando nos processos citológicos, este quadro encontra-se estabelecido quando a renovação celular (ploriferação e diferenciação), que são resultantes das divisões mitóticas das células localizadas na cripta e ao longo dos vilos, e a perda de células (extrusão), que ocorre no ápice dos vilos, estão ocorrendo simultaneamente. Sendo que o balanço entre estes dois processos é determinado como *turnover* constante (síntese-migração-extrusão), que também define o equilíbrio intestinal (SILVA, 2011).

A variação da microbiota intestinal ocorre devido a diferentes influências exógenas, como tipo de alimentação oferecida, tipo de ambiente de criação, estresse ao qual o animal é submetido e até da região geográfica onde o mesmo é criado. Os principais fatores conhecidos que afetam a composição da microbiota no TGI são: temperatura, pH, estase, concentração de oxigênio, ácidos biliares, turnover celular, uréia, mucina, dieta, células fagocíticas, potencial de oxidação e redução, drogas e antibióticos, toxinas, anticorpos e presença de outras bactérias (GAUTHIER, 2002)

Miles (1993) define que qualquer fator que leve ao desequilíbrio da microbiota intestinal, como o uso indevido de antimicrobianos, estresse, mudanças bruscas na alimentação e fatores imunossupressores, poderá permitir a instalação e a multiplicação de microrganismos patogênicos. Sendo assim, o bom estado de saúde do hospedeiro é diretamente relacionado ao equilíbrio da microbiota intestinal.

Segundo Kelly e Yunson, (2000), a colonização de *Salmonella* no trato gastrointestinal das aves, ocorre inicialmente pela associação física entre a bactéria e o epitélio, e, pela ligação das células microbianas por meio de adesinas superficiais. Sendo o epitélio intestinal a principal via de entrada dos patógenos, onde a *Salmonella* multiplica-se no conteúdo intestinal, migra através da mucosa e vai invadindo e aderindo no epitélio intestinal.

Dentre as porções intestinais, o ceco, ou tonsilas cecais, é conhecido como o principal reservatório de *Salmonella*, mas o íleo, pela sua proximidade com o ceco, tem interesse particular pela *Salmonella*, carregando grande população de microrganismos, e também é frequentemente colonizado por *Salmonellas*. (THOMPSON; APPLGATE; 2006).

Na busca do equilíbrio entre a microbiota intestinal e o hospedeiro, utilizam-se alguns produtos químicos que vão auxiliar nesse ajuste, como é o caso dos ácidos orgânicos e dos probióticos.

Os acidificantes e os probióticos atuam na manutenção da homeostase intestinal, atuando no equilíbrio da microbiota intestinal. Os acidificantes possuem efeito bacteriostático

ou bactericida sobre microrganismos prejudiciais, enquanto estimulam o crescimento de microrganismos benéficos como *Lactobacilos* e *Bifidobactérias*. Os probióticos são exatamente culturas vivas destes organismos benéficos, que são ministradas para promover uma colonização benéfica e excluir os agentes patogênicos (JÚNIOR, 2009).

Devido ao mecanismo de exclusão competitiva, alguns sorovares podem ser mais eficientes que outros em seu estabelecimento dentro da microbiota dos animais, e que uma vez controlados, outros sorovares podem sobressair-se e terem uma maior frequência de isolamento em produtos de origem animal. Com base nessa informação, todas as medidas cabíveis de controle de *Salmonella*, devem ser trabalhadas em conjunto, pois não se pode afirmar que os atuais métodos de controle de *Salmonella* em frangos, como o uso de ácidos orgânicos e probióticos, são eficazes sobre todos os sorovares de *Salmonella*.

2.5 RESISTÊNCIA À ANTIMICROBIANOS

Estudos realizados indicam que a simples retirada dos antibióticos promotores de crescimento da dieta de frangos de corte, leva a uma diminuição média no desempenho das aves de três a sete por cento, além do impacto negativo sobre a saúde animal e aumento da mortalidade. Provavelmente a proibição total dos antibióticos promotores de crescimento resultará em menor lucratividade para o setor (LANGHOUT, 2005). Desse modo, de acordo com o mesmo autor, há necessidade de se introduzir estratégias novas, a fim de contornar tais efeitos. Uma abordagem nutricional amplamente utilizada é o uso de novos aditivos alimentares que são eficazes na melhoria do desempenho das aves, hipoteticamente através de modulação da microbiota no trato intestinal.

Os antibióticos promotores de crescimento podem acarretar problemas potenciais à saúde do homem, como toxicidade, alergia e desenvolvimento de resistência, razão pela qual vêm sendo criticados severamente. Além disto, causam efeitos teratogênicos, carcinogênicos e mutagênicos, o que tem trazido preocupações à saúde pública. (McMULLIN, 2004; GÓRNIK & SPINOSA, 2007).

Fatos preocupantes como o isolamento de cepas de *Salmonella* resistentes a drogas antimicrobianas, em aves de corte, estão sendo frequentemente relatados. Foi realizado um trabalho com carcaças de frangos congeladas, em que foram obtidos 32% de positividade para *Salmonella* Spp. Dentre estas amostras analisadas, foi observada a resistência à diversos antimicrobianos testados, concluindo que o uso indiscriminado dos antibióticos nos

tratamentos das infecções das aves, contribui para a formação de resistência dos diferentes sorovares de *salmonella*, aos antibióticos usados rotineiramente, além de indicar possível resistência cruzada com os patógenos humanos. (SANTOS et al. 2000).

Segundo Lynne et al. (2009), foi verificado que 72% das cepas apresentaram resistência a pelo menos um dos agentes antimicrobianos testados, enquanto 24% mostraram resistência conjunta a oito ou mais antimicrobianos. Neste estudo foi testada a sensibilidade de antimicrobianos frente a 58 cepas de *Salmonella* Heidelberg de frangos de corte sendo observada maior resistência aos antibióticos: tetraciclinas (71%), estreptomicinas (62%) e a kanamicina (52%).

Resistência bacteriana aos sanitizantes usados em abatedouros avícolas também foram documentadas. Colla et al. (2012) demonstraram que em amostras de *Salmonella* Heidelberg isoladas em abatedouros e que eram sensíveis a Clorexidina e a Amônia Quaternária no ano de 2005, foram resistentes quatro anos após frente aos mesmos desinfetantes. Estes resultados indicam progressão da resistência bacteriana a estes sanitizantes e a necessidade de testes periódicos e alternância de princípios ativos nos programas de higienização dos frigoríficos.

A preocupação com cepas resistentes a antibióticos de sorovares de *Salmonella*, principalmente aquelas responsáveis por toxinfecções humanas tornou-se um desafio constante na produção avícola e, por isso, a procura de meios alternativos de controle estão sendo exaustivamente estudados, como é o caso do uso de ácidos orgânicos no controle de *Salmonellas*.

2.6 FORMAS DE CONTROLE DE *SALMONELLA* EM FRANGOS DE CORTE

A forma mais efetiva de controlar a infecções por *Salmonella* nas aves e, conseqüentemente, em seus derivados utilizados para o consumo humano, se dá através de um criterioso programa de biosseguridade envolvendo todos os elos da cadeia avícola (reprodutoras, incubatórios, fábricas de ração, granjas e abatedouros).

Os vários tipos de toxinfecções alimentares causados por *salmonellas* de várias cepas diferentes, e que caracterizam a Salmonelose, têm sua prevalência diferenciada nas diversas regiões do país, sendo a sua epidemiologia e controle bastante complexas. Fato esse que decorre principalmente das diferentes condições de criação dos animais, dos padrões de higiene e biosseguridade das instalações, do nível de contaminação do alimento, além de

fatores socioeconômicos e ambientais. Dessa forma, levando em conta o surgimento de novos sorovares e sua relação com a Saúde Pública, o controle das Salmoneloses representa um grande desafio ao setor avícola. (MUNIZ, 2012).

O conhecimento da localização das bactérias, a frequência de aparecimento, os sorovares presentes e os possíveis pontos de infecção da *Salmonella* em frangos de corte, devem estar presentes nas estratégias de controle de *Salmonella* em frangos de corte. Sendo assim, para as estratégias de controle das *Salmonellas* tornarem-se efetivas, a monitoria constante através de análise bacteriológica das camas, torna-se uma ferramenta importante para a avaliação do *status* sanitário dos planteis. (BACK et al., 2006).

Levando-se em conta todos os fatores envolvidos nas fontes de contaminação, o controle de *Salmonella* é muito complexo. Em um sistema de produção de frangos, as fontes de contaminação são inúmeras, podendo ser granjas de matrizes, incubatório, alimento em forma de ração, roedores, insetos, aves silvestres, transporte, meio ambiente de criação dos frangos, processo de abate e também a mão de obra da propriedade. (BAILEY et al. 2001).

Como muitos sorovares de *Salmonella* têm algum nível de invasibilidade, uma variedade de tecidos internos (incluindo o fígado, o baço, ovário, oviduto, testículos, saco gema, coração, sangue do coração, rim, vesícula, pâncreas, líquido sinovial e olhos) são potencialmente úteis para a detecção de aves infectadas. Múltiplos órgãos (processados individualmente ou em *pool*) são normalmente coletados a partir de cada ave para maximizar a probabilidade de detecção (GAST et al., 1990).

Segundo Van Immerseel et al. (2004), os *swabs* cloacais ou amostras de fezes são os materiais testados para a detecção de *Salmonella* com maior confiabilidade, porém a intermitência de excreção fecal da bactéria por aves infectadas, limita a confiabilidade das amostras selecionadas. A excreção fecal de *Salmonella* pelas aves também pode ser indiretamente detectada testando amostras do ambiente de criação, sendo esta estratégia útil para o acompanhamento da entrada de *Salmonella* carregadas por vetores, trabalhadores, equipamentos e outras fontes. Deste modo, Kingston et al. (1981) sugeriram que a partir de *swabs* de arrasto, coletados do chão dos galpões de frangos, é possível detectar a presença de *Salmonella* com alta sensibilidade.

Os principais aditivos alimentares para o controle de *Salmonella* incluem: antimicrobianos de uso profilático e curativo, ácidos orgânicos, óleos essenciais, prébióticos, probióticos e simbióticos (VAN IMMERSEEL et al., 2003).

Com a proibição do uso de certos antibióticos na criação de frangos, principalmente por restrições de exportação, os ácidos orgânicos e óleos essenciais de plantas tiveram

pesquisas mais intensas nestes últimos anos (DIBNER E BUTTIN, 2002).

Os principais ácidos estudados com fins para controle de *Salmonella* e no desempenho zootécnico de aves são os ácidos orgânicos de cadeia curta, com 1 a 7 carbonos (*short-chain fatty acids* - SCFA), representados pelos ácidos fórmico, acético, propiônico e butírico; e os triglicerídios de cadeia média, com 6 a 12 carbonos (*medium-chain fatty acids* - MCFA), representados pelos ácidos caprótico, caprílico e cáprico (VAN IMMERSEEL et al., 2004).

Com o aumento constante da demanda por proteína animal, e o aumento da criação intensiva de frangos de corte, as indústrias avícolas que queiram controlar e erradicar, ou mesmo manter-se livres de algum sorotipo de *Salmonella*, deveram implantar um sistema de procedimentos de biosseguridade direcionados ao controle da contaminação microbiana desde o início da produção de ovos até chegar o pintinho no campo, além de um rígido controle na produção e transporte de ração e suas matérias primas. Através da Instrução Normativa nº 65, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, o governo brasileiro regulamentou o procedimento para o uso destes nas rações e restringiu a utilização de alguns antimicrobianos na produção de frangos de corte. Devido a isto, e concomitante a crescente preocupação com resíduos de medicamentos nas carcaças, que possam causar danos à saúde humana, os probióticos, prebióticos, ácidos orgânicos e óleos essenciais de plantas estão sendo pesquisados mais intensamente nos últimos anos.

2.6.1 Ácidos Orgânicos

Segundo Penz (1993), ácidos orgânicos são todas as substâncias que apresentam uma carboxila na sua molécula. Assim, todos os ácidos graxos, e mesmo os aminoácidos, são ácidos orgânicos, além de muitas outras substâncias que se enquadram nesta classificação. Quando o termo ácido orgânico é empregado, subentende-se que se trata de ácidos graxos voláteis de cadeia curta e que eventualmente podem ser chamados de ácidos fracos devido a menor proporção de carboxilas que os ácidos fortes.

Os ácidos orgânicos são constituintes naturais de plantas e animais. Alguns podem ser formados através da fermentação microbiana no intestino dos animais, e outros, são formados nas rotas metabólicas intermediárias (LEHNINGER et al. 1993). Como grupo químico, os ácidos orgânicos são considerados como sendo qualquer substância de estrutura geral R-COOH, gerando grupos de compostos relacionados, conhecidos como derivados dos

ácidos carboxílicos, como os aminoácidos, ácidos graxos, coenzimas e metabolitos intermediários (SOLOMON e FRYHLE, 2002).

Os ácidos orgânicos associados com atividade antimicrobiana são os ácidos graxos de cadeia curta, tanto monocarboxílicos, como fórmico, acético, propiônico e o butirico ou carboxilados com o grupo hidroxila, como láctico, málico, tartárico e o cítrico (DIBNER e BUTIN, 2002). Acredita-se que os ácidos orgânicos exercem atividade antimicrobiana devido a redução do pH no interior da célula microbiana (CHERRINGTON et al. 1991; ROTH, 1998). No interior da célula o ácido se dissocia alterando o pH citoplasmático, afetando o metabolismo e levando a morte da célula bacteriana (GAUTHIER, 2005; RUSSEL, 1992).

Stratford et al. (2009) demonstraram que nem todos os ácidos necessitam reduzir o pH no citoplasma para exercer sua atividade antimicrobiana. Por exemplo, no caso do ácido sórbico, observa-se que concentrações inibitórias deste ácido não reduzem o pH citoplasmático e acredita-se que a membrana citoplasmática seja o primeiro sítio de ação deste ácido. A lesão da membrana, a perda da sua integridade e o aumento da permeabilidade a prótons, levam a morte do microorganismo.

Os ácidos orgânicos agem diretamente como inibidores do crescimento bacteriano. São utilizados na conservação de grãos e alimentos, sanitização do alimento e aditivo promotor de crescimento em dietas animais. A forma não dissociada do ácido é lipossolúvel, e nessa forma, tem capacidade de atravessar de forma passiva a membrana celular. No interior da célula o ácido se dissocia alterando o pH citoplasmático, afetando o metabolismo, alterando o gradiente de prótons e a carga com o exterior, pode também interferir no sistema de transporte de aminoácidos e fosfatos além disso enzimas são inativadas. Outra consequência é o aumento da pressão osmótica celular, que desencadeia mecanismos de compensação de carga elétrica aumentando os níveis de sódio, potássio ou glutamato e a força iônica intracelular provocando um aumento da pressão mecânica sobre a parede do microorganismo, o que faz com que essa se rompa (RUSSEL, 1992).

Independente do mecanismo exato de ação dos ácidos orgânicos sobre os microorganismos, para ser uma alternativa viável ao uso de antibióticos como aditivos alimentares, os ácidos orgânicos devem apresentar resultados similares, sem comprometer a saúde animal e sem provocar resistência ou deixar resíduos na carne.

Diversos estudos relatam ainda o uso de ácidos orgânicos como controladores da microbiota de frangos de corte. Alp et al. (1999) avaliaram a suplementação de dietas de frangos com 0,1g/kg de bacitracina de zinco e/ou uma mistura de ácidos orgânicos (láctico,

fumárico, propiônico, cítrico e fórmico - 3kg/ton) e observaram que houve redução na contagem de enterobactérias no conteúdo intestinal do íleo dos animais tratados com ácidos em relação aqueles tratados com bacitracina de zinco.

O tratamento químico das rações contribui para a redução da incidência de *Salmonellas* nas criações de aves, e a adição de ácidos orgânicos às rações, principalmente, os ácidos graxos de cadeia curta, tem reduzido as infecções por *Salmonellas* em frangos (HINTON et al 1985). A efetividade deste tratamento é variável e depende do nível inicial da contaminação (PUMFREY et al 1991). Esta efetividade também é demonstrada na redução da transmissão horizontal de *Salmonella* Gallinarum em aves que receberam ração tratada com mistura de ácido fórmico e propiônico (BERCHIERI et al. 1996).

Sterzo et al. (2007), utilizando 1,5 e 3,0 kg/ton de uma mistura comercial de ácidos orgânicos na ração de frangos observaram redução significativa na contagem de *Salmonella* Enteritidis em conteúdo cecal, quando comparado ao grupo controle (sem o aditivo) aos três, cinco e sete dias após a inoculação.

Bassan et al. (2008) observaram que a adição de uma mistura de ácido fórmico e propiônico (4 kg/ton) na dieta de frangos reduz a colonização por *Salmonella* na tonsila cecal a partir do 18º dia após a inoculação, sendo que a bactéria foi eliminada a partir do 28º dia pós inoculação.

Silva, (2005) concluiu que os tratamentos com ácidos orgânicos na concentração de 30kg/ton, mostraram-se eficazes na inibição do crescimento da *Salmonella* sp. em rações avícolas, após 24h, 48h e 7 dias de contato do produto com a ração contaminada.

Byrd et al (2001), sugere que o uso de ácidos orgânicos na água de bebida pode ser uma alternativa para redução de microorganismos patogênicos, pois no seu trabalho evidenciou a redução na incidência de *Salmonella* e *Campylobacter* no papo e nas carcaças de frangos após o uso de uma solução de 0,5% de ácido acético e fórmico, 8 horas antes do abate.

Outros estudos comprovaram a eficácia dos ácidos orgânicos, usando estes por 22 dias consecutivos via água de bebida. Como resultado, os animais tratados apresentaram maior número de *Lactobacillus* e de bactérias totais em comparação com o grupo controle ou tratados com antibióticos. Os autores concluíram, utilizando técnicas de biologia molecular (Reação em Cadeia da Polimerase – PCR) que os ácidos orgânicos são uma alternativa viável ao uso de antibióticos por promoverem aumento nas bactérias benéficas do trato gastrointestinal e dessa forma reduzirem as patogênicas (NAVA et al., 2009).

Pickler et al. (2012) observaram que os ácidos orgânicos reduziram

significativamente a excreção de *Salmonella* Enteritidis no papo e ceco de frangos, porém foram pouco efetivos no controle de *Salmonella* Minnesota. Este fato levanta a hipótese que a efetividade dos ácidos orgânicos varia conforme o sorovar de *Salmonella*, e não foram encontrados na literatura estudos específicos sobre o efeito destes para *Salmonella* Heidelberg.

REFERÊNCIAS

- ALP,M.; KOCABAGLI, N.; KAHRAMAN,R.; BOSTAN,K. Effects of Dietary supplementation with Organic Acids and Zinc Bacitracin on Ileal Microflora, Ph and Performance in Broilers. Tr. **Journal of Veterinary and Animal Sciences**, v. 23, p.451–455, 1999.
- ANDRYSIAK, A. K.; OLSON, A. B.; TRACZ, D. M. et al. Genetic characterization of clinical and agri-food isolates of multi drug resistant *Salmonella enterica* serovar Heidelberg from Canada. **BMC Microbiology**, 2008.
- BACK, A.; BELTRÃO, N.; LEÃO, J.A. Monitoria e controle de *Salmonella*: aspectos práticos. VII Simpósio Brasil Sul de Avicultura. **Anais...**Chapecó, p.95 -103, 2006.
- BAILEY, L.B.; MOYERS, S.; GREGORY J.F. Folate. In: Present Knowledge in Nutrition, Bowman, B.A. and R.M. Russell (Eds.). **International Life Sciences Institute, Washington, DC.**, p: 214-229. 2001.
- BASSAN, J. D.; FLORES, M. L.; ANTONIAZZI, T.; BIANCHI, E.; KUTTEL, J.; TRINDADE, M.M. Controle da infeccao por *Salmonella Enteritidis* em frangos de corte com ácidos orgânicos e mananoligossacarideo. **Ciencia Rural**, v.38, n.7, 2008.
- BERCHIERI Jr., A.; BARROW, P.A. Reduction in incidence of experimental fowl 28iagnos by incorporation of a commercial formic acid preparation into poultry feed. **Poultry Science**, v.75, n.3, p.339-441, 1996.
- BERCHIERI JÚNIOR, A.; FERNANDES, S. A.; IRINO, K. et al.. *Salmonella* in poultry feeds in Brazil. **Revista de Microbiologia**. v.24, n.1, p.22-25, 1993.
- BERNDT, A.; WILHELM, A.; JUGERT, C.; PIEPER, J.; SACHSE, K.; METHNER, V. Chicken Cecum Immune Response to *Salmonella* Enterica Serovars of Different Levels of Invasiveness. **Infect Immun**, Washington, v. 75, n. 12, p. 5993-6007, 2007.
- BERSOT, L.S. *Salmonella* no Brasil: Sua importância no abate de aves: In: V Simpósio de Sanidade Avícola da UFSM – **Anais...** Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, 2006.

BYRD, J. A.; HARGIS, B. M.; CALDWELL, D. J.; BAILEY, R. H.; HERRON, K. L.; MCREYNOLDS, J. L.; BREWER, R. L.; ANDERSON, R. C.; BISCHOFF, K. M.; BORSOI, A., MORAES, H. S., SALLE, C. T., BETTIOL, G. and NASCIMENT, O. V. Nascimento. Sorovares de Salmonella isolados de carcaças de frango resfriadas e swab de arrato. **Revista Brasileira de Ciencia Avicola**, v, 8:229-229, 2006.

BORSOI, A.; SANTOS, L. R.; RODRIGUES, L. B. et al. Behavior of Salmonella Heidelberg and Salmonella Enteritidis strains following broiler chick inoculation: evaluation of cecal morphometry, liver and cecum bacterial counts and fecal excretion patterns. **Brazilian Journal of Microbiology**. v. 42, p. 266-273, 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. Coordenação de Vigilância das doenças de transmissão hídrica e alimentar. **Dados Epidemiológicos – DTA**. Dados de 2000 a 2011. Brasília, 2012.

BRASIL. Portaria nº 182 de 17 de setembro de 2003. Ministério da Agricultura, do abastecimento e Reforma Agrária. Análise Microbiológica de Alimentos. **Diário Oficial da União**. 2003.

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.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION – **CDC**. Investigation Update: Multistate Outbreak of Human Salmonella Heidelberg Infections Linked to Ground Turkey, 2011.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION – **CDC**. What is salmonellosis, 2010.

CHERRINGTON, C.A.; HINTON, M.; CHOPRA, I. Organic Acids: Chemistry antibacterial activity and practical application. **Advances in Microbiological Physiology**, v. 32, p.87-108, 1991.

CHITTICK, P., SULKA, A., TAUXE, R. V. and A. M. Fry.. A summary of National Report of foodborn outbreaks of Salmonella Heidelberg infections in the United States: clues for disease prevention. **Journal of Food Protection**. v, 69:5:1150-1153, 2006.

CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION (CAC) 2007. Principles and guidelines for the conduct of microbiological risk management (**MRM**) CAC/GL 63. 2007.

COLLA, F. L.; RODRIGUES, L. B.; DICKEL, E. L. et al. Avaliação in vitro de clorexidina, amonia quaternária e ácido peracético frente a amostras de Salmonella Heidelberg isoladas de abatedouro avícola em 2005 e 2009. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 4, n. 32, p. 289-292, 2012.

COX J.M.; PAVIC, A.. Advances in enteropathogen control in poultry production. **Journal of Applied Microbiology**, v. 108, p.745–755, 2010.

CURRIE, A.; MACDOUGALL, L.; ARAMINI, J. et al. Frozen chicken nuggets and strips and eggs are leading risk factors for Salmonella Heidelberg infections in Canada. **Epidemiology and Infection**, v. 133, p. 809-816, 2005.

DAVIS, A. L.; CURTIS, P. A.; CONNER, D. E. Validation of cooking methods using shell eggs inoculated with Salmonella serotypes Enteritidis and heidelberg. **Poultry Science**, v. 87, p. 1637-1642, 2008.

DEMCZUK, W.; AHMED, R.; ACKERMANN, H. W. et al. Morphology of Salmonella serovar Heidelberg typing phages. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 50, p. 873-875, 2004.

DEMCZUK, W.; SOULE, G.; CLARK, C. et al. Phage-Based Typing Scheme for Salmonella enterica Serovar Heidelberg, a Causative Agent of Food Poisonings in Canada. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 41, n. 9, p. 4279-4284, 2003.

DIBNER, J. J. BUTTIN, P.. Use of organic acids as a model to study the impact of gut microflora on nutrition and metabolism. **Journal Applied Poultry Research**. v,11:453-463. 2002.

DIBNER, J.J.; RICHARDS, J. D. Antibiotic growth promoters in agriculture: History and mode of action. **Poultry Science**, v,84, p.634-643, 2005.

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

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2004.

FOLEY, S. L; LYNNE A. M. Food animal-associated Salmonella challenges, pathogenicity and antimicrobial resistance. **Journal of Animal Science**, v. 86, p. 173- 187, 2008.

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

FREITAS, J. B.; SANTOS, A. Evolução de sorovares modelo de banco de cepas. **Seminário internacional sobre Diagnóstico aviário**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2011.

GAST, R. K.; BEARD, C. W.. Isolation of Salmonella Enteritidis from internal organs of experimentally infected hens. **Avian Disease**. v. 34, p. 991–993.1990.

GAST, R. K., GUARD BOULDIN, J. R. G., HOLT, P. S., MORRE, W. R. United States Department of Agriculture, Agricultural Research Service, Egg Safety and Quality Research Unit, Russell Research Center. **Summarized from Avian Diseases**, v. 51, n. 1, p. 40–44, 2007.

GAST, R. K.; GUARD-BOULDIN, J.; HOLT, P. S. The Relationship Between the Duration of Fecal Shedding and the Production of Contaminated Eggs by Laying Hens Infected with Strains of Salmonella Enteritidis and Salmonella Heidelberg. **Avian Diseases**, v. 49, p. 382-386, 2005

GAUTHIER, R.Organic acids and essential oils, a realistic alternative to antibiotic growth promoters in poultry. 2005.URL <http://www.jifo.ca/pdf/avicola/AnaisAveExpo-R.Gauthier.pdf>. Acesso em 22 de dezembro de 2014.

GAUTHIER, R. La Salud Intestinal: Clave de la productividad (El caso de los Ácidos Orgânicos). In: Precongreso Científico Avícola IASA, XXVII Convención ANECAWPDC. Puerto Vallarta, Jal. México, 2002. **Anais eletrônicos...** [online] Disponível em: <http://www.etsia.upm.es/fedna/capitulos/00CAP8.pdf>. Acesso em: 22/02/2015.

GERMANO, P. M. L., GERMANO, M. I. S. Higiene e vigilância sanitária de alimentos: qualidade das matérias-primas, doenças transmitidas por alimentos, treinamento de recursos humanos. Barueri, SP: Manole, 2008. 229-230; 317p.

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.

GÓRNIAK, S. L.; SPINOSA, H. S. Antimicrobianos na Avicultura- Usos e Restrições, In: **Saúde Aviária e Doenças**, (Ed. Andreatti Filho, R. L.), p. 35-40, 2007.

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.

HAN, J.; DAVID, D. E.; DECK, J. et al. Comparison of Salmonella enterica Serovar Heidelberg Isolates from Human Patients with Those from Animal and Food Sources. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 49, n. 3, p. 1130-1133, 2011

HAN, J.; LYNNE, A.; DAVID, D. E. et al. DNA sequence analysis of plasmids from multidrug resistant Salmonella enterica serotype Heidelberg isolates. **Food Research International**, v. 45, p. 628-633, 2012.

HART, A.; STAAG, L.A, J.; FRAME, M.; GRAFNNER,H.; GLISE,H.; FALK,P.; KAMM,M.A. The role of the gut flora in health and disease, and its modification as therapy. **Alimentary Pharmacology Therapeutics**, p. 1383-1393, 2002.

HENNESSY, T. W.; CHENG, L. H.; KASSENBERG, H. et al. Egg Consumption is the Principal Risk Factor for Sporadic Salmonella Serotype Heidelberg Infections: A Case-Control Study in FoodNet Sites. **Clinical Infectious Diseases**, v. 38, n. 3, p. 237-243, 2004.

HINTON, M.; LINTON, A.H.; PERRY, F.G. Control of salmonella by acid 32diagnostic32n of chicks food. **Veterinary Record**, v.116, n.16, p.502, 1985.

HOFER, E., SILVA FILHO, S. J., REIS, E. M. F. Prevalência de sorovares de Salmonella isolados de aves no Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.17, n.2, p.55-62. Abr. – jun. 1997.

JÚNIOR, A. S.. Interações químico-fisiológicas entre acidificantes, probióticos, enzimas e lisofosfolípidios na digestão de leitões. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, p.238-245, 2009.

KELLY, C.G.; YOUNSON, S. Anti-adhesive strategies in the prevention of infectious disease at mucosal surfaces. **Expert Opinion Investigational Drugs**, v.9, p. 1711- 1721, 2000.

KINGSTON, D.J. A comparison of culturing drag swabs and litter for identification of infectious with Salmonella sp. In commercial chicken flocks. **Avian Diseases**. v.25, p.513-516, 1981.

KOTTWITZ, L.B.M.; OLIVEIRA, T.C.R.M.; ALCOCER, I.; FARAH, S.M.S.S.; ABRAHÃO, W.S.M.; RODRIGUES, D.P.. Avaliação epidemiológica de surtos de Salmoneloses ocorridos no 33iagno de 1999 a 2008 no Estado do Paraná, Brasil. **Acta Scientiarum Health Sciences**, v.32, p.9-15. 2010.

LAKE, R.; HUDSON, A.; CRESSEY, P. Risk profile: Salmonella (non typhoid) in poultry (whole and pieces) October 2002. **Institute of Enviromental science and research Limited**. Disponivel em: <[http:// www.esr.cri.nz](http://www.esr.cri.nz)> Acesso em 23/11/2014.

LANGHOUT, P. A visão da indústria e recentes avanços. In: Conferência APINCO 2005, Santos, SP. **Anais...** Conferência APINCO 2005 de Ciência e Tecnologia Avícola, Santos, p. 21-33, 2005.

LAHIRI, A.; IYER, N. et al. Visiting the cell biology of Salmonella infection. **Microbes and Infection**, v. 12, p. 809-818, 2010.

LEHNINGER, A.L.; NELSON, D.A.; COX, M.M. Principles of Biochemistry. New York. **Worth Publishers**, 576p., 1993.

LYNNE, A. M.; KALDHONE, P.; DAVID, D. et al. Characterization of Antimicrobial Resistance in Salmonella enterica Serotype Heidelberg Isolated from Food Animals. **Foodborne pathogens and disease**, v. 6, n. 2, p. 207-215, 2009.

MACARI, M.A.; MAIORKA, A. Aspectos Fisiologicos da Qualidade Intestinal e Produtividade em Frangos de Corte. **Departamento de Morfofisiologia Animal, Faculdade de Ciencias Agrarias & Veterinarias**, Campus Jaboticabal, 2001.

McMULLIN, P. Produção Avícola sem Antibióticos: Riscos Potenciais de Contaminação e Detecção de Resíduos. **Poultry Health Services**, Dalton, Thirsk, North Yorkshire, U.K., p. 219- 226, 2004.

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

MILES, R.O. Manipulation of the microflora of the gastrointestinal tract: natural ways to prevem colonization by pathogens. 111: **Alltech Biotechnology in the Feed and Oustry, Proceedings**, p.133- 50, 1993.

MUNIZ, E. C.. Atualidades no Estudo das Salmoneloses Aviárias. In: Simpósio Brasil Sul de Avicultura, Chapecó, SC. **Anais...** 2012.

NASCIMENTO, V. P.; SANTOS, L. R.; RODRIGUES, L. B.; LANDINEZ, M. P.; PERDONCINI, G.; SIERRA, Y. M.; BORSOI, A.. Exigências Internacionais na qualidade microbiológica da carne de frangos para exportação. **In: Simpósio Brasil Sul de Avicultura, Chapecó, SC. Anais**, 2012

NASCIMENTO, V. P. Salmonelose aviárias: uma revisão. In: Simpósio de Produção de Matrizes de Corte, 1. **Anais...** Chapecó: p.51-61, 1995.

NAVA M. G.; ATTENE-RAMOS, M.S.; GASKINS, H.R.; RICHARDS, J.D. Molecular analysis of microbial community structure in the chicken ileum following organic acid supplementation. **Veterinary Microbiology**, n.137, p.345–353, 2009.

NAYAK, R.; CALL, V.; KALDHONE, P. et al. Comparision of Salmonella entérica serovar Heidelberg susceptibility testing results. **Clinical Medicine & Research**, v. 5, n. 2, p. 98-105, 2007

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**, ano 3, n.15, p.28- 31, 2005.

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

PARTANEN, K.H.; MROZ, Z. Organic acids for performance enhancement in pig diets. **Nutrition research review**, v.12, p.117-145, 1999.

PENZ Jr, A.M, SILVA, A.B., RODRIGUES, O. Ácidos orgânicos na alimentação de aves. IN: Conferência Apinco de Ciência e Tecnologias Avícolas, Santos, SP. **Anais...**, p.111-119. 1993.

PICKLER, L.; HAYASHI, R. M.; LOURENÇO, M. C. et al. Avaliação microbiológica, histológica e imunológica de Frangos de corte desafiados com Salmonella Enteritidis e Minnesota e tratados com ácidos orgânicos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, n. 1, p. 27-36, 2012.

PUMFREY, L.; NELSON, C.E. Use of a most probable number method modified with a deoxyribonucleic acid probe to monitor control by food preservatives of natural salmonella contamination in animal meat meals. **Poultry Science**, v.70, n.4, p.780-4, 1991.

RODRIGUES, D. P.. Perspectivas atuais e falhas no diagnostico antigênico de Salmonella spp: importância no reconhecimento dos sorovares circulantes, emergentes e exóticos **In: Seminário Internacional Sobre Salmoneloses Aviárias - . Anais**, Rio de Janeiro, RJ,1 CD – ROM, 2011.

RODRIGUES, L. B. et al. Avaliação da hidrofobicidade e da formação de biofilme em poliestireno por *Salmonella* Heidelberg isoladas de abatedouro avícola. **Acta Sci Vet**, v. 37, n. 3, p. 225-230, 2008.

ROTH, F. X.; KIRCHGESSNER, M. Organic acids as feed additives for Young pigs:nutritional and gastrointestinal effects. **Journal of Animal and Feed Science**, n. 8,p. 25-33, 1998.

RUSSEL, J. B. Another Explanation for the toxicity of fermentation acids at low Ph: anion accumulation versus uncoupling. **Journal of Applied Bacteriology**, v.73, p.363-370, 1992.

SANTOS, D. M. S.; BERCHIERI JUNIOR, A.; FERNANDES, S.A. et al. *Salmonella* em carcaças de frangos congeladas. **Pesquisa Veterinária**, v. 20, 39-40, 2000.

SILVA, C. A. Equilíbrio intestinal: Um desafio para a promoção do desempenho. 2011. Disponível em: <<http://pt.engormix.com/MA-suinocultura/saude/artigos/equilibrio-intestinal-desafio-promocao-t809/165-p0.htm>>Acesso em 21 de dezembro de 2014.

SILVA, L.C.C. Avaliação de um acido organico como agente inibidor do crescimento de Salmonella sp em rações de aves. **Brazilian Journal of Poultry Science**, Supl.7, p.219, 2005.

STERZO, E.V.; PAIVA, J.B.; MESQUITA, A.L.; FREITAS NETO, O.C.; BERCHIERI, Jr A. 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.

SOLOMON, S.G.; FRYHLE,C. Química Orgânica, 7 ed.. Rio de Janeiro: **LTC Livros Tecnicos e Científicos**, v.1 e 2, 2002.

STRATFORD, M.; PLUMRIDGE,A.; NEBE-VON-CARON, G.; ARCHER,D.B. Inhibition of spoilage mould conidia by acetic acid and sorbic acid involves different modes of action,

requiring modification of the classical weak-acid theory. **International Journal of Food Microbiology**, v. 136, p. 37-43, 2009.

TANNOCK, O.W. Studies of the intestinal microflora: a prerequisite for the development of probiotics. **International Dairy Journal**, v.8, p.527-533, 1998.

TAUXE, R. V.; DOYLE, M.P.; KUCHENMÜLLER, T.; SCHLUNDT, J.; STEIN, C.E. Evolving public health approaches to the global challenge of foodborne infection. **International Journal of Food Microbiology**, v.139, p.16-28. 2010.

THOMPSON, K. L.; APPELEGATE, T.J. Feed withdrawal alters small-intestinal morphology and mucus of broiler. **Poultry Science**, v.85, p.1535-1540. 2006.

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

VAN IMMERSEEL, F.; DE BUCK, J., MEULEMANS, G.; PASMANS, F.; VELGE, P.; BOTTREAU, E.; HAESBROUCK, F.; DUCATELLE, R.. Invasion of Salmonella Enteritidis in avian intestinal epithelial cells in vitro is influenced by short-chain fatty acids. **International Journal of Food Microbiology**, 85, 237 – 248. 2003.

WELTZIEN, E. M. Effectes of feed form on gut microbiota in broilers. **Poultry Industry Council**, Ontario, v. 1, n. 5, 2003.

YAO, CHI, SU., et al., Emergence of Salmonella enteric Serovar Potsdam as a Major Serovar in Waterfowl Hatcheries and chicken eggs. **Avian diseases**, v. 55(2), p. 217 -222, 2011.

CAPÍTULO 1

USO DE *BLEND* DE ÁCIDOS ORGÂNICOS NO CONTROLE DA DISSEMINAÇÃO DE *SALMONELLA* HEIDELBERG EM FRANGOS DE CORTE

O Capítulo foi elaborado conforme as normas para publicação no
Journal of Applied Poultry Research.

USO DE *BLEND* DE ÁCIDOS ORGÂNICOS NO CONTROLE DA DISSEMINAÇÃO DE *SALMONELLA* HEIDELBERG EM FRANGOS DE CORTE

Sausen, Lourenço; Mendes, Angélica Signor.

Laboratório de Inovações Avícolas, Departamento de Zootecnia, Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Campus Dois Vizinhos, Paraná, Brasil.

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficácia do uso de um *blend* de ácidos orgânicos via água de bebida e/ou ração, no controle da disseminação de *Salmonella* Heidelberg em frangos de corte, no período de um a 31 dias. Para isso, foram utilizados 325 pintainhos fêmeas de um dia, da linhagem Coob 500, com peso médio de $42,80 \pm 0,30$ g. O delineamento experimental foi o de blocos casualizados com 5 tratamentos e 5 repetições cada, totalizando 25 unidades experimentais/boxes, com 13 aves/boxe (densidade de 13 aves/m²). Para testar o desempenho zootécnico foram avaliados a conversão alimentar e o peso vivo final através de comparações bayesianas a 5% de significância com distribuição normal. Para avaliar o percentual de positividade para *Salmonella* Heidelberg entre os tratamentos foram realizadas coletas de órgão aos nove dias (*pool* de intestinos), coleta de swab de arrasto aos 16 dias e coleta de papo aos 31 dias, os resultados foram analisados através de comparações bayesianas a 5% de significância com distribuição *a priori* beta. Em relação à conversão alimentar, foi observado efeito significativo aos 21, 28 e 31 dias, em que o tratamento T3 (ácido via água) foi melhor. No que diz respeito ao peso vivo médio, foi observado efeito significativo aos 14, 21, 28 e 31 dias em que o tratamento T3 (ácido via água) foi melhor. Não houve efeito significativo entre os tratamentos no isolamento de *Salmonella* Heidelberg avaliadas nas necrópsias. O *blend* de ácidos orgânicos demonstrou sua eficácia numérica na redução de positividade no isolamento

de *Salmonella* Heidelberg entre os grupos tratados em *pool* de intestinos aos nove dias, no *swab* de arrasto aos 16 dias e nas coletas de papo aos 31 dias, mas não houve diferenças significativas entre os grupos tratados e os grupos controle.

Palavras-Chave: Saúde das aves, segurança alimentar, ácidos orgânicos

INTRODUÇÃO

Considerando os problemas de doenças transmitidas por alimentos, a *Salmonella* aparece como um dos agentes mais importantes em surtos de toxinfecções alimentares. [1]. Esta bactéria destaca-se também, devido a sua ampla ocorrência no homem e nos animais (mamíferos, répteis e aves), sendo que as aves ocupam um grande papel na epidemiologia das Salmoneloses, pois são grandes reservatórios destas [2].

O gênero *Salmonella* pertence à família Enterobacteriaceae e consiste de apenas duas espécies: *Salmonella enterica* e *Salmonella bongori*. A espécie *Salmonella enterica* é dividida em seis subespécies: *enterica*, *salamae*, *arizonae*, *diarizonae*, *houtenae* e *índica* [3]. Onde na subespécie entérica, se inclui a *Salmonella enterica enterica* sorovar Heidelberg [4].

Em cada subespécie são reconhecidos diferentes sorovares totalizando na atualidade 2.610, segundo o esquema clássico de Kauffman-White, com base na caracterização de seus antígenos H (flagelares), O (somático) e ocasionalmente Vi (capsular). [5]. A *Salmonella* Heidelberg é um dos principais sorovares encontrados em aves que estão relacionados com Salmoneloses em humanos, assim como também são comuns em frangos de corte [6]

A *Salmonella* Heidelberg é o patógeno entérico, pertencente à família Enterobacteriaceae, de origem alimentar, mais frequentemente descrito na literatura nas ocorrências de toxinfecções em seres humanos. A importância deste microrganismo decorre de sua prevalência significativa com distribuição mundial nos lotes de frango de corte e suas implicações na saúde pública [7].

Fatos preocupantes como o isolamento de cepas de *Salmonella* resistentes a drogas antimicrobianas, em aves de corte, estão sendo frequentemente relatados. Foi realizado um trabalho com carcaças de frangos congeladas, em que foram obtidas 32% de positividade para *Salmonella*. Dentre estas amostras analisadas, foi observada a resistência à diversos

antimicrobianos testados, concluindo que o uso indiscriminado dos antibióticos nos tratamentos das infecções das aves, contribui para a formação de resistência dos diferentes sorovares de *salmonella*, aos antibióticos usados rotineiramente, além de indicar possível resistência cruzada com os patógenos humanos [8].

Com o aparecimento deste tipo de resistência bacteriana, o uso de antibióticos e dos adjuvantes das vacinas, vem sendo cada vez mais restrito. Por esse motivo estão sendo exploradas outras ferramentas de controle da *Salmonella* em frangos [9].

Ácidos orgânicos têm sido avaliados para esta finalidade com algum sucesso [10]. Segundo Penz [11] ácidos orgânicos são todas as substâncias que apresentam uma carboxila na sua molécula. Assim, todos os ácidos graxos, e mesmo os aminoácidos, são ácidos orgânicos, além de muitas outras substâncias que se enquadram nesta classificação.

Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a eficácia de um *blend* de ácidos orgânicos via água de bebida e/ou ração no controle da disseminação de *Salmonella* Heidelberg e no desempenho zootécnico em frangos de corte.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no aviário experimental do Laboratório de Inovações Avícolas (LINA), da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Dois Vizinhos. 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 realizado no período de Agosto à Setembro de 2014, perfazendo um total de 31 dias. Para a manipulação dos animais foram seguidas as normas do Comitê de Ética e Pesquisa Animal da universidade em questão, que por sua vez segue as determinações do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

Animais, Ambiente e Dieta do Experimento.

Utilizaram-se 325 frangos de corte com peso médio inicial de $42,80 \pm 0,30$ g, fêmeas, da linhagem Cobb 500 vacinados no incubatório contra doença de Marek, Bouda Aviária e Bronquite Infecciosa.

O aviário experimental possui 25 m de comprimento por seis metros de largura, orientado na posição leste-oeste e é constituído por 36 boxes com dimensões de 0,83 m x 1,2 m. Todos os boxes foram equipados com um comedouro tubular e quatro bicos de bebedouros tipo nipple. O piso é de concreto e para constituição da cama foi utilizado maravalha (nova) de pinus (*Pinus taeda L.*) na espessura de sete centímetros.

A instalação possui uma fornalha a lenha marca Debona^R, 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 com painel automático da marca Smai^R 1 ligado á 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 arração foi dividido em duas etapas, ração pré-inicial/inicial (1 a 14 dias) e ração crescimento/final (15 a 31 dias). A dieta balanceada foi constituída a base de milho e farelo de soja, farinha de ossos e carne. As rações não continham nenhum agente anticoccidiano e também nenhum promotor de crescimento. As dietas foram formuladas de acordo com as exigências nutricionais indicadas por Rostagno et al. [12].

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

O programa de luz utilizado foi o recomendado para a própria linhagem: primeiro dia 24L:0D (L: luz D: escuro), segundo ao sétimo dia 23L:1D, oitavo dia aos 28 dias 18L:6D, do vigésimo nono dias até aos 31 dias (abate) 23L:1D.

Delineamento Experimental

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados com 5 tratamentos e 5 repetições cada, totalizando 25 unidades experimentais/boxes com 13 aves/boxe (na densidade de 13 aves/m²). As 325 aves foram distribuídas aleatoriamente nas unidades experimentais. Os cinco tratamentos foram: T1 – Controle Negativo (sem ácidos + inoculação de 0,5ml de solução fisiológica); T2 – Controle Positivo (sem ácidos + inoculação de 0,5ml de *Salmonella* Heidleberg (1.10⁶ UFC)); T3 – Ácido Via Água de Bebida (inoculação de 0,5ml de *Salmonella* Heidleberg (1.10⁶ UFC)); T4 – Ácido Via ração (inoculação de 0,5ml de *Salmonella* Heidleberg (1.10⁶ UFC)); T5 – Ácido Via Água de Bebida e Ácido Via Ração (inoculação de 0,5ml de *Salmonella* Heidleberg (1.10⁶ UFC)).

O *blend* de ácidos orgânicos administrados via água de bebida e/ou ração, é um produto comercial, ainda não disponível no mercado brasileiro, mas registrado no Ministério da Agricultura. O *blend* administrado via ração tem o nome comercial de TART-450[®] e tem como composição básica do produto: Formiato de Calcio; Ácido Fumarico; Dioxido de Silicio; Bentonita; Ácido Cítrico; Propionato de Calcio; Caulim; Oregano, sendo o Ácido Cítrico e o Ácido Fumarico seus principais componentes com 19 e 95 g/Kg respectivamente. O *blend* administrado via água de babida tem o nome comercial de TART AQUAVITTA[®] e tem como composição básica do produto: Ácido Fumarico; Bissulfato de Sódio 50%; Ácido Cítrico; Dioxido de Silicio, sendo o Ácido Citrico e o Ácido Fumarico seus principais componentes com 243,8 e 248,7 g/Kg respectivamente. O *blend* de ácidos orgânicos via água

de bebida e/ou ração, foi administrado desde o alojamento até o sétimo dia de vida, por 24 horas. 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, até o período de jejum pré-abate, que foi de 5 horas de jejum sólido.

Preparação do inóculo de *Salmonella* Heidelberg e desafio das aves

A cepa de *Salmonella* Heidelberg, isolada de uma amostra de campo resistente ao ácido nalidíxico (100µg/mL de meio), foi 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 Mueller Hinton 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 $1,2 \times 10^6$ Unidades Formadoras de Colônia (UFC) de *Salmonella* Heidelberg/ml. Foram utilizadas diluições seriadas para a determinação das Unidades Formadoras de Colônia (UFC).

No momento do alojamento todas as aves dos tratamentos T2, T3, T4 e T5 foram inoculadas com 0,5 ml de uma solução contendo $1,2 \times 10^6$ UFC de *Salmonella* Heidelberg/ml. No tratamento T1 (controle negativo), as aves foram inoculadas com 0,5 ml de solução fisiológicas, através de uma pipeta estéril de 3 ml por via oroesofágica.

Desempenho zootécnico

Ao final de cada semana experimental (7, 14, 21, 28 dias), e ao abate (31 dias), todas as aves e as sobras de ração foram pesadas, determinando-se assim os índices

zootécnicos: consumo médio de ração (CR), peso médio (PM), ganho de peso diário (GPD) e conversão alimentar (CA). Não foram repostas aves mortas. A partir do primeiro dia de vida das aves, as aves mortas foram pesadas e descontadas do número total para obtenção dos cálculos da conversão alimentar, conforme metodologia descrita por Rostagno et al.[12].

Análises Microbiológicas

Para obter as amostras de pool de íleo, cecos e tonsilas cecais, aos nove dias de idade, às 07:00hs da manhã, foram necropsiadas 15 aves por tratamento, sendo três aves por cada repetição. A eutanásia foi realizada a partir de deslocamento cervical, momentos antes da necropsia. Para realizar as necrópsias 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). O 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 a unidade experimental. 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 suabes de arrasto aos 16 dias de idade, nos 25 boxes alojados. Os *swabs* foram coletados seguindo a IN nº126. Para evitar a contaminação cruzada entre os blocos, utilizaram-se botas plásticas descartáveis e um par de luvas de procedimentos 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, utilizando a Portaria nº 126 do MAPA. Foi avaliado o percentual de positividade de cama, através do suabe de arrasto, utilizando 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).

Isolamento de *Salmonella* Heidelberg

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 $37^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}/18\text{-}24\text{h}$), enriquecimento seletivo no meio Semi-sólido Modificado Rapaport Vassiliadis (MSRV) ($41^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}/24\text{h}\pm 3\text{h}$), isolamento e seleção através da semeadura em ágar xilose lisina desoxicolato (XLD) ($37^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}/24\text{h}$). 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. ($37^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}/24\text{h}$), com os kits de tipificação, foram identificadas as colônias como *Salmonella* Heidelberg.

Análise Estatística

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 conversão alimentar e peso vivo ao abate, seguem distribuição Normal:

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

Para cada μ_i e σ_i^2 foram consideradas *a priori* distribuições não-informativas:

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

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

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

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. Considerando-se como diferentes, em nível de 5% de significância, os tratamentos onde os intervalos de credibilidade para as diferenças não contemplavam o valor zero [14]. Os resultados foram obtidos por meio dos pacotes R2OpenBUGS, MASS, BRugs e CODA do programa R[®] [15].

Foram gerados valores em um processo iterativo MCMC (*Monte Carlo Markov Chain*). Para os parâmetros conversão alimentar, peso médio final (kg) foram gerados 11.000 valores, com descarte amostral inicial de 1.000 valores. Para os parâmetros isolamento de *Salmonella* Heidelberg em suabe 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 [16].

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Desempenho Zootécnico

Foram observadas diferenças entre os tratamentos ($p \leq 0,05$) para peso vivo médio em todas as idades avaliadas (Tabelas 6, 7, 8, 9 e 10).

O uso do *blend* de ácidos orgânicos não apresentou efeito significativo na melhora do peso vivo médio, na avaliação de um a sete dias de idade. Os valores encontrados entre os tratamentos foram muito semelhantes, contudo o melhor resultado de peso vivo médio ($p \leq 0,05$) foi visualizado no tratamento T2, o qual não recebeu o *blend* (Tabela 6).

A inoculação de *Salmonella* Heidelberg via oral no primeiro dia de vida, influenciou ($p \leq 0,05$) negativamente a conversão alimentar das aves desafiadas com *Salmonella* Heidelberg, no período de um a sete dias, conforme Tabela 1. Fato este pode ter correlação com a interação entre o agente inoculado e a microbiota intestinal das aves. Chaves [18] encontrou resultados semelhantes para frangos de corte desafiados com *Salmonella* Enteritidis.

Para Rocha [19], a invasão da microflora intestinal por *Salmonellas* paratíficas, que são consideradas patogênicas para aves e humanos, provavelmente tenha provocado o desequilíbrio na colonização natural do intestino das aves na primeira semana de vida, refletindo negativamente no aproveitamento dos nutrientes da dieta e provocando queda no desempenho das aves. Este fato ocasionou impacto negativo no consumo de ração, conversão alimentar e ganho de peso, concluindo que a colonização do sistema digestório da ave nos primeiros dias, provoca modificações na integridade intestinal das aves.

Conforme as Tabela 1 e 6, a adição de ácidos orgânicos nos grupos tratados, não influenciou significativamente o peso vivo médio e a conversão alimentar, aos sete dias de vida.

Salazar et al. [20] e Zanelatto et al.[21], avaliando a interação dos ácidos orgânicos sobre variáveis de desempenho, encontraram diferença entre os grupo tratados com ácidos orgânicos e os que não receberam o tratamento, para os parâmetros de ganho de peso, conversão alimentar e consumo de ração. Os autores observaram que os grupos tratados com ácidos orgânicos obtiveram melhores resultados no desempenho zootécnico, quando comparados aos grupos sem tratamentos. Concluíram ainda, que os antibióticos promotores de crescimento utilizados na ração, podem ser trocados por ácidos orgânicos sem afetar o desempenho das aves na fase inicial de frangos de corte.

Apesar de não ter sido evidenciado diferença significativa para desempenho das aves com a utilização de ácidos orgânicos na dieta, Campo et al [22] afirmam que as primeiras semanas de vida das aves são cruciais para o desenvolvimento do trato digestório. Da mesma maneira, Viola et al [23] obtiveram benefício no ganho de peso e no peso médio dos frangos de corte, nas primeiras semanas de vida da aves, com o uso de ácidos orgânicos na dieta.

Quando se compara os tratamentos entre si, o melhor resultado de conversão alimentar aos sete dias, foi obtido com o tratamento de *blend* de ácidos orgânicos via água de bebida, o que se supõe que a diluição do produto seja mais eficaz via água de bebida do que via ração.

No período de um a 14 dias de idade, foram observadas diferenças ($p \leq 0.05$) no desempenho zootécnico entre os tratamentos avaliados. A utilização de *blend* de ácidos orgânicos influenciou positivamente o peso vivo médio e a conversão alimentar nos grupos tratados com ácidos orgânicos aos 14 dias de idade, conforme Tabelas 2 e 7.

A conversão alimentar dos grupos tratados com ácidos orgânicos aos 14 dias foi melhor, quando comparada somente com o grupo controle negativo, não comprovando a sua eficácia na melhoria deste indicador para esta idade. Resultados semelhantes foram observados por Maiorka et al [24] e Garcia et al. [25] que utilizaram uma mistura de ácidos

orgânicos em dietas iniciais de frangos de corte e não observaram diferença no ganho de peso, conversão alimentar e consumo de ração entre os grupos tratados.

No que se refere ao peso médio, o grupo tratado com *blend* de ácidos orgânicos via água de bebida, teve um resultado melhor ($p \leq 0,05$) quando comparado com os demais grupos. Este resultado está de acordo com os resultados obtidos por Viola et al [23], que observaram resultados melhores de conversão alimentar e peso médio, utilizando ácidos orgânicos via água de bebida.

Diante destes resultados, e dos achados da bibliografia, pode-se inferir que a utilização de ácidos orgânicos na fase inicial das aves, potencializa o desempenho zootécnico das mesmas, no que diz respeito aos índices de conversão alimentar e peso vivo médio. Salientando que os melhores resultados zootécnicos na primeira semana de vida das aves, repercute diretamente em melhores resultados zootécnicos ao abate das aves.

Outros autores igualmente relatam as melhorias nos resultados de desempenho zootécnico das aves na fase de crescimento, proporcionadas pelo incremento de ácidos orgânicos na dieta, como é o caso de Daskiram et al. [26] e Zanelato et al. [21].

Avaliando-se o período de um a 21 dias de idade, foram observadas diferenças ($p \leq 0,05$) para conversão alimentar e peso vivo médio, quando se compara os grupos tratados com o *blend* de ácidos orgânicos e os grupos controle (Tabelas 3 e 8).

No que se refere à conversão alimentar, o grupo tratado com o *blend* de ácidos orgânicos via água de bebida foi significativamente melhor quando comparado aos demais grupos, da mesma maneira que foi melhor na avaliação feita aos sete dias de idade. Na avaliação realizada aos 21 dias, o grupo tratado com ácidos via água e ração também obteve resultados melhores que o grupo controle positivo.

Em relação ao peso vivo médio das aves, avaliados no período de um a 21 dias, o grupo tratado com o *blend* de ácidos orgânicos via água de bebida, apresentou um resultado melhor ($p \leq 0,05$) quando comparado aos demais grupos.

Salazar [27] também evidenciou uma melhoria no desempenho zootécnico das aves com a utilização de acidificantes na dieta, avaliando o período de um a 21 dias. Discordando destes resultados, Vale et al. [28] que utilizou 0,5% de uma mistura de ácidos orgânicos nas rações, não observaram diferença significativa no peso vivo médio e na conversão alimentar no mesmo período avaliado.

Avaliando-se o período de um a 28 dias de idade, foram observadas diferenças ($p \leq 0,05$) para conversão alimentar e peso vivo médio, quando se compara os grupos tratados com o *blend* de ácidos orgânicos com os grupos controles. (Tabelas 4 e 9).

A conversão alimentar de todos os grupos tratados com o *blend* de ácidos orgânicos foi melhor ($p \leq 0,05$), quando comparados com os grupos controle, o que comprova a eficácia do produto na melhoria do desempenho zootécnico, avaliando o período de um a 28 dias. Por outro lado, Maiorka et al [24] não observaram diferença significativa na conversão alimentar entre os tratamentos quando utilizaram uma mistura de ácidos orgânicos na dieta de frangos de corte.

O valor de peso vivo médio, avaliado no período de um a 28 dias, apresentou melhor resultado ($p \leq 0,05$) no grupo tratado com o *blend* de ácidos orgânicos via água de bebida, quando comparado aos grupos controle.

Colaça [29] observou melhor desempenho nas aves dos grupos que receberam ácidos orgânicos via água de bebida, o que corrobora com os resultados obtidos neste trabalho.

Avaliando-se o período de um a 31 dias de idade (ao abate), foram observadas diferenças ($p \leq 0,05$) para conversão alimentar e peso médio, quando se compara os grupos tratados com o *blend* de ácidos orgânicos e os grupos controle. (Tabelas 5 e 10).

Avaliando-se a conversão alimentar no período de um a 31 dias, todos os grupos tratados com o *blend* de ácidos orgânicos foram significativamente melhores, quando comparados aos grupos controle. Já para o peso vivo médio, no mesmo período, o grupo tratado com o *blend* de ácido orgânico via água de bebida, obteve o melhor resultado entre os tratamentos.

Quando se avalia os resultados finais de conversão alimentar entre os tratamentos, o grupo controle positivo obteve o pior resultado. Fato este é explicado por haver uma espoliação que os microorganismos causam na mucosa intestinal dos animais. A microbiota sem nenhuma proteção contra bactérias patogênicas pode ter seu equilíbrio afetado, causando uma desidratação e baixo aproveitamento dos nutrientes da dieta, com reflexos na piora da conversão alimentar.

Da mesma forma, Rahmani e Speer [30], investigando os efeitos de um ácido orgânico como promotor de crescimento na dieta de frangos de corte, observaram melhora no desempenho zootécnico quando comparado ao grupo isento de aditivos em todas as fases.

Avaliando os resultados zootécnicos obtidos neste trabalho, pode-se confirmar a eficácia do uso de *blend* de ácidos orgânicos na melhoria do desempenho zootécnico, em frangos desafiados com *Salmonella* Heidelberg, pois em todas as fases avaliadas os tratamentos que continham o *blend* de ácidos orgânicos, tiveram resultado melhores ou iguais ($p \leq 0,05$) quando comparados aos grupos controle. Isto indica que este produto pode ser utilizado como aprimorador do desempenho zootécnico em frangos de corte, frente a aves desafiadas com *Salmonella* Heidelberg.

Cabe ressaltar que o grupo que recebeu o *blend* de ácidos orgânicos via água de bebida obteve os melhores resultados em todas as fases avaliadas para as variáveis de peso vivo médio e conversão alimentar, concretizando que a melhor forma de administração do produto é na forma solúvel em água de bebida.

Isolamento de *Salmonella* Heidelberg

Com relação ao isolamento de *Salmonella* Heidelberg em frangos de corte, verifica-se que todos os grupos desafiados apresentaram positividade na coleta de *pool* intestinos aos nove dias. 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. Na coleta de papo aos 31 dias (ao abate), observou-se isolamento de *Salmonella* Heidelberg em todos os grupos desafiados.

As positivities para *Salmonella* Heidelberg entre os grupos desafiados comprova a eficácia da inoculação, pois o grupo controle negativo obteve apenas uma positividade, representando 6,66% das análises. Este episódio pode ser considerado normal, em se tratando de um galpão experimental sem isolamento total entre blocos, mas também comprova que houve uma mínima contaminação cruzada entre os blocos. O grupo controle positivo, obteve 86% de positividade, comprovando a eficácia na inoculação da *Salmonella* Heidelberg no primeiro dia de vida. Já nos demais grupos, observou-se um número menor de positividade devido aos tratamentos realizados.

Na Tabela 11 podem-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. O grupo controle negativo foi aquele que obteve melhor resultado na avaliação microbiológica (6,66% de positividade), o que já era esperado devido ao fato de que estas aves não foram inoculadas com *Salmonella* Heidelberg. 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. E entre os demais tratamentos não houve diferença significativa.

A Tabela 12 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. Avaliando 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.

Ao analisar as características da *Salmonella* Heidelberg, principalmente, a formação de biofilme e a baixa excreção de bactéria nas fezes, conclui-se que, o baixo número de amostras positivas no *swab* de arrasto, evidenciados neste trabalho pode estar relacionado também a estes fatores. Os resultados negativos podem estar associados também ao método utilizado para análise, que tem como resposta a presença ou ausência da bactéria. Ao realizar as análises avaliando contagem de células bacterianas, poderíamos obter resultados mais consistentes em relação a quantidade de bactéria presente nestes lotes.

Aliado a estes fatores e aos resultados obtidos, pode-se afirmar a dificuldade de avaliação correta das positivities para *Salmonella* em lotes de frango de corte, principalmente pelo fato da *Salmonella* Heidelberg ser formadora de biofilme, o que aumenta a persistência no ambiente, e a dificuldade de eliminar esta bactéria das granjas após sua entrada. Todas as ações preventivas para *Salmonellas*, que incluem biossegurança das granjas, blindagem das propriedades, Boas Práticas de Produção, cuidados de manejo durante o lote e os resultados das monitorias sanitárias, devem estar em perfeita sintonia para que as decisões da canalização do abate destas granjas sejam da forma mais assertivas possíveis.

Alali et al. 2013 [31], 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 deste *Salmonella*, fazendo *swab* de arrasto aos 14 dias de idade das aves. Como conclusão, observaram 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.

Avaliando-se 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 (ácido via água + *Salmonella* Heidelberg) 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 (ácido via ração + *Salmonella* Heidelberg) visualizou-se 20% de redução na positividade (três amostras negativas em 15 coletadas) para *Salmonella* Heidelberg em *pools* de órgãos, e no tratamento T5 (ácido via água/ração + *Salmonella* Heidelberg) 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 significativa na comparação com o tratamento T2 (sem ácido + *Salmonella* Heidelberg), que é o controle positivo. Este resultado numericamente melhor nos grupos tratados com ácidos orgânicos, frente ao grupo controle positivo deve-se principalmente, à característica do ácido orgânico de baixar o pH do papo e intestino anterior e atuar diminuindo a pressão de infecção de bactérias no trato gastrointestinal.

Bassan et al [32], ao adicionar ácidos orgânicos e Mananoligossacarídeos (MOS) na ração e tratar pintinhos desafiados com *Salmonella* Enteritidis, observaram resultados semelhantes ao obtido neste trabalho. Constataram 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.

Pickler et al. 2012 [33] ao avaliar a presença/ausência de *Salmonella* Enteritidis em *swab* de cloaca após 48 h de inoculação em grupos tratados com ácidos orgânicos, constataram 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-se eficaz em combater a colonização de *Salmonella* Enteritidis no ceco das aves.

Os ácidos orgânicos não dissociados penetram na célula bacteriana reduzindo o pH interno, fazendo com que as bactérias aumentem o consumo de energia para manutenção até morrerem, exercendo assim ação bactericida, o que segundo Lambert e Stratford [34] é o principal mecanismo de ação dos ácidos orgânicos.

Em relação às análises de papo, obtidas através de necrópsias 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).

A diminuição da positividade para *Salmonella* Heidelberg em papo quando comparada à positividade em *pool* de órgãos, explica-se pelo fato das aves desenvolverem naturalmente imunidade às bactérias do meio ambiente e principalmente do fato que o *blend* de ácidos orgânicos foi utilizado até o momento do jejum pré-abate, baixando o pH do papo e diminuindo a pressão de infecção local.

Bird et al 2001 [35] avaliando a eficiência de um *blend* de ácidos orgânicos, administrados durante o jejum pré-abate em aves previamente desafiadas com *Salmonella*

Typhimurium, evidenciaram uma redução significativa na positividade das amostras, bem como na contagem bacteriana de *Salmonella* Typhimurium nos grupos tratados com o *blend* frente ao grupo controle. Fato esse evidencia a importância do uso de ácidos orgânicos nos últimos dias do lote, e também durante o jejum pré-abate destes lotes, quando se tem a confirmação da positividade do lote para qualquer sorotipo de *Salmonella*.

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 [36]. Este autor relata que a única forma de garantir que os ácidos orgânicos sejam efetivos, principalmente, que cheguem ativos as partes inferiores do trato gastrintestinal, 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. Este fato também explica o melhor resultado numérico obtido na avaliação de positividade em papo, pois o ácido orgânico chega intacto neste órgão e tem ação direta sobre o mesmo, antes de passar pelo trato gastrointestinal, e sofrer ação das enzimas digestivas.

Respostas semelhante foram encontradas por Piva et al. [37] que também observaram que a mistura de ácidos orgânicos (fumárico, málico, cítrico e sórbico) protegidos através do processo de microencapsulação com gordura, apresentaram uma lenta liberação dos ingredientes ativos no intestino dos animais, prevenindo a rápida dissociação dos ácidos orgânicos.

Quando se buscam na literatura resultados de controle de outros sorotipos de *Salmonellas*, a maioria têm comprovado que ácidos orgânicos são efetivos no controle, principalmente de *Salmonella* Enteritidis [38,32].

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. Este resultado também foi observado por Pickler [39], o qual evidenciou diferença na eficácia dos ácidos orgânicos na redução da contaminação de *Salmonella*, de acordo com a via de administração do produto utilizado, e que também variou conforme o sorotipo inoculado. No trabalho a adição do ácido orgânico na ração ou na ração e na água não mostrou diferença significativa na presença de *Salmonella* em papo e ceco, para aves inoculadas com *Salmonella* Enteritidis, já para *Salmonella* Minnesota a adição do produto na água aumentou a eficiência de ácidos orgânicos na redução da presença de *Salmonella* no ceco.

No que se refere ao tratamento de frangos de corte com ácidos orgânicos na ração, algumas tentativas para controle de *Salmonellas* resultaram em incompleta destruição da bactéria, conforme relatado por Westerfield et al.[40] e Duncan & Adams [41], devido ao nível relativamente baixo de concentração do ácido orgânico utilizado (0,1%).

Segundo Gauthier [42], podemos utilizar óleos essenciais associados aos ácidos orgânicos, para potencializar a ação dos ácidos orgânicos. Os óleos essenciais agem denificando a membrana celular bacteriana, facilitando a penetração dos ácidos orgânicos.

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, Oliveira et al. [43] 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.

Rúbio et al. [44] 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.

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 estar no plano de ação, que tenha como foco o controle de *Salmonella* em granjas avícolas. Aliado às normas de biossegurança e manejo, outras maneiras de combate a *Salmonella*, que são o uso de alguns produtos com este fim, 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 de *Salmonella* evidenciados no sul do Brasil, principalmente no Paraná.

CONCLUSÕES

1. Houve eficácia do uso do *blend* de ácidos orgânicos via água de bebida e/ou ração, na melhoria na conversão alimentar de frangos de corte desafiados com *Salmonella* Heidelberg a partir dos sete dias de idade das aves. O melhor resultado obtido para conversão alimentar foi no grupo que recebeu ácido via água de bebida.
2. Houve eficácia do uso do *blend* de ácidos orgânicos via água de bebida e/ou ração, na melhoria do peso vivo médio de frangos de corte desafiados com *Salmonella* Heidelberg. Com exceção da primeira semana e ao longo do experimento incluindo o abate, o melhor peso médio foi evidenciado no tratamento T3 (ácido via água).
3. Com base nos resultados observados em *pool* de órgãos, em papo e em *swab* de arrasto, não se pode afirmar que o uso do *blend* de ácidos orgânicos foi eficaz na redução do percentual do isolamento de *Salmonella* Heidelberg em frangos de corte previamente desafiados com *Salmonella* Heidelberg.
4. Todos os tratamentos efetuados com o *blend* de ácidos orgânicos não foram eficazes no controle da infecção de *Salmonella* Heidelberg em frangos de corte. Acredita-se que novos trabalhos devem ser realizados com o mesmo produto, avaliando contagem total de células bacterianas, bem como a avaliação de um novo protocolo de utilização, avaliando novas concentrações do produto, e também novas maneiras e datas de administração do mesmo.

REFERÊNCIAS

1. Lake, R.; Hudson, A.; Cressey, P. 2002. Risk profile: Salmonella (non typhoid) in poultry (whole and pieces). Institute of Enviromental science and research Limited. Disponivel em: <[http:// www.esr.cri.nz](http://www.esr.cri.nz)> Acesso em 23/11/2014
2. Borsoi, A., L. L. S. Moraes, C. T. P. Salle, and V. P. Nascimento. 2010. Número mais provável de *Salmonella* isoladas de carcaças de frango resfriadas. *Ciência Rural*. 40(11):2338-2342.
3. Grimont, P.A.D.; Weill, F.X. 2007. Antigenic Formulae of the Salmonella Serovars. WHO Collaborating Center for Reference and Research on Salmonella. France: Institute Pasteur.
4. Davis, A. L.; Curtis, P. A.; Conner, D. E. 2008. Validation of cooking methods using shell eggs inoculated with Salmonella serotypes Enteritidis and Heidelberg. *Poultry Science*, v. 87, p. 1637-1642.
5. Guibourdenche, M.; Roggentin, P.; Mikoleit, M.; Fields, P. I.; Bockemuhl, J.; Grimont, P. A. D.; Weill, F.-X. 2010. Supplement 2003 – 2007 (No. 47) to the White – Kauffmann – Le Minor scheme. *Research in Microbiology*. v.161, p. 26 – 29.
6. Gast, R. K., Guard-Bouldin, J. R. G., Holt, P. S., Morre, W. R. 2007. United States Department of Agriculture, Agricultural Research Service, Egg Safety and Quality Research Unit, Russell Research Center. Summarized from *Avian Diseases*, v. 51, n. 1, p. 40–44.
7. Gast, R. K.. 2003. *Salmonella* infections. In: *Diseases of poultry*. Saif, Y. M. et al., 11th. ed. Ames: Iowa State University. v. 11.p. 567-599.
8. Santos, D. M. S.; Berchieri Junior, A.; Fernandes, S.A. et al. 2000. Salmonella em carcaças de frangos congeladas. *Pesquisa Veterinária*, v. 20, 39-40.

9. Rahimi, S., Z. M. Shiraz, T. Z. Salehi, M. A. K. Torshizi, and J. L. Grimes. 2007. Prevention of *Salmonella* infection in poultry by specific egg-derived antibody. *International Journal Poultry Science*. v. 6: p. 230-235.
10. Stratford, M.; Plumridge, A.; Nebe-Von-Caron, G.; Archer, D.B. 2009. Inhibition of spoilage mould conidia by acetic acid and sorbic acid involves different modes of action, requiring modification of the classical weak-acid theory. *International Journal of Food Microbiology*, v. 136, p. 37-43.
11. Penz, Jr, A.M, Silva, A.B., Rodrigues, O. 1993. Ácidos orgânicos na alimentação de aves. IN: Conferência Apinco de Ciência e Tecnologias Avícolas. Anais... Apinco, Santos, SP., 286p. p.111-119.
12. Rostagno, H. S., L. F. T. Albino, J. L. Donzele, P. C. Gomes, R. F. Oliveira, D. C. Lopes, A. S. Ferreira, and S. L. T. Barreto. 2005. Tabelas brasileiras para aves e suínos. Composição de alimentos e exigências nutricionais. 2ª ed. Viçosa: UF.
13. Miragliotta, M. Y. 2005. Avaliação das condições do ambiente interno em dois galpões de produção comercial de frangos de corte, com ventilação e densidade populacional diferenciados. PhD Diss. Faculdade de Engenharia Agrícola, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
14. Rossi, Robson M. 2011. Introdução aos métodos Bayesianos na análise de dados zootécnicos com uso do WinBUGS e R. Maringá, Eduem.
15. R Core Team. 2014. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>.
16. Heidelberger, P., Welch, P. 1983. Simulation run length control in the presence of an initial transient. *Operations Research*, Baltimore. 31: 1109-44.
17. R Development Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation Stat. Computing, ISBN 3-900051-07-0. Available at: <http://www.r-project.org>.

18. Chaves, L. S. 2007. Frangos de corte de crescimento lento e rápido, oriundos de ovos inoculados com probióticos, submetidos a desafio de *Salmonella* Enteritidis, e jejum após eclosão. Dissertação (Mestrado). Escola de Veterinária. Universidade Federal de Goiás. Goiano, GO.
19. Rocha, T. M. 2008. Controle de *Salmonella* Typhimurium em frangos de corte, utilizando composto com ácido benzoico, fumárico, e 2-hidroximetiltilbutanóico. Dissertação (Mestrado). Escola de Veterinária. Universidade Federal de Goiás. Goiano, GO.
20. Salazar, P. C. R.; Albuquerque, R.; Takaeda, P.; Trindade Neto, M. A.; Araújo, L. F. 2008. Efeito dos ácidos láctico e butírico, isolados e associados, sobre o desempenho e morfometria intestinal em frangos de corte. *Brazilian Journal Veterinary Research Animal Science*, São Paulo, v. 45, n. 6, p. 463-471.
21. Zanelatto, E. A.; Oliveira, A. C. C.; Favero, A.; Oliveira, R.; Huber, M.; Borges, S. 2008. A. utilização de ácidos orgânicos em dietas de iniciais para frangos de corte. *Revista Brasileira de Ciência Avícola*. Soplemento 10. p. 81.
22. Campo, M. P. A.; Rabello, C. B. V.; Sakomura, N. K.; Longo, F. A.; Kuana, S.; Gut, F. 2004. Utilização do ácido fumarínico em dietas de frango de corte com baixa energia metabolizável. *Acta Scientiarum Animal Sciences*, Maringá, v. 26, n.1, p. 35-39.
23. Viola, E. S.; Vieira, S. L.; 2008. Suplementação de acidificantes orgânicos e inorgânicos, em dietas de frangos de corte sob suplementação com ácidos láctico, fórmico, acético e fosfórico no alimento ou na água. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 37, n. 2, p. 296-302.
24. Maiorka, A.; Santin, A. M. E.; Borges, S. A.; Opalinski, M.; Silva, A. V. F.; 2004. Emprego de uma mistura de ácidos fumárico, láctico, cítrico, e ascórbico em dietas iniciais de frangos de corte. *Archives of Veterinary Science*, v. 9, n.1, p. 31-37.
25. Garcia, R. G.; Arika, J.; Moraes, V. M. B.; Kronka, S. N.; Borges, S. A.; Murata, L. S.; Campo, L. A.; 2000. Ação isolada ou combinada de ácidos orgânicos e promotor de

- crescimento em rações de frangos de corte. *Revista Brasileira de Ciência Avícola*, v. 2, n, 2, p. 149-154.
26. Daskiram, M.; Teeter, R. G.; Vanhooser, S. L.; Gibson, M. L.; Roura, E.; 2004. Effect of dietary acidification on mortality rates, general performance, carcass characteristics, and serum chemistry of broilers exposed to cycling high ambient temperature stress. *Journal Applied Poultry Research*, Champaign, v. 13, p. 605-613.
 27. Salazar, P. C. R.; 2006. Efeito dos ácidos láctico e butírico, isolados e associados, sobre o desempenho, imunidade humoral e morfometria intestinal de frangos de corte. 72f. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga.
 28. Vale, M. M.; Menten, J. F. M.; Moraes, S. C. O.; Brainer, M. M. A. 2004. Mixture of formic and propionic acid as additives in broiler feeds. *Science Agrícola*, v. 61, n. 4, p. 371-375.
 29. Colaça, G. M.; 2009. Ácidos Orgânicos no controle de *Salmonella Enteritidis* em frangos de corte desafiados experimentalmente com *Salmonella Enteritidis* e *Eimeria tenella*. 69f. Dissertação (Mestrado). Escola de Veterinária, Universidade Federal de Goiás, Goiânia.
 30. Rahmani, H. R.; e Speer, W.; 2005. Natural additives influence the performance and humoral immunity of broilers. *International Journal of Science*, v. 4, p. 713-717.
 31. Alali, W. Q.; Hofacre, C. L.; Mathis, G. F. and Faltys, G. 2013. Effect of essential oil compound on shedding and colonization of *Salmonella enterica* serovar Heidelberg in broilers. *Poultry Science*, v. 92, p.836-841.
 32. Bassan, J. D.; Flores, M. L.; Antoniazzi, T.; Bianchi, E.; Kutiel, J.; Trindade, M.M. 2008. Controle da infecção por *Salmonella Enteritidis* em frangos de corte com ácidos orgânicos e mananoglicosacarídeo. *Ciência Rural*, v.38, n.7.
 33. Pickler, I., Hayashi, R. L.; Lourenço, M. C.; Miglino, L. B.; Caron, L. F.; Beirão, C.B.; Silva, A. V.F.; Santim, E. 2012. 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.

34. Lambert, R. J.; and Stratford, M. 1999. Weak-acid preservative: modeling microbial inhibition and response. *Journal of applied Microbiology*. v. 86, p. 157-164.
35. Byrd, J. A.; Hargis, B. M.; Caldwell, D. J.; Bailey, R. H.; Herron, K.L.; McCreynolds, J. L.; Brewer, R.L.; Anderson, R. C.; Bischoff, K. M.; Callaway, T. R.; Kubena, L. F. 2001. Effect of Lactic Acid Administration in the Drinking Water During Preslaughter Feed Withdrawal on *Salmonella* and *Campylobacter* Contamination of Broilers. *Poultry Science*, v. 80, p.278–283.
36. Le, N.Y. 2005. Use of organic acids in poultry production. Mode of action and applications. Fórum internacional de avicultura. Foz do Iguaçu, p. 158-164.
37. Piva, A.; Pizzmiglio, M.; Morlacchini, M.; Tedeschi, M.; Piva, G. 2007. Lipid microencapsulation allows slow release of organic acids and natural identical flavors along the swine intestine. *Journal of Animal Science*, v. 85, p. 486-493.
38. Sterzo, E.V.; Paiva, J.B.; Mesquita, A.L.; Freitas Neto, O.C.; Berchieri, Jr A. 2007. 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.
39. Pickler, L. 2011. Ácidos orgânicos via água e via ração para controlar *Salmonella Enterica* Sorovares Enteritidis e Minnesota em frangos. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal do Paraná. Curitiba.
40. Westerfeld, B.L.; Adams, A.W.; Erwin, L.E.; Deyoe, C.W. 1970. Effect of a chemical additive on salmonella in poultry feed and host birds. *Poultry Science*, v.49, n.5, p.1319-23.
41. Duncan, M.S.; Adams, A.W. 1972. Effects of a chemical additive and of formaldehyde gas fumigation on *Salmonella* in poultry feeds. *Poultry Science*, v.51, n.3, p.797-802.

42. Gauthier, R. 2005. Organic acids and essential oils, a realistic alternative to antibiotic growth promoters in poultry. URL <http://www.jifo.ca/pdf/avicola/AnaisAveExpo-R-Gauthier.pdf>. Acesso em 22 de dezembro de 2014.
43. Oliveira GH, Berchieri Jr A, Barrow PA. 2000. Prevention of Salmonella infection contact using intestinal flora of adult birds and/or a mixture of organic acids. Brazilian Journal of Microbiology.
44. Rubio, C. F.; Orfenez, C.; Gonzalez, J. A.; Gallego, A. G.; Honrubia, M. P.; Mallo J. J. and Fouce, R. B. 2009. Butyric acid-based feed additives help protect broiler chickens from Salmonella Enteritidis infection. Poultry Science, v.88, p, 943-948.

TABELAS

Tabela 1 - Estimativas Bayesianas para a conversão alimentar (CA) a *posteriori* aos sete dias de idade dos tratamentos

Tratamentos	CA a posteriori	Desvio-padrão	CV (%)	σ^2
T1	1,294 ^a	0,0732	5,65	75,77
T2	1,331 ^b	0,0719	5,40	80,08
T3	1,311 ^b	0,0774	5,90	63,36
T4	1,403 ^{bc}	0,0506	3,60	156,00
T5	1,379 ^{bc}	0,0572	4,14	117,90

^{a,b}Médias seguidas de letras diferentes na coluna, são estatisticamente diferentes por meio de comparações Bayesianas ($p < 5\%$)

*: Tratamentos: T1:Controle positivo; T2:Controle Negativo; T3:Ácido via água; T4: ácido via Ração; T5:Acido via água e ração.

Tabela 2. Estimativas Bayesianas para a conversão alimentar (CA) a *posteriori* aos 14 dias de idade dos tratamentos

Tratamentos	CA a posteriori	Desvio-padrão	CV (%)	σ^2
T1	1,569 ^b	0,0336	2,14	36,02
T2	1,449 ^{ab}	0,0937	6,46	47,08
T3	1,433 ^{ab}	0,0990	6,90	38,72
T4	1,449 ^{ab}	0,0859	5,92	54,11
T5	1,464 ^b	0,0685	4,67	82,37

^{a,b}Médias seguidas de letras diferentes na coluna, são estatisticamente diferentes por meio de comparações Bayesianas ($p < 5\%$)

*: Tratamentos: T1 – Controle positivo; T2 – Controle Negativo; T3 – Ácido via água; T4 – ácido via Ração; T5 – Acido via água e ração.

Tabela 3. Estimativas Bayesianas para a conversão alimentar (CA) *a posteriori* aos 21 dias de idade dos tratamentos

Tratamentos	CA <i>a posteriori</i>	Desvio-padrão	CV (%)	σ^2
T1	1,666 ^a	0,0252	1,51	63,61
T2	1,996 ^b	0,1306	6,54	24,29
T3	1,582 ^a	0,0869	5,49	50,29
T4	1,734 ^b	0,1547	8,92	16,69
T5	1,604 ^{ab}	0,0747	4,65	69,30

^{a,b}Médias seguidas de letras diferentes na coluna, são estatisticamente diferentes por meio de comparações Bayesianas ($p < 5\%$)

*: Tratamentos: T1 – Controle positivo; T2 – Controle Negativo; T3 – Ácido via água; T4 – ácido via Ração; T5 – Acido via água e ração.

Tabela 4. Estimativas Bayesianas para a conversão alimentar (CA) *a posteriori* aos 28 dias de idade dos tratamentos

Tratamentos	CA <i>a posteriori</i>	Desvio-padrão	CV (%)	σ^2
T1	1,752 ^b	0,0439	2,50	21,10
T2	1,872 ^{bc}	0,1398	7,56	21,2
T3	1,674 ^{ab}	0,0583	3,48	11,17
T4	1,753 ^{ab}	0,0994	5,67	40,38
T5	1,660 ^{ab}	0,0650	3,91	91,34

^{a,b}Médias seguidas de letras diferentes na coluna, são estatisticamente diferentes por meio de comparações Bayesianas ($p < 5\%$)

*: Tratamentos: T1 – Controle positivo; T2 – Controle Negativo; T3 – Ácido via água; T4 – ácido via Ração; T5 – Acido via água e ração.

Tabela 5. Estimativas Bayesianas para a conversão alimentar (CA) *a posteriori* aos 31 dias de idade dos tratamentos

Tratamentos	CA <i>a posteriori</i>	Desvio-padrão	CV (%)	σ^2
T1	1,882 ^{ab}	0,0325	1,72	384,8
T2	1,942 ^b	0,1261	6,49	26,06
T3	1,784 ^{ab}	0,0500	2,80	151,80
T4	1,843 ^{ab}	0,0724	3,92	76,11
T5	1,762 ^a	0,0607	3,44	104,90

^{a,b}Médias seguidas de letras diferentes na coluna, são estatisticamente diferentes por meio de comparações Bayesianas ($p < 5\%$)

*: Tratamentos: T1 – Controle positivo; T2 – Controle Negativo; T3 – Ácido via água; T4 – ácido via Ração; T5 – Acido via água e ração.

Tabela 6. Estimativas Bayesianas para peso médio (PM) *a posteriori* aos sete dias de idade dos tratamentos

Tratamentos	PM <i>a posteriori</i>	Desvio-padrão	CV (%)	σ^2
T1	0,146 ^b	0,0146	9,46	0,0189
T2	0,148 ^{ab}	0,0149	10,06	0,0185
T3	0,147 ^b	0,0142	9,72	0,0186
T4	0,134 ^{bc}	0,0143	10,67	0,0193
T5	0,143 ^b	0,0148	10,34	0,0174

^{a,b}Médias seguidas de letras diferentes na coluna, são estatisticamente diferentes por meio de comparações Bayesianas ($p < 5\%$)

*: Tratamentos: T1 – Controle positivo; T2 – Controle Negativo; T3 – Ácido via água; T4 – ácido via Ração; T5 – Acido via água e ração.

Tabela 7. Estimativas Bayesianas para peso médio (PM) *a posteriori* aos 14 dias de idade dos tratamentos

Tratamentos	PM <i>a posteriori</i>	Desvio-padrão	CV (%)	σ^2
T1	0,343 ^b	0,0208	6,06	0,0935
T2	0,325 ^{bc}	0,0204	6,27	0,0988
T3	0,351 ^{ab}	0,0157	4,47	0,0152
T4	0,319 ^{bc}	0,0170	5,32	0,0138
T5	0,337 ^b	0,0156	4,62	0,0157

^{a,b}Médias seguidas de letras diferentes na coluna, são estatisticamente diferentes por meio de comparações Bayesianas ($p < 5\%$)

*: Tratamentos: T1 – Controle positivo; T2 – Controle Negativo; T3 – Ácido via água; T4 – ácido via Ração; T5 – Acido via água e ração.

Tabela 8. Estimativas Bayesianas para peso médio (PM) *a posteriori* aos 21 dias de idade dos tratamentos

Tratamentos	PM <i>a posteriori</i>	Desvio-padrão	CV (%)	σ^2
T1	0,699 ^b	0,0254	3,63	0,0628
T2	0,659 ^{bc}	0,0315	4,77	0,0417
T3	0,699 ^{ab}	0,0187	2,67	0,0108
T4	0,667 ^{bc}	0,0299	4,48	0,0445
T5	0,689 ^b	0,0187	2,71	0,0109

^{a,b}Médias seguidas de letras diferentes na coluna, são estatisticamente diferentes por meio de comparações Bayesianas ($p < 5\%$)

*: Tratamentos: T1 – Controle positivo; T2 – Controle Negativo; T3 – Ácido via água; T4 – ácido via Ração; T5 – Acido via água e ração.

Tabela 9. Estimativas Bayesianas para peso médio (PM) a *posteriori* aos 28 dias de idade dos tratamentos

Tratamentos	PM a posteriori	Desvio-padrão	CV (%)	σ^2
T1	1,093 ^b	0,0278	2,54	0,0525
T2	1,061 ^{bc}	0,0374	3,52	0,0294
T3	1,108 ^{ab}	0,0170	1,53	0,00131
T4	1,078 ^{bc}	0,0364	3,37	0,0300
T5	1,097 ^b	0,0253	2,30	0,0584

^{a,b}Médias seguidas de letras diferentes na coluna, são estatisticamente diferentes por meio de comparações Bayesianas ($p < 5\%$)

*: Tratamentos: T1 – Controle positivo; T2 – Controle Negativo; T3 – Ácido via água; T4 – ácido via Ração; T5 – Acido via água e ração.

Tabela 10. Estimativas Bayesianas para peso médio (PM) a *posteriori* aos 31 dias de idade dos tratamentos

Tratamentos	PM a posteriori	Desvio-padrão	CV (%)	σ^2
T1	1,278 ^b	0,0414	3,23	236,70
T2	1,204 ^{bc}	0,0398	3,30	260,30
T3	1,280 ^{ab}	0,0284	2,21	468,40
T4	1,208 ^{bc}	0,0397	3,28	252,60
T5	1,275 ^b	0,0270	2,11	529,60

^{a,b}Médias seguidas de letras diferentes na coluna, são estatisticamente diferentes por meio de comparações Bayesianas ($p < 5\%$)

*: Tratamentos: T1 – Controle positivo; T2 – Controle Negativo; T3 – Ácido via água; T4 – ácido via Ração; T5 – Acido via água e ração.

Tabela 11. Estimativas Bayesianas *a posteriori* para pesquisa de *Salmonella* Heidelberg em amostras de *pool* de íleo, tonsilas cecais e cecos, em necropsias realizadas aos nove dias e amostras de papo em necropsias realizadas 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	0,1181	0,1348	0,1251	0,1389	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	0,1254	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 x T2); 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).

Tabela 12. Estimativas Bayesianas *a posteriori* para pesquisa de *Salmonella* Heidelberg em suabe de arrasto, realizados aos 16 dias de idade.

	Contraste*	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9	C10
Suabe 16 dias	Delta	-0,4293	-0,2846	-0,1442	0,1363	0,1448	0,2851	0,4293	0,1404	0,2846	0,1442
	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 x T2); 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).