

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

**CONTROLE DA INFECÇÃO POR *SALMONELLA*  
ENTERITIDIS EM FRANGOS DE CORTE COM  
ÁCIDOS ORGÂNICOS MANANOLIGOSSACARÍDEO**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**Joana Darc Lopes Bassan**

**Santa Maria, RS, Brasil**

**2007**

**CONTROLE DA INFECÇÃO POR *SALMONELLA*  
ENTERITIDIS EM FRANGOS DE CORTE COM ÁCIDOS  
ORGÂNICOS E MANANOLIGOSSACARÍDEO**

**Por**

**Joana Darc Lopes Bassan**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Área de Concentração em Medicina Veterinária Preventiva, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Medicina Veterinária.**

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Maristela Lovato Flôres

Santa Maria, RS, Brasil

2007

**Universidade Federal de Santa Maria  
Centro de Ciências Rurais  
Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,  
aprova a Dissertação de Mestrado

**CONTROLE DA INFECÇÃO POR *SALMONELLA* ENTERITIDIS EM  
FRANGOS DE CORTE COM ÁCIDOS ORGÂNICOS E  
MANANOLIGOSSACARÍDEO**

elaborada por  
**Joana Darc Lopes Bassan**

Como requisito parcial para obtenção de grau de  
**Mestre em Medicina Veterinária**

**COMISSÃO EXAMINADORA:**

---

**Maristela Lovato Flôres, Dr<sup>a</sup> (UFSM)**  
(Presidente/Orientador)

---

**Gláucia Denise Kommer, Dr<sup>a</sup> (UFSM)**

---

**Geder Paulo Herrmann, Dr. (UFSM)**

Santa Maria, 16 de agosto de 2007

**Este trabalho é dedicado ao  
meu filho Márcio Gabriel  
pelo apoio, carinho e o amor  
incondicional.**

## AGRADECIMENTOS

À Deus em tudo que tem realizado em minha vida, pois sem ele nada conseguiria.  
À Ele toda honra, toda a glória e todo o meu louvor.

Ao meu esposo Márcio por acreditar no meu trabalho, sempre apoiando em tudo, inclusive para que este trabalho se realizasse.

Ao meu amado filho Márcio Gabriel motivo de todo o meu empenho, esforço e estímulo.

Aos meus pais Divor e Sirlei pelo carinho, apoio, paciência, empenho e ajuda com o meu filho.

À minha orientadora Prof<sup>ª</sup>.Dr<sup>ª</sup>. Maristela Lovato Flores pelo apoio, dedicação e amizade.

Ao meu amigo e professor Prof. Dr. Geder Paulo Herrmann pelo apoio, amizade e por acreditar na minha capacidade.

Às Acadêmicas de Medicina Veterinária, bolsistas no projeto, Taiane Antoniazzi e Eloísa Bianchi pela ajuda, empenho e dedicação.

À empresa Vetanco do Brasil pelo financiamento na pesquisa.

Aos colegas da Vetanco do Brasil: Mauro Felim e Javier Kuttel pelo apoio.

Aos meus colegas, já mestres, Roberto Marinho Maciel, Gislaine Jacobsen, Aleverson Barcelos e Stefanie Segabinazi pela amizade e coleguismo e, também, pelos momentos de estudo e, também, momentos de descontração.

À minha colega e amiga Michele Trindade pela alegre amizade e apoio.

À equipe do Laboratório Central de Diagnósticos e Patologias Aviárias (LCDPA) pela amizade, momentos de trabalho e pelos momentos de descontração.

À minha grande amiga “irmã” Dilma pela amizade e dedicação incondicional.

À equipe da Clínica Veterinária Pegadas pela compreensão e amizade.

À minha gatinha Valentina pela agradável companhia nos momentos da digitação do trabalho.

*Agrada-te do Senhor, e ele  
satisfará os desejos do teu coração.  
Entrega o teu caminho ao Senhor,  
confia nele, e o mais ele fará.  
(Salmo 37:4-5)*

## RESUMO

Dissertação de Mestrado  
Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária  
Universidade Federal de Santa Maria

### CONTROLE DA INFECÇÃO POR *SALMONELLA* ENTERITIDIS EM FRANGOS DE CORTE COM ÁCIDOS ORGÂNICOS E MANANOLIGOSSACARÍDEO

Autora: Joana Darc Lopes Bassan  
Orientadora: Maristela Lovato Flores  
Santa Maria, 16 de agosto de 2007

O objetivo deste estudo foi avaliar a ação de dois ácidos orgânicos (ácido fórmico e ácido propiônico) e de um mananoligossacarídeo (MOS) adicionados à dieta no controle da infecção intestinal por *Salmonella* Enteritidis (SE) em frangos de

corde. Neste estudo de 39 dias foram utilizadas 150 aves, de um dia de idade, da linhagem Cobb, lote misto, livre de SE, divididos em seis tratamentos (T) com 25 animais cada, onde: T1 (dieta e ausência de infecção), T2 (dieta + ácidos orgânicos e ausência de infecção), T3 (dieta + ácidos orgânicos + MOS e ausência de infecção), T4 (dieta + ácidos orgânicos e infecção com SE), T5 (dieta + ácidos orgânicos + MOS e infecção com SE) e T6 (dieta e infecção com SE). No 4º dia após o alojamento, a cama foi instilada, com SE e, a cada sete dias, cinco aves por grupo foram submetidas à eutanásia por deslocamento cervical, necropsiadas e realizados os exames bacteriológicos para SE, utilizando-se fezes coletadas sobre a cama de maravalha dos grupos, e das tonsilas cecais dos animais necropsiados. No 18º dia, somente 60% das aves estavam infectadas nos tratamentos T4 e T5; no 25º dia, 40% das aves no T4 e 20% no T5 estavam infectadas; no 32º dia 100% das amostras testadas foram negativas em ambos os tratamentos (T4 e T5). Constatou-se que o T6 foi 100% positivo até o 32º dia, e no 39º dia reduziu em 20% o número de animais infectados. Dentro dos parâmetros de avaliação deste experimento, os ácidos orgânicos e o mananoligossacarídeo adicionados à dieta, possivelmente contribuíram no controle da infecção por SE nas aves testadas.

**Palavras-chave:** *Salmonella* Enteritidis, frango de corte, ácidos orgânicos, mananoligossacarídeo, dieta, bacteriologia.

## ABSTRACT

Master's Dissertation  
Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária  
Universidade Federal de Santa Maria

### CONTROL OF THE INFECTION CAUSED BY *SALMONELLA* ENTERITIDIS WITH ORGANIC ACIDS AND MANNANOLIGOSACCHARIDE IN BROILERS

Author: Joana Darc Lopes Bassan  
Advisor: Maristela Lovato Flores  
Santa Maria, august 16<sup>th</sup> 2007

The objective of this study work was to evaluate the effect of two organic acids (formic acid and propionic acid) and of one mannanoligosaccharide added to the diet to control the intestinal infection caused by *Salmonella* Enteritidis in broilers. In these 39 days of study it was used 150 birds, 1-day-old, of the Cobb lineage, both sexes and free of *Salmonella* Enteritidis. They were divided in 6 different treatments (T) with 25 birds each, where: T1 (diet and no infection), T2 (diet + organic acids + no infection), T3 (diet + organic acids + mannanoligosaccharide and no infection), T4 (diet + organic acids and infection with *Salmonella* Enteritidis) T5 (diet + organic acids + mannanoligosaccharide + and infection with *Salmonella* Enteritidis) T6 (diet and infection with *Salmonella* Enteritidis). After housing, the chicken litter was instilled on the 4<sup>th</sup> day with *Salmonella* Enteritidis and every seven days, five birds from each group were killed through cervical dislocation. The necropsy was performed and also the bacteriological exams to detect *Salmonella* Enteritidis using the feces collected over the chicken litter of the groups bacteriological analysis of the cecal tonsils was done as well. On the 18<sup>th</sup> day only 60% of birds were infected in treatments T4 and T5; on the 25<sup>th</sup> day, 40% of birds in T4 and 20% in the T5 were infected; on the 32<sup>nd</sup> day, 100% of tested samples were negative in both treatments. The T6 group was 100% positive until the 32<sup>nd</sup> day, but on the 39<sup>th</sup> day, it got reduced in 20% of the number of infected animals. In the experimental conditions of this study, the organic acids and the mannanoligosaccharide added to the diet possibly contributed to control the infection caused by *Salmonella* Enteritidis on tested birds.

**Key words:** *Salmonella* Enteritidis, broilers, organic acids, mannanoligosaccharide, diet, bacteriology.



## LISTA DE TABELAS

<b>TABELA 1</b> – Composição da dieta, formulada com 30 Kg para cada grupo, utilizada no experimento.....	36
<b>TABELA 2</b> – Resultados da análise para <i>Salmonella</i> Enteritidis em fezes e tonsilas cecais de frangos de corte com e sem adição de ácidos orgânicos e MOS na ração.....	37

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>FIGURA 1</b> – Tratamentos realizados com a adição de dois ácidos orgânicos e um mananoligossacarídeo (MOS) na dieta para controlar a infecção por <i>Salmonella</i> Enteritidis em frangos de corte.....	35
<b>FIGURA 2</b> - Resultados percentuais de aves positivas para <i>Salmonella</i> Enteritidis em tonsilas cecais de frangos de corte com e sem ácidos orgânicos e MOS na dieta, durante o período experimental de 35 dias.....	38

## SUMÁRIO

RESUMO.....	
ABSTRACT.....	
LISTA DE TABELAS.....	
LISTA DE ILUSTRAÇÕES.....	
INTRODUÇÃO.....	12
CAPÍTULO 1.....	15
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	15
CAPÍTULO 2.....	31
CONTROLE DA INFECÇÃO POR <i>SALMONELLA</i> ENTERITIDIS EM FRANGOS DE CORTE COM ÁCIDOS ORGÂNICOS E MANANOLIGOSSACARÍDEO.....	31
RESUMO.....	31
ABSTRACT.....	32
INTRODUÇÃO.....	33
MATERIAL E MÉTODOS.....	35
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	37
CONCLUSÕES.....	41
REFERÊNCIAS.....	42
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	44

## INTRODUÇÃO

As doenças entéricas, nos últimos anos, tornaram-se um dos maiores desafios para a avicultura industrial mundial, acarretando perdas de produtividade, aumento de mortalidade entre as aves e a contaminação de produtos de origem avícola para o consumo humano. Com frequência crescente, os produtos avícolas têm sido relacionados com toxinfecções alimentares em humanos em vários países, sugerindo que os produtos elaborados com carne de aves portadoras de bactérias possam ser fontes de infecção. A carne de aves pode ser contaminada com *Salmonella* sp. quando a bactéria é transferida do conteúdo intestinal à carcaça durante o processamento e o enfoque maior está voltado à saúde pública. A ocorrência de surtos de salmonelose humana, relacionada aos produtos avícolas e determinados por outros sorovares que não *Salmonella* Enteritidis (SE), tem diminuído drasticamente na última década. O isolamento de SE, seja em humanos ou aves, aumentou sensivelmente, atingindo índices superiores a 50% das ocorrências em muitos países (ANDREATTI FILHO, 2006).

De acordo com Snoeyenbos & Williams (1991), as aves domésticas constituem-se nos maiores reservatórios de *Salmonella* existentes na natureza. As salmonelas são mais frequentemente relatadas em aves e produtos de origem aviária, particularmente por causa do confinamento de uma grande população e das atividades dos programas nacionais para isolamento e identificação.

Na produção em sistema de confinamento existem inúmeros fatores de risco que podem contribuir para maior prevalência de *Salmonella* como falta de higiene na granja, a presença de pragas nos locais de criação, a contaminação dos alimentos e água oferecidos, uso indiscriminado de antimicrobianos de amplo espectro como promotores de crescimento e a presença de animais portadores. A etapa de criação pode ser epidemiologicamente muito

importante na disseminação de *Salmonella* e, conseqüentemente, dar origem a um produto contaminado. Trabalhos realizados no Brasil e em vários países desenvolvidos e em desenvolvimento permitem indicar a *Salmonella* sp. como um dos principais microrganismos presentes nas contaminações. Levantamentos realizados têm mostrado que 30% a 50% das carcaças de frangos congeladas ou refrigeradas estão contaminadas por *Salmonella* sp. (SILVA, 1998). A contaminação das aves pode ocorrer nas granjas, ou nas diversas etapas posteriores de produção industrial, distribuição, comercialização e consumo, através da chamada contaminação cruzada (BAIRD-PARKER, 1990).

Santos et al. (2000) observaram contaminação por salmonelas em carcaças de frangos congeladas variando de 16% a 53,5 % em incidência, de acordo com as marcas pesquisadas no comércio varejista de Jaboticabal, SP. Neste estudo, SE foi o sorotipo com maior ocorrência, totalizando 60,4% dos isolamentos.

Oliveira et al. (2006), ao analisarem 51 amostras de material excretado por aves e 63 amostras de carcaças submetidas a análise bacteriológica e ao teste de sensibilidade a antimicrobianos, observaram que não foram isoladas salmonelas do material excretado, contudo, nas amostras de carcaças observa-se a taxa de 11,8%. Três sorotipos foram identificados: *Salmonella* enterica sorovar Enteritidis, 50%; *Salmonella* enterica sorovar Panamá, 33%; e *Salmonella* enterica sorovar Newport, 17%. No teste de sensibilidade as salmonelas foram resistentes a ampicilina e tetraciclina e sensíveis a gentamicina, metilmicina, carbenicilina e cloranfenicol.

A preocupação mundial com a ocorrência de resistência bacteriana e a conseqüente proibição do uso de antibióticos promotores de crescimento (APCs) na alimentação animal levou a uma busca por aditivos naturais que possam substituir os antibióticos na produção de frangos em todo o mundo. Entre as alternativas está o uso do mananoligossacarídeo (MOS), derivado de uma cepa específica de levedura, cujos efeitos

benéficos sobre o desempenho produtivo e saúde animal têm sido comprovados através de pesquisas científicas conduzidas em diversos países (ROPPA, 2006).

As empresas exportadoras tiveram que se adaptar às exigências da União Européia e adotar não apenas um produto, mas todo um programa que envolve manejo, treinamento, padronização, qualidade da matéria prima e ingredientes. Atualmente, a indústria avícola nacional está mais preparada para a substituição dos APCs, obtendo resultados zootécnicos semelhantes aos que eram obtidos com o uso de antibióticos. Além disso, há vantagens adicionais como uma maior integridade intestinal, redução da resistência bacteriana, controle de contaminações no abatedouro, assim como uma melhor resposta imune (ROPPA, 2006).

O tratamento com antimicrobianos das rações contribui para a redução da incidência de salmonelas nas criações de aves, e a adição de ácidos orgânicos às rações, principalmente os ácidos graxos de cadeia curta, reduz as infecções por salmonelas em frangos, melhorando o desempenho das aves (HINTON et al., 1985; OSTERMANN, 2005; JUNIOR & OLIVEIRA, 2006).

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a ação de dois ácidos orgânicos (ácido fórmico e ácido propiônico) e de um mananoligossacarídeo (MOS) adicionados à dieta no controle da infecção intestinal por *Salmonella* Enteritidis (SE) em frangos de corte.

## CAPÍTULO 1

### REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

O gênero *Salmonella*, nome este dado em homenagem a Daniel E. Salmon, Médico Veterinário do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos da América (USDA) (SNOEYENBOS & WILLIAMS, 1991). A classificação do gênero *Salmonella* segue ao esquema Kauffmann-White que divide o mesmo em duas espécies, *S. enterica* e *S. bongori*. A *S. enterica* apresenta seis subespécies: *enterica*, *salamae*, *arizonae*, *diarizonae*, *houtenae* e *indica*. *Salmonella bongori* apresenta uma única subespécie, a *bongori*. O gênero *Salmonella*, é composto por 2.523 sorovares, baseados em reações bioquímicas e sorológicas. A partir deste nível as salmonelas são classificadas em sorovares e agrupadas de acordo com seus antígenos somáticos. Conforme Doyle & Cliver (1990), o Manual Bergey classifica as salmonelas em 50 grupos, que recebem letras do alfabeto, A, B, C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub>, D, etc., baseados na composição do antígeno somático, sendo que 98% das salmonelas isoladas pertencem aos 12 primeiros grupos (POPOFF *et al.*, 2003).

Historicamente o primeiro relato de toxinfecção alimentar produzido pela *Salmonella* Enteritidis (SE) foi descrito por A. Gärtner, em 1888, na Alemanha, quando o mesmo isolou o agente causal, *Bacillus enteritidis*, a partir da carne de um bovino e do baço de um homem que havia falecido após ter consumido carne bovina crua (POPPE, 1999).

As modernas técnicas de produção, desenvolvidas principalmente nos anos 70, trouxeram inúmeros benefícios, mas também podem predispor as aves a desafios patogênicos, trazendo dessa forma riscos potenciais, não só à população avícola como também à própria população humana, através da contaminação dos alimentos advindos das aves. Um desses efeitos indesejáveis, presentes na produção avícola industrial, resulta da ausência de uma

formação rápida da microflora intestinal natural, e essa ausência, predispõe os pintos à contaminação por bactérias patogênicas (PETRI, 2002).

A salmonelose é uma das mais prevalentes e mais sérias formas de doenças de origem alimentar, sendo freqüentemente associada ao consumo do ovo. Muitos levantamentos em diferentes países têm demonstrado que de 30 a 50% das carcaças de frangos congelados ou refrigerados estão contaminadas por *Salmonella* sp. Entretanto, o número de células por carcaça é muito baixo e geralmente alcança entre cinco e 1.000 células. Muitos esforços têm sido feitos para reduzir a incidência da contaminação e visam controlar a disseminação de *Salmonella* sp. durante o desenvolvimento das aves; a desinfecção desses locais é realizada com o objetivo de controlar a disseminação desses microrganismos (SILVA, 2005).

Nos últimos trinta anos, a ocorrência de infecção por *Salmonella* sp. no homem teve um aumento significativo em vários países. Esse aumento foi observado inclusive em países com excelentes serviços de saúde e facilidades laboratoriais. Pesquisas em vários países demonstraram que as carnes tanto de frango quanto as vermelhas, são as maiores fontes de salmonelose. A contaminação da ração animal tem sido apontada como fonte primária de infecção nos animais, originando grande número de portadores de *Salmonella* sp, que são clinicamente sadios, porém são potenciais disseminadores desse gênero de microrganismo e possíveis agentes contaminantes durante o processo de abate (SILVA, 2005).

A principal via de transmissão de *Salmonella* sp é observada na cadeia alimentar. Sua presença em animais, especialmente aqueles criados com objetivo comercial, mostra que esta bactéria é considerada o mais incidente e relevante agente causal de enfermidade entérica. Atualmente são as “salmonelas paratíficas” que ameaçam a aceitação pública dos produtos avícolas, sendo apontadas como principais responsáveis pelos surtos atribuídos às doenças veiculadas por alimentos (RODRIGUES, 2005).



O trato intestinal das aves é o órgão mais importante no desenvolvimento da imunidade geral inespecífica, pois diferentemente de todas as outras espécies animais, as aves não apresentam linfonodos. Seus tecidos linfóides distribuem-se ao longo do trato intestinal, sendo constituídos pelas placas de Peyer, tonsilas cecais e a bolsa de Fabricius que é uma invaginação da parte final do trato digestório. Estes tecidos captam antígenos disponibilizados no trato digestório que estimulam as células, produtoras de IgA e células T, para o desenvolvimento de imunidade geral e inespecífica. Através do estímulo imunológico da mucosa, há produção de anticorpos tipo IgA que bloqueiam os receptores e reduzem o número de bactérias patogênicas na luz intestinal (JIN, 1997). O trato gastrointestinal realiza funções básicas como a aquisição e assimilação de alimentos, como também mantém uma barreira protetora contra as infecções microbianas e virais (CROOM et al., 2000).

As infecções por *Salmonella* sp. são adquiridas por ingestão, sendo as tonsilas e as placas de Peyer portas de entrada para algumas espécies, enquanto outras, que colonizam o intestino, são invasivas, penetram nas células epiteliais e subseqüentemente, nos macrófagos da mucosa. As salmonelas produzem doenças através da liberação de enterotoxinas, citotoxinas e endotoxinas. Uma vez em contato com os macrófagos da lâmina própria ou das placas de Peyer, as bactérias são fagocitadas, transportadas para os linfonodos regionais e através da circulação portal, são conduzidas ao fígado (CARLTON & MCGAVIN, 1998). As salmonelas são microrganismos intracelulares facultativos podendo, ao serem ligadas aos macrófagos, não serem destruídas e ainda multiplicarem-se dentro destes, o que sugere a resistência do microrganismo à fagocitose, resultando em uma tendência de cronificação das doenças provocadas por estas bactérias por meses ou até anos. A severidade da enfermidade tanto nas aves quanto nos humanos, depende da virulência da cepa, da linhagem e da faixa etária (BARROW & LOWELL, 1991).

A salmonela sobrevive por meses no ambiente, mas é sensível à luz solar e aos desinfetantes tais como fenóis, clorados e iodados. Ela necessita colonizar a porção distal do intestino delgado ou o cólon para produzirem infecção, uma vez que a flora anaeróbica normal do trato intestinal inibe o seu crescimento, além de bloquearem os acessos das salmonelas aos sítios de adesão (OLIVEIRA, 2000). Contudo, fatores como terapia com antibióticos, privação de alimento e água, estresse por transporte ou superlotação, alteram a flora intestinal normal, predis põem à colonização intestinal pelas salmonelas, que aderem às células intestinais por meio de fímbrias (QUINN et al., 1994).

A colonização intestinal por grande e diversificado número de bactérias é achado normal nas aves. Entre as bactérias capazes de colonizar o trato intestinal das galinhas encontram-se diferentes sorovares de *Salmonella* causadores de infecções em humanos. A susceptibilidade da ave à colonização intestinal por *Salmonella* sp. é maior durante os primeiros dias de vida, reduzindo-se à medida em que ocorre o crescimento da microbiota intestinal normal (PIVNICK et al., 1982).

De acordo com Rodrigues (2005), a *Salmonella* Enteritidis e a *Salmonella* Typhimurium presentes no intestino de aves saudáveis, são capazes de contaminar o meio ambiente, além de outras aves. Dessa forma, por ocasião do abate, podem originar produtos contaminados para o consumo humano.

De acordo com Quinn et al. (1994), a *S. Enteritidis* e a *S. Typhimurium*, do grupo das paratíficas, podem produzir nas aves infecção subclínica, enterite e septicemia, podendo ser transmitida via ovo. Felizmente, a pulrose e o tifo aviário encontram-se controlados na maioria dos países com avicultura desenvolvida, pois o controle é feito mediante a eliminação das aves positivas identificadas por bacteriologia e sorologia antes do início da produção, observando-se regras de biossegurança.

Qualquer país que deseja controlar *Salmonella* Enteritidis, um sorotipo comum em aves, precisa passar por estrito controle de importações, com união dos esforços entre indústrias avícolas, associações avícolas, entidades de pesquisa e o governo. Planos Nacionais têm sido implementados em muitos países, com o objetivo de controlar a infecção por *Salmonella* em animais e principalmente proteger o consumidor (OIE, 2006).

Segundo Varnan & Evans (1991), infecções por *Salmonella* podem ser graves, principalmente em pessoas muito jovens, idosas ou imunodeprimidas, sendo considerada como dose infectante, contagens bacterianas entre  $10^5$  e  $10^7$  unidades formadoras de colônia (UFC).

Nas aves, pode existir a transmissão para a progênie pela contaminação do ovo no trato reprodutivo (LISTER, 1998) ou ao passar pela cloaca. Como no ovo contaminado não ocorre morte embrionária, existe eclosão do pintinho, que se constitui em importante fonte de infecção. A transmissão horizontal ocorre por via fecal-oral, sendo a água e ração contaminadas veículos da infecção; o desenvolvimento do estado de portador pode contribuir para a persistência do microrganismo no ambiente e conseqüente disseminação da salmonelose. Outras fontes de transmissão incluem roedores, pássaros e outros animais, o que favorecem a introdução e disseminação deste a bactéria em propriedades avícolas (BERCHIERI JÚNIOR, 1995).

Nas aves, as salmoneloses têm três formas de apresentação: pulorose, causada pela *Salmonella* Pullorum, tifo aviário, causado pela *Salmonella* Gallinarum (ambas hospedeiras adaptadas às aves) e paratifo aviário, causado pelos demais sorovares de *Salmonella* (espécies não-adaptadas às aves) (SNOEYENBOS & WILLIANS, 1991).

A pulorose pode acometer aves em todas as idades, sendo, porém mais comum nas aves jovens, nas quais a mortalidade pode ser mais elevada, uma vez que apresenta uma forma

aguda septicêmica. Em aves adultas apresenta-se de forma crônica e localizada (SNOEYENBOS, 1991).

As aves que sobrevivem podem apresentar empenamento ruim e crescimento inadequado para a idade, porém nos casos de matrizes pesadas e poedeiras comerciais, cujo ciclo de vida é maior, as mesmas conseguem crescer dentro dos parâmetros zootécnicos esperados e produzir ovos, os quais podem estar contaminados, uma vez que uma das formas de transmissão é a transovariana. Os sinais clínicos apresentados pelas aves doentes são: sonolência, fraqueza, perda de apetite, retardo no crescimento, amontoamento, diarreia branca a branco-amarelada e morte. Em algumas situações também se observa, cegueira e claudicação (BERCHIERI JÚNIOR, 2000).

O tifo aviário, por sua vez, é uma enfermidade de caráter septicêmico, cujo curso pode ser agudo ou crônico, aparecendo geralmente em plantéis de aves adultas (POMEROY & NAGARAJA, 1991). As aves adultas infectadas pelo tifo aviário apresentam queda no consumo de ração, sonolência, apatia, penas arrepiadas, cabeça pálida, cristas encolhidas e diarreia amarelo-esverdeada a esverdeada. Poderá também ocorrer queda de postura (BERCHIERI JÚNIOR, 2000). A distribuição é mundial, infectando principalmente aves jovens, com até duas semanas de idade (NAGARAJA *et al.*, 1991). As aves mais velhas normalmente tornam-se portadoras assintomáticas e as aves adultas parecem ser mais resistentes à doença (BERCHIERI JÚNIOR & BARROW, 1995).

O paratifo aviário é uma doença aguda ou crônica, causada por qualquer *Salmonella* que não a *S. Pullorum* e a *S. Gallinarum* (BERCHIERI JÚNIOR, 2000). A transmissão das salmonelas paratíficas pode ocorrer de forma vertical (via ovo) e/ou horizontal (via oral). A transmissão horizontal pode ocorrer através da ingestão de água e/ou de ração contaminada, bem como pela ingestão de material fecal (NASCIMENTO *et al.*, 1996).

Segundo Barrow & Lovell (1991), a transmissão vertical, via ovo, da *Salmonella* Enteritidis pode ocorrer devido à colonização nos folículos ovários e oviduto ou por contaminação fecal seguida de penetração através da casca.

Os sinais clínicos apresentados por aves infectadas pelas salmonelas paratíficas dependem da idade das mesmas. As aves adultas não os apresentam de forma clara, sendo raro que ocorram surtos agudos em condições naturais, nestes quadros observa-se: inapetência, aumento no consumo de água, diarreia e desidratação. Nas aves jovens, fatores ambientais, grau de exposição e a presença de infecções intercorrentes têm uma participação importante na severidade de um surto, onde observa-se: sonolência, cabeça baixa, olhos fechados, asas caídas, penas arrepiadas, anorexia, aumento no consumo de água, diarreia aquosa profusa com empastamento de cloaca e tendência das aves a se aglomerarem junto à fonte de calor. Em surtos superagudos com mortes ocorrendo no incubatório ou nos primeiros dias de idade, as aves podem não apresentar sinais clínicos (NAGARAJA *et al.*, 1991).

A presença de *Salmonella* sp. no intestino, na pele e entre as penas das aves pode causar contaminação das carcaças durante o abate e o processamento. A bactéria, que foi introduzida pelas aves no frigorífico, contamina as dependências e equipamentos, comprometendo a qualidade do produto final para o consumo humano (HUMPHREY *et al.*, 1988).

A introdução de *Salmonella* sp. pode ser minimizada pelo uso de um programa de biossegurança. A água de beber das aves deve ser potável ou clorada. Carreadores mecânicos de organismos incluindo sapatos e roupas de pessoas que manejam as aves podem estar envolvidos na transmissão. Toda ação deve ser feita para controlar a introdução de salmonelas por fômites. Ainda, a completa eliminação de aves infectadas do plantel deve ser realizada (GAST, 2003).

Devido aos prejuízos causados por *Salmonella* sp., em todo o mundo, passou-se a implementar medidas de controle na avicultura, sendo que dentre estas medidas deve-se ressaltar os seguintes pontos: aves de reposição livres de *Salmonella* sp., controle de vetores, higiene e desinfecção adequada das instalações, utilização de rações sem contaminação por *Salmonella* sp., medidas de biossegurança nas propriedades e monitoramento microbiológico ambiental e das aves. Normalmente, as carcaças contaminadas com *Salmonella* sp. apresentam pequenos números de bactérias (< 100 UFC/carcaças de ave), a menos que haja uma elevação de temperatura de resfriamento, ocorrendo, como consequência, uma intensa multiplicação (MEAD, 1989; INGRAM & SIMOSEN, 1990).

A presença deste gênero, ainda que detectada por uma única unidade formadora de colônia, em alimento é totalmente inadmissível (SILVA, 1997). Os alimentos mais comumente envolvidos são: a carne moída, a lingüiça e a carne de aves (PELCZAR et al., 1996).

Em relação as Salmonellas, sabe-se que são microrganismos Gram negativos, aeróbicos, em forma de bastonetes, apresentando pleomorfismo. Todas são positivas à prova de catalase e negativas à oxidase. São móveis por flagelos peritríquios, porém algumas são imóveis, com ou sem cápsula e fermentadoras de açúcar. Encontram-se no intestino de animais e do homem, são eliminadas pelas fezes que contaminam a água e solo (OLIVEIRA, 2000).

O Gênero *Salmonella* é membro da família enterobacteriaceae, são bastonetes Gram negativos, medindo 0,7-1,5  $\mu\text{m}$  x 2-5  $\mu\text{m}$ , usualmente móveis por flagelos peritríquios, com exceção dos sorotipos Gallinarum e Pullorum. Aeróbicas ou anaeróbicas facultativas, formam colônias de 2 a 4mm de diâmetro. Reduzem nitratos em nitritos. Geralmente produzem gás em meio com glicose e não fermentam a lactose. A temperatura para crescimento está entre 5

e 46°C (ótima entre 35 e 37°C) e pH para crescimento entre 6,0 e 7,0 (HOLT et al., 1994; SIQUEIRA, 1995; OLIVEIRA, 2000; CAMPOS, 2002).

Para o isolamento de *Salmonella* sp., no enriquecimento não-seletivo utiliza-se, geralmente, água peptonada a 1% ou caldo BHI (infusão de cérebro e coração), a uma temperatura de incubação de 37 ou 42°C. No enriquecimento seletivo, os caldos Rappaport-Vassiliadis, Selenito-cistina e Tetracionato são recomendados e utilizados a temperatura de 42°C (SIQUEIRA, 1995; OLIVEIRA, 2000).

O diagnóstico das infecções por enterobactérias é normalmente realizado pelo isolamento e identificação da bactéria responsável pela infecção, e como não são exigentes podem ser cultivadas em meios de uso geral (OLIVEIRA, 2000; TRABULSI & CAMPOS, 2002). Todas as enterobactérias crescem sobre ágar sangue (AS) e ágar MacConkey (MC) e estes são usados rotineiramente para isolá-las nos laboratórios de diagnóstico. O ágar eosina-azul-de-metileno (EMB) também pode ser usado no lugar do ágar MacConkey, pois permite uma diferenciação preliminar entre enterobactérias e outras bactérias Gram negativas (FARMER III, 1995). O meio sólido Verde Brilhante (VB), Rambach e XLD (xilose-lisina-desoxicolato) são usados por serem mais seletivos que o ágar MacConkey (QUINN et al., 1994; BACK, 2002).

No bioquimismo presuntivo, as amostras positivas apresentarão as seguintes características: Urease-negativa, TSI-alcálico (bisel) com produção de gás positiva ou negativa, LIA-alcálico na base e H<sub>2</sub>S positivo ou negativo e no meio SIM o H<sub>2</sub>S, o indol e a motilidade são positivos. As colônias isoladas que apresentam essas características seguem para diferenciação bioquímica definitiva e, se confirmado o perfil esperado, é determinada a continuidade pela caracterização antigênica. A identificação final do sorotipo normalmente ocorre em laboratórios credenciados ou de referência (OIE, 2006).

Em meio TSI (ferro tríplice açúcar) a produção de ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>S) é positiva, provocando coloração negra no fundo do tubo, não produzem indol, porém o citrato é normalmente utilizado como fonte de carbono. A descarboxilação da lisina e da ornitina são reações quase sempre positivas. A urease, fenilalanina e triptofano são negativas. Não produzem lipase e desoxirribonuclease (JAWETZ et al., 1991; HOLT et al., 1994; OLIVEIRA, 2000; CAMPOS, 2002).

O antígeno somático é parte da parede da célula, composto de lipopolissacarídeo, que contém endotoxinas que produzem febre no hospedeiro, quando a toxina atinge a corrente sanguínea. Os flagelos, que são compostos por material protéico, prolongam-se além da parede da célula bacteriana, sendo responsáveis pela motilidade da mesma e possuindo antígenos que são úteis na identificação final do agente (DOYLE & CLIVER, 1990).

Nas investigações da *Salmonella*, em que se utilizam características fenotípicas, através de esquemas, tem-se uma classificação do sorovar e do fagotipo. A identificação dos sorovares de *Salmonella* sp. é determinada principalmente pela caracterização sorológica das amostras, com soros anti-*Salmonella* somáticos (O), flagelares (H) e capsulares (K ou Vi). Este esquema permite o reconhecimento dos sorovares com base nas propriedades antigênicas das fases um e dois das proteínas flagelares (antígenos H1 e H2), e pelos antígenos de superfície (parede celular lipopolissacarídica, antígeno O) (LI et al., 1994).

Grande número de testes sorológicos tem sido desenvolvido para o diagnóstico de infecção por *Salmonella* sp. em animais. Recentemente, outros testes como o ELISA, são utilizados na rotina de diagnóstico de *Salmonella* (GAST, 2003; OIE, 2006). Há uma tendência crescente para o uso no trabalho diário de métodos de detecção e contagem de microrganismos, mais rápidos e econômicos do que os clássicos. Este fato tem determinado o aparecimento de novos procedimentos, entre os quais se destacam as técnicas imunológicas,



conforme refere-se Benitez (2000), sobre o TECRA<sup>®</sup>UNIQUE<sup>™</sup> *Salmonella* que possui alta sensibilidade e especificidade na detecção de *Salmonella* sp.

A manutenção da flora desejável tem sido há algum tempo obtida com o uso de promotores de crescimento, os quais deprimem os microrganismos considerados indesejáveis e proporcionam um meio favorável para aqueles considerados desejáveis. O aparecimento de microrganismos resistentes pelo uso de antibióticos promotores de crescimentos (APCs) tem se tornado freqüentes e determinando medidas severas por parte das Autoridades Governamentais da Comunidade Européia e de outros países (BOLDUAN, 1999).

Setores da saúde pública do Brasil têm se manifestado contra os antibióticos e a sua proibição em rações é eminente, seguindo a tendência mundial e obedecendo às normas internacionais para o banimento completo como promotores de crescimento. Apesar dos benefícios comprovados sobre o desempenho e saúde animal, o uso de APCs na alimentação animal é um assunto de grande polêmica em todo o mundo (MILTENBURG, 2000). As principais preocupações relacionadas à sua utilização na produção animal incluem a perda de sua eficiência ao longo do tempo e o desenvolvimento de resistência bacteriana em humanos (ROPPA, 2006).

Roppa (2004) afirma que o meio de atuação dos probióticos no organismo se refere principalmente à inibição que estes exercem na colonização do intestino por bactérias patogênicas. Os mecanismos através dos quais os probióticos reduzem as bactérias ou bactérias patogênicas seriam: produção de substâncias bactericidas, competição por nutrientes, alteração do metabolismo microbiano, estimulação do sistema imunológico, competição por sítios de ligação e exclusão competitiva.

Os produtos de exclusão competitiva (EC), ou também chamados de probióticos, são compostos por microrganismos vivos que, fornecidos às aves, beneficiam o hospedeiro mediante estímulo das propriedades existentes na microbiota natural. Há dois aspectos

positivos no uso desses produtos na avicultura, ou seja, a determinação de melhores índices zoeconômicos e a redução da colonização intestinal por alguns patógenos, entre os quais a *Salmonella* sp. (JUNIOR & OLIVEIRA, 2006).

Os autores ainda afirmam que a via de administração desses produtos determina uma melhor ou pior capacidade de colonização intestinal pelas bactérias presentes, sendo descritos vários métodos de tratamento, embora a campo, a adição à água de beber, ração e pulverização sobre as aves sejam os mais utilizados. A indicação de uso dos probióticos ou EC às aves, é que ocorra o mais precocemente possível, a fim de que as bactérias presentes no produto colonizem e se multipliquem no trato intestinal, iniciando suas atividades benéficas no hospedeiro antes desse ser contaminado por algum patógeno.

O termo exclusão competitiva é usado para descrever a capacidade de uma microbiota impedir a colonização intestinal de outras bactérias. A administração de probióticos, compostos por microrganismos da microbiota intestinal de aves normais, pode determinar alguma proteção às aves receptoras contra a colonização por alguns patógenos, particularmente *Salmonella* sp. São descritos vários métodos de administração da microbiota intestinal, ou seja, por meio de pulverização sobre as aves, inoculação em ovos embrionados, inoculação via cloaca, reutilização de cama, inoculação via endoesofágica e adição à ração ou à água de bebida. O inóculo pode ser obtido a partir de fezes ou de conteúdo cecal recém-colhidos (ZINPRIN, 1993; JUNIOR & OLIVEIRA, 2006).

Existem alternativas para auxiliar na modulação da função imunológica dos animais, uma delas é a utilização de ácidos orgânicos, empregados na produção animal. São ácidos graxos voláteis de cadeia curta, ou seja, ácidos fracos com menores proporções de carboxilas dissociadas, em comparação aos ácidos fortes (ROPPA, 2006).

Os ácidos orgânicos, propiônico e o fórmico, quando misturados reduzem o pH e passam a ter uma ação antibacteriana, particularmente contra bactérias Gram negativas. O

modo de ação dos ácidos orgânicos, amplamente utilizados principalmente no controle de *Salmonella* sp., embora exercendo também controle sobre outras bactérias, é atribuído à redução direta do pH intracelular por ionização dos ácidos não dissociados (BARBOSA & TORRES, 1999).

A ação inibidora dos ácidos orgânicos na forma não dissociada é de 100 a 600 vezes maior do que a forma dissociada, e podem permear a membrana celular por difusão e liberar prótons no citoplasma celular (EKLUND, 1983). O influxo de prótons induz a acidificação do citoplasma e dissipa o potencial de prótons da membrana, e inibindo a geração de energia (DIEZ-GONZALES & RUSSEL, 1997).

Os ácidos orgânicos de diferentes classes (fórmico, láctico, propiônico, acético, cítrico, butírico, e outros) têm sido amplamente utilizados na avicultura, tornando-se uma alternativa aos antibióticos promotores do crescimento (APC) quando provocam um efeito bacteriostático ou bactericida. Um estudo demonstrou que os ácidos orgânicos oriundos da fermentação de *Lactobacillus* sp. promovem um efeito bacteriostático contra *Salmonella* Enteritidis ao fornecer um microambiente para a colonização das bactérias ácida tolerantes como o *Lactobacillus*, *Propionibacterium* e *Butyrivibrio* para a manutenção da acidez do trato intestinal, além disso, protege os ácidos no trato gastrintérico, evitando a sua metabolização (FERREIRA & ASTOLFI-FERREIRA, 2006).

A ação dos ácidos reduz o pH e conseqüentemente a flora patogênica, evitando a destruição das vilosidades intestinais, mantendo a espessura da parede do intestino e da membrana da mucosa normal, aumentando a absorção integral dos nutrientes (VETANCO, 2005).

Os ácidos orgânicos são completamente metabolizados pela ave no trato gastrointestinal (TGI), e o controle efetivo dos patógenos contribui para a modulação da resposta imunológica e conseqüente melhora do desempenho avícola. O uso de acidificadores

com base de ácidos orgânicos em alimentos balanceados para aves, pode dar rendimentos comparados com os antibióticos promotores de crescimento (ADAMS, 2000).

O conceito moderno de probiótico foi definido por Fuller (1989) como sendo microorganismos (MO) vivos que, suplementados constantemente na dieta, afetam benéficamente o organismo animal, atuando no equilíbrio da microbiota intestinal. Os prebióticos, segundo GIBSON & ROBERFROID (1995), são considerados ingredientes não digestíveis que estimulam o crescimento e/ou a atividade de um limitado número de microorganismos capazes de proporcionar um ambiente intestinal saudável ao hospedeiro. São constituídos de complexos de glicomanoproteínas, em particular de mananligossacarídeos (MOS), capazes de ligarem-se à fímbria das bactérias e inibir a colonização no TGI. Podem também serem utilizados como nutrientes pelas bactérias. Alguns autores atribuem aumentos na retenção de alguns minerais e a mineralização óssea à suplementação com prebióticos (BRADLEY & SAVAGE, 1994; ONIFADE *et al.*; 1999).

A utilização dos prebióticos do tipo MOS para estabilizar a flora intestinal, reduz o aparecimento de neoplasias por melhorar a atividade imunológica das aves e também com resultados para o ganho de peso e conversão alimentar (FLEMMING & FREITAS, 2005). Obtém-se um hidrolizado de leveduras através de tratamentos químicos e enzimáticos e a célula deste microorganismo sofre um processo de lise e hidrólise enzimática ocorrendo uma grande produção de oligossacarídeos de manose e glicose (PÉREZ *et al.*, 2001).

O hidrolizado de *Saccharomyces cerevisiae* está constituído fundamentalmente por oligossacarídeos de mananos e glicanos, peptídios de baixo peso molecular, vitaminas do complexo B, aminoácidos, bases nitrogenadas, nucleosídeos e nucleotídeos. A parede celular destas leveduras pode ser constituída aproximadamente de 90% polissacarídeos, 5-10% de proteínas e 1% de lipídeos. Quando a célula de levedura é submetida a um processo de lise e hidrólise enzimática, é liberado oligossacarídeo de mananos e glicanos, que são importantes

componentes de ação biológica, tais como prebióticos e imunomodulador para animais e humanos (DE LOACH et al., 1992; 1995; SANCHES, 1997).

Santos et al. (2006) relatam que, diversos aditivos têm sido utilizados como alternativas aos antibióticos promotores de crescimento em dietas de aves, entre eles o MOS fosforilado, proporcionando condições favoráveis ao desenvolvimento de microrganismos benéficos do trato gastrointestinal, resultando em melhor digestão e maior absorção de nutrientes.

A ligação das bactérias patogênicas no intestino das aves é frequentemente mediada pela ligação de lecitinas bacterianas aos receptores contendo D-manose e desta forma os mananoligossacarídeos podem ser utilizados para diminuir a colonização por bactérias indesejáveis (ESH DAT et al., 1978).

O sistema de defesa intestinal é significativamente melhorado e aprimorado com o uso de mananoligossacarídeos fosforilados. A inclusão destes compostos nas dietas animais promove uma alteração na população microbiana intestinal. Isto ocorre pela capacidade do MOS se aderir às proteínas contendo manose, encontradas na superfície de bactérias que contêm fímbrias do tipo 1, como *Salmonella* sp. e *Escherichia coli*. Desta forma, os microrganismos patogênicos não se aderem aos carboidratos presentes na superfície das células intestinais, sendo eliminados pelas fezes e, portanto, não causando lesões (ROPPA, 2006). O autor ainda afirma que, o controle da aderência da bactéria ao intestino do hospedeiro implica em uma diminuição ou total inibição do processo infeccioso. Vários mecanismos para este controle já foram descritos na literatura e envolvem o bloqueio dos receptores presentes na mucosa do intestino, o bloqueio da adesão da fímbria bacteriana, a eliminação dos receptores existentes na mucosa do intestino e a inibição da produção da adesina. As fímbrias do tipo 1 se ligam especificamente à manose através da lecitina presente em suas extremidades, sendo que esta ligação também já foi observada em células de

levedura. Esta ligação é denominada adsorção e pode ser visualizada ao microscópio óptico, pois resulta em uma aglutinação das células de levedura.

## CAPÍTULO 2

### CONTROLE DA INFEÇÃO POR *SALMONELLA* ENTERITIDIS EM FRANGOS DE CORTE COM ÁCIDOS ORGÂNICOS E MANANOLIGOSSACARÍDEO

### CONTROL OF THE INFECTION CAUSED BY *SALMONELLA* ENTERITIDIS WITH ORGANIC ACIDS AND MANNANOLIGOSACCHARIDE IN BROILER

Joana Darc Lopes Bassan<sup>1</sup> Maristela Lovato Flôres<sup>2</sup> Taiane Antoniazzi<sup>2</sup> Eloisa  
Bianchi<sup>2</sup> Javier Kuttel<sup>3</sup>

#### RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar a ação de dois ácidos orgânicos (ácido fórmico e ácido propiônico) e de um mananoligossacarídeo (MOS) adicionados à dieta no controle da infecção intestinal por *Salmonella* Enteritidis (SE) em frangos de

---

<sup>1</sup> Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária – Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, RS, Brasil. Francisco Crossetti, 355/ Aptº 202, 97050-210, Santa Maria, RS Brasil. E-mail: [joanabassan@yahoo.com.br](mailto:joanabassan@yahoo.com.br). Autor para correspondência.

<sup>2</sup> Departamento de Medicina Veterinária Preventiva (DMVP), Laboratório Central de Diagnóstico de Patologias Aviárias, UFSM, Santa Maria, RS, Brasil.

<sup>3</sup> Empresa Vetanco do Brasil, Chapecó, SC, Brasil.

corde. Neste estudo de 39 dias foram utilizadas 150 aves, de um dia de idade, da linhagem Cobb, lote misto, livre de SE, divididos em seis tratamentos (T) com 25 animais cada, onde: T1 (dieta e ausência de infecção), T2 (dieta + ácidos orgânicos e ausência de infecção), T3 (dieta + ácidos orgânicos + MOS e ausência de infecção), T4 (dieta + ácidos orgânicos e infecção com SE), T5 (dieta + ácidos orgânicos + MOS e infecção com SE) e T6 (dieta e infecção com SE). No 4º dia após o alojamento, a cama foi instilada, com SE e, a cada sete dias, cinco aves por grupo foram submetidas à eutanásia por deslocamento cervical, necropsiadas e realizados os exames bacteriológicos para SE, utilizando-se fezes coletadas sobre a cama de maravalha dos grupos, e das tonsilas cecais dos animais necropsiados. No 18º dia, somente 60% das aves estavam infectadas nos tratamentos T4 e T5; no 25º dia, 40% das aves no T4 e 20% no T5 estavam infectadas; no 32º dia 100% das amostras testadas foram negativos em ambos os tratamentos (T4 e T5). Constatou-se que o T6 foi 100% positivo até o 32º dia, e no 39º dia reduziu em 20% o número de animais infectados. Dentro dos parâmetros de avaliação deste experimento, os ácidos orgânicos e o mananoligossacarídeo adicionados à dieta, possivelmente contribuíram no controle da infecção por SE nas aves testadas.

**Palavras-chave:** *Salmonella* Enteritidis, frango de corte, ácidos orgânicos, mananoligossacarídeo, dieta, bacteriologia.

## ABSTRACT

The objective of this study work was to evaluate the effect of two organic acids (formic acid and propionic acid) and of one mannanoligosaccharide added to the diet to control the intestinal infection caused by *Salmonella* Enteritidis in broilers. In these 39 days of study it was used 150 birds, 1-day-old, of the Cobb lineage, both sexes and free of *Salmonella* Enteritidis. They were divided in 6 different treatments (T) with 25 birds each, where: T1 (diet and no infection), T2 (diet + organic acids + no infection), T3 (diet + organic acids +



mannanoligosaccharide and no infection), T4 (diet + organic acids and infection with *Salmonella* Enteritidis) T5 (diet + organic acids + mannanoligosaccharide + and infection with *Salmonella* Enteritidis) T6 (diet and infection with *Salmonella* Enteritidis). After housing, the chicken litter was instilled on the 4<sup>th</sup> day with *Salmonella* Enteritidis and every seven days, five birds from each group were killed through cervical dislocation. The necropsy was performed and also the bacteriological exams to detect *Salmonella* Enteritidis using the feces collected over the chicken litter of the groups bacteriological analysis of the cecal tonsils was done as well. On the 18<sup>th</sup> day only 60% of birds were infected in treatments T4 and T5; on the 25<sup>th</sup> day, 40% of birds in T4 and 20% in the T5 were infected; on the 32<sup>nd</sup> day, 100% of tested samples were negative in both treatments. The T6 group was 100% positive until the 32<sup>nd</sup> day, but on the 39<sup>th</sup> day, it got reduced in 20% of the number of infected animals. In the experimental conditions of this study, the organic acids and the mannanoligosaccharide added to the diet possibly contributed to control the infection caused by *Salmonella* Enteritidis on tested birds.

**Key words:** *Salmonella* Enteritidis, broiler, organic acids, mannanoligosaccharide, diet, bacteriology.

## INTRODUÇÃO

A *Salmonella* Enteritidis é um patógeno entérico de origem alimentar mais freqüentemente relatado na literatura nas ocorrências de gastroenterite em seres humanos. A importância deste microrganismo é em decorrência de sua prevalência significativa com distribuição mundial nos lotes de frango de corte e suas implicações na saúde pública (GAST, 2003).

Nas aves, as salmonelas podem ser classificadas em quatro grupos de acordo com suas manifestações clínicas, facilitando com este agrupamento o entendimento epidemiológico e com isso, o auxílio na escolha da melhor estratégia de controle. A *Salmonella* Enteritidis enquadra-se no grupo III, juntamente com a *S. Typhimurium*, sendo estes sorotipos os líderes

de causas de toxinfecções alimentares no homem, podendo ocasionalmente ser consideradas patogênicas para aves, principalmente jovens (BACK et al; 2006).

Apesar de toda a monitoria industrial com o propósito da segurança alimentar, ainda assim, essas infecções têm sido freqüentes, constituindo-se as aves em uma significativa fonte de contaminação de salmonelas para o homem. O fato de o Brasil ser o maior exportador de carne de aves e pela grande exigência dos países importadores, se reforça a necessidade de maior controle (BACK et al; 2006).

Para auxiliar na prevenção e minimizar as infecções por bactérias patogênicas, são adicionados ácidos orgânicos (AO) à dieta, pois estes alteram o pH, passando a ter uma ação antibacteriana, particularmente contra bactérias Gram negativas (OSTERMAN, 2005). Os ácidos orgânicos se usados corretamente junto com medidas nutricionais, de manejo e biossegurança, podem ser uma ferramenta poderosa para manter a saúde do trato intestinal das aves, melhorando o rendimento zootécnico sem risco de resíduos, como os dos antibióticos, na carne e ovos (PARTANEN & MROZ, 1999).

Roppa (2006) relata que, o MOS atua por bloqueio dos sítios de adesão de bactérias resultando em uma melhora na imunidade, por permitir que os patógenos sejam apresentados às células imunes como antígenos atenuados, sendo uma substituição a utilização do MOS fosforilado aos antibióticos, o que tem sido recomendado em muitos países, principalmente por empresas exportadoras de carne de frangos. Desta forma, a tendência internacional de substituição de antibióticos promotores de crescimento por aditivos naturais parece irreversível na produção avícola.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a ação de dois ácidos orgânicos (ácido fórmico e ácido propiônico) e de um mananoligossacarídeo (MOS) adicionados à dieta no controle da infecção intestinal por *Salmonella* Enteritidis (SE) em frangos de corte.

## MATERIAL E MÉTODOS

As aves foram alojadas por 39 dias, no isolamento do Laboratório Central de Diagnóstico de Patologias Aviárias (LCDPA) da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) e as análises laboratoriais foram realizadas no LCDPA. Utilizou-se 150 aves de corte de um dia de idade, da linhagem Cobb, misto, com peso médio inicial de 43 gramas, livres de *Salmonella* sp., adquiridas do Laboratório de Avicultura (LAVIC) da UFSM, com tratamentos alocados em seis grupos (T1 a T6) com 25 unidades cada (Figura1), alojados em box 1,5 m<sup>2</sup> X 1,5 m<sup>2</sup> sobre cama de maravalha esterilizada e à temperatura climatizada próxima de 30°C e, após os 15 dias, mantida entre 18 a 24°C.

<b>T1</b>	Dieta	Ausência de Ácido	Ausência de infecção
<b>T2</b>	Dieta	Ácido propiônico + fórmico	Ausência de infecção
<b>T3</b>	Dieta	Ácido propiônico + fórmico + MOS	Ausência de infecção
<b>T4</b>	Dieta	Ácido propiônico + fórmico	<i>Salmonella</i> Enteritidis
<b>T5</b>	Dieta	Ácido propiônico + fórmico + MOS	<i>Salmonella</i> Enteritidis
<b>T6</b>	Dieta	Ausência de Ácido	<i>Salmonella</i> Enteritidis

**Figura 1** – Tratamentos realizados com a adição de dois ácidos orgânicos e ummananoligossacarídeo (MOS) na dieta para controlar a infecção por *Salmonella* Enteritidis em frangos de corte.

Foi cultivada uma amostra de SE, cedida pelo Laboratório de Enterobactérias do Instituto Oswaldo Cruz, cultivada em meio de água peptonada (AP) a 37°C, em seguida transferida para o meio de ágar nutriente (AN). Após 24h a 37°C apresentaram uma população de 3.800 colônias e provável concentração de  $3 \times 10^8$  UFC/mL, padronizada comparando com a escala 3 de Mac Farland.

As aves foram alojadas com um dia de idade, monitoradas para *Salmonella* sp, através da avaliação bacteriológica do pool das fezes dos tratamentos. A dieta e a água também foram analisadas para *Salmonella* sp. No quarto dia, *Salmonella* Enteritidis foi instilada e misturada na cama de maravalha, de forma que todas as porções contivessem a bactéria. A partir do 11º

dia, a cada sete dias, num período de 39 dias, cinco aves de cada tratamento foram submetidas a eutanásia por deslocamento cervical, necropsiadas e realizados exames bacteriológicos. Foram coletadas para os exames amostras de fezes depositadas sobre a cama de maravalha de todos os tratamentos, e também, das tonsilas cecais de cada ave.

Cada amostra analisada continha 1 grama, macerada em cadinho estéril e distribuída em 9 mL de caldo de pré-enriquecimento não seletivo (peptona bacteriológica), incubada por 24h à 42°C. Em seguida foi transferido 1 mL para um tubo contendo 9 mL de Tetratonato e 1 mL para um tubo de 9 mL de Rappaport-Vassiliadis incubados por 24 h à 42°C. Depois de realizado o cultivo em placas de ágar verde brilhante (VB) e ágar XLT<sub>4</sub> e incubados por 24 h na estufa a 37°C, as colônias suspeitas de SE foram submetidas à prova sorológica com antisoro somático polivalente e provas bioquímicas: Ágar tríplice de açúcar e ferro (TSI), Ágar lisina-ferro (LIA), meio SIM (*Sulphide Indol Motility*), Caldo uréia e Citrato de Simmons (QUINN et al.,1994; SIQUEIRA, 1995; OLIVEIRA, 2000).

A dieta formulada com milho e farelo de soja (Tabela 1), não continha nenhuma droga com finalidade bactericida ou fungicida, para evitar interferências no experimento. A quantidade de ácidos e MOS adicionados na ração foi de 4Kg/Ton. Nos tratamentos T1 e T6 as aves foram alimentadas com a dieta e ausência de ácidos. Adicionou-se na dieta o ácido propiônico + ácido fórmico para o T2 e T4, e o ácido propiônico + ácido fórmico + MOS foram adicionados na dieta dos T3 e T5.

**Tabela 1** - Composição da dieta, formulada com 30 Kg para cada grupo, utilizada no experimento para as aves.

INGREDIENTES	PESO (Kg)
Milho	18,02
Farelo de soja	10,04

Óleo Vegetal	0,79
Fosfato Bicálcico	0,51
Calcário	0,37
Sal	0,09
Premix (vitaminas + minerais)	0,15
TOTAL	29,97

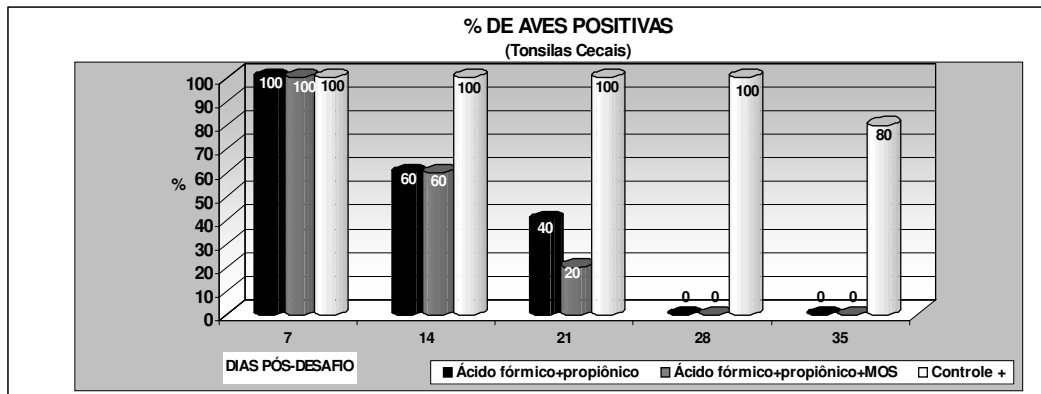
O projeto foi registrado e aprovado pelo comitê de Ética e Bem-Estar Animal da UFSM sob o número 23081.000053/2006-77.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da análise bacteriológica para SE nas fezes e tonsilas cecais estão apresentados na Tabela 2 e na Figura 2.

**Tabela 2** - Resultados da análise para *Salmonella* Enteritidis em fezes e tonsilas cecais de frangos de corte com e sem adição de ácidos orgânicos e MOS na ração.

TRATAMENTOS		DIA 11		DIA 18		DIA 25		DIA 32		DIA 39	
		% INF		% INF		% INF		% INF		% INF	
		+	-	+	-	+	-	+	-	+	-
Tonsilas grupo 1	S/SE	000	100	000	100	000	100	000	100	000	100
Tonsilas grupo 2	S/SE + AO	000	100	000	100	000	100	000	100	000	100
Tonsilas grupo 3	S/SE + AO + MOS	000	100	000	100	000	100	000	100	000	100
Tonsilas grupo 4	SE + AO	100	000	060	040	040	060	000	100	000	100
Tonsilas grupo 5	SE + AO + MOS	100	000	060	040	020	080	000	100	000	100
Tonsilas grupo 6	SE	100	000	100	000	100	000	100	000	080	020
Fezes dos grupos		000	100	20	80	20	80	20	80	000	100



**Figura 2** - Resultados percentuais de aves positivas para *Salmonella* Enteritidis em tonsilas cecais de frangos de corte com e sem ácidos orgânicos e MOS na dieta, durante o período experimental de 35 dias.

As análises confirmaram que as aves, a dieta e a água eram negativas para *Salmonella* sp. no início do experimento. No 11º dia 100% das aves analisadas dos tratamentos T4 e T5 apresentaram resultados positivos para *Salmonella* Enteritidis. No 18º dia, somente 60% das aves estavam infectadas nos tratamentos T4 e T5. Conforme Lambert & Stratford (1999), os ácidos orgânicos não dissociados, penetram na parede celular da bactéria, na célula bacteriana, são dissociados liberando o cátion (+) e o ânion (-). A forma catiônica reduz o pH interno e as bactérias consomem energia para manter o equilíbrio e morrem, exercendo função bactericida. O ânion do ácido se difunde livremente através da parede celular em sua forma não dissociada, e a acumulação deste torna-se tóxica para a bactéria mediante mecanismos complexos que implicam desbalanceamento aniônico conduzindo a problemas osmóticos internos, interferindo na síntese de proteína. Os ácidos orgânicos na sua forma não dissociada não poderão penetrar na parede celular da bactéria. Concordando com Silva et al. (2005), onde os autores concluíram com sua pesquisa que os tratamentos com ácidos orgânicos na concentração de 3,0% mostraram-se eficazes na inibição do crescimento da *Salmonella* sp. em rações avícolas, em todas as repetições tanto após 24, 48 h e 7 dias de contato do produto com a ração contaminada. E discordando dos autores Albuquerque et al. (1998) que em uma

pesquisa concluíram que os ácidos orgânicos apresentaram efeito irregular em termos de atividade bactericida em dietas artificialmente contaminadas por *Salmonella* sp.

No 25º dia, observou-se infecção somente em 40% das aves no T4 (onde os ácidos foram adicionados), e em 20% no T5 (onde o MOS foi adicionado), indicando um provável efeito protetor dos componentes adicionados nesses dois tratamentos. Quando o MOS é absorvido nas células M localizadas no interior das placas de Peyer estimula a imunidade sistêmica e associada ao intestino, atuando como antígeno não patogênico e exercendo um efeito semelhante o um adjuvante. Além disso, os mananoligossacarídeos fosforilados derivados da parede celular da levedura *Saccharomyces cerevisiae* cepa 1026 (MOS fosforilado) inibem a colonização de patógenos através do bloqueio das fímbrias do tipo 1, que permitem que esses patógenos ataquem a superfície epitelial do intestino (ROPPA, 2006). Segundo Junior & Oliveira (2006), *Salmonella* Enteritidis possui fímbrias tipos 1 e/ou 3, sendo em razão destas, a capacidade das bactérias patogênicas em lesar as células do hospedeiro, sendo bloqueadas pelo MOS.

No 32º dia, 100% das amostras testadas foram negativas em ambos os tratamentos (T4 e T5), justificando a importância da utilização dos ácidos para controlar a infecção por SE, e ressaltando ainda que o T6 que obteve a adição do MOS na ração, o número das aves infectadas foi ainda menor no 25º dia do que no T4 (sem o MOS). Hooge (2006) relata que a adição de altos níveis de MOS fosforilado (0,40%) na dieta de frangos jovens desafiados com *Salmonella* reduzem as contagens de bactérias no ceco. Loddi et al. (2006) relatam em um experimento que o MOS possui características específicas que permitem reduzir a colonização de patógenos no organismo. Os mananoligossacarídeos da parede celular de leveduras podem atuar bloqueando os sítios de ligação de bactérias patogênicas na mucosa intestinal, diminuindo assim os danos à mucosa resultando em uma melhor utilização dos ingredientes da dieta (SPRING et al., 2000).

Constatou-se que o T6 foi 100% positivo até o 32º dia, e no 39º dia reduziu em 20%. Os resultados encontrados são semelhantes, OSTERMAN (2005) firma que a mistura de ácidos orgânicos está entre aqueles que têm apresentado melhor consistência de resposta à infecções. O tratamento 6 demonstrou a persistência da infecção e serviu de comparação com os outros tratamentos (T4 e T5) com adição de ácidos orgânicos chegando à ausência da recuperação da *Salmonella* Enteritidis nos dias 32 e 39 nas aves dos tratamentos T4 e T5.

Os ácidos e o MOS utilizados estavam associados a um transportador mineral, com a função de garantir para que a dissociação destes ocorresse no ceco. Segundo Lambert & Stratford (1999), a única forma de evitar que os ácidos orgânicos se dissociem no intestino da ave é protegendo-os dentro de uma matriz que tenha a capacidade de passar na porção anterior do aparelho digestivo sem desnaturalizar. Sem proteção contra o ambiente do trato gastrointestinal, os ácidos orgânicos se dissociam antes de chegar aos segmentos do intestino onde se encontra a bactéria que deverá ser atacada.

Nos tratamentos T2 (com os dois ácidos) e T3 (com os dois ácidos e o MOS), não houve qualquer sinal clínico que indicasse reação ao uso dos produtos, demonstrando sua inocuidade nas condições de avaliação clínica deste experimento.

As aves dos tratamentos T4 e T5 não apresentaram sinais clínicos, e na necropsia não foram observadas lesões macroscópicas; no T6 dois animais apresentaram sinais clínicos. Na ração dos tratamentos T3 e T5 foi utilizado um produto que continha o mananoligossacarídeo, além do ácido fórmico e do propiônico. Para Martin (1994) os prebióticos do tipo MOS são os de uso freqüente na indústria de rações, podendo ser utilizados como nutrientes pelas bactérias eutróficas, e alguns autores atribuem a eles aumentos na retenção de minerais e uma melhor mineralização dos ossos quando suplementados a dietas de aves.

À medida que as bactérias probióticas e MOS são administrados, a condição de eubiose se torna permanente, impossibilitando o estabelecimento de *Escherichia coli*,



*Clostridium* sp. e *Salmonella* sp. aumentando o número de bactérias benéficas produtoras de ácidos orgânicos como láctico acético e butírico (ITO et al; 2004), o que se verificou a partir do 25º dia no tratamento T5 da tabela 1.

As aves do tratamento T6, entre o 31º e 35º dias, apresentaram polidipsia, arrepiamento de penas, prostração e asas caídas, concordando com os achados de Junior & Oliveira (2006). Os mesmos autores citam ainda que a presença de sinais clínicos é comum em aves jovens e ocasional em adultas. Morreram duas aves, com 31 e 35 dias respectivamente, na necropsia apresentaram lesões macroscópicas de espleno e hepatomegalia com petéquias, fígado friável, coração esbranquiçado e flácido e intestino hemorrágico. Exames bacteriológicos das aves dos tratamentos 4 e 5 foram positivos para SE, estas porém não apresentaram sinais clínicos. Junior & Oliveira (2006), relatam que os sorovares pertencentes ao grupo paratífóide colonizam o trato intestinal sem determinar qualquer sintomatologia, uma vez que não são específicos de aves, mas com adaptação suficiente para persistir no intestino destas, possibilitando a eventual contaminação das carcaças e ovos.

## CONCLUSÕES

Dentro dos parâmetros de avaliação deste experimento: a) Os ácidos orgânicos (fórmico e o propiônico) e o mananoligosacarídeo foram inócuos, ou seja, não causaram dano ao organismo das aves, considerando que não provocaram sinais clínicos nos grupos T2 e T3; b) Os resultados indicam que os dois ácidos orgânicos e o MOS possivelmente contribuíram no controle da infecção por *Salmonella* Enteritidis, pois nos grupos em que os mesmos foram adicionados à dieta (T4 e T5) o número de aves infectadas reduziu a partir do 18º dia, em relação ao 11º dia de experimento; c) A percentagem de aves infectadas no 18º dia foi menor no T5 (com ácidos orgânicos e MOS) que no T4.

## REFERÊNCIAS

- ALBUQUERQUE, R.; ITO, N. M.; MIYAJI, C. I. Tratamento de rações de aves com ácidos orgânicos: estudo da atividade bactericida e avaliação de técnicas de recuperação de *Salmonella* spp. **Braz. J. vet. Res. Animal. Science.**, v.35, n.6, p.279-282, 1998.
- ANDREATTI FILHO, R. L. Alimentos funcionais na produção avícola. **Saúde aviária e doenças**. Cap.6, p. 41-51. São Paulo: Rocca, 2006.
- BACK, A.; BELTRÃO, N. et al. Monitoria e Controle de Salmonela: aspectos práticos. In: VII Simpósio Brasil Sul de Avicultura, 2006, Chapecó(SC). **Anais...**Chapecó: Núcleo Oeste de Médicos Veterinários, 2006. p.95-103.
- BAIRD-PARKER, A.C. Foodborne salmonellosis. **Lancet**, v.336, p.1231-1235, 1990.
- GAST, R. K. Salmonella Infections. In: SAIF, Y. M. et al. **Diseases of Poultry**, 11ed. Iowa State University Press. Cap.16, p.567-599., 2003.
- HINTON, M.; LINTON, A.H.; PERRY, F.G. Control of salmonella by acid disinfection of chicks food. **Veterinary Record**, v.116, n.16, p.502, 1985.
- HOOGE, D. M. Meta-análise de experimentos com frangos de corte mantidos em boxes experimentais avaliando os efeitos do mananoligossacarídeo fosforilado. In: Promotores naturais de crescimento. **Especial Ave World**. A Revista do Avicultor Moderno, ago/set 2006. São Paulo: Animal World, Edição especial, p 9-10.
- ITO, N.M.K. et al. Saúde gastrointestinal, manejo e medidas para controlar as enfermidades gastrointestinais. In: Produção de frangos de corte, 2004, Campinas. **Anais...** Campinas:FACTA, p.206-260., 2004.
- JUNIOR, A.B. & OLIVEIRA, G.H. Salmoneloses aviárias. In: ANDREATTI FILHO, R. L. **Saúde aviária e doenças**. Cap.9, p. 96-111. São Paulo: Rocca, 2006.
- LAMBERT, R.J.; STRATFORD, M. Weak acid preservatives: modeling microbial inhibition and response. **Journal of Applied Microbiology**, 1999, Vol. 86, 157-164.
- LODDI, M.M; MORAES, V.B.M.; NAKAGHI, L.S.O.; TUCCI, F.M.; BRUNO, L.D.G.; MACARI, M. Efeito de mananoligossacarídeo fosforilado e ácidos orgânicos sobre o desempenho e morfologia intestinal de frangos de corte. In: Promotores naturais de crescimento. **Especial Ave World**. A Revista do Avicultor Moderno, ago/set 2006. São Paulo: Animal World, Edição especial, p.10-12.
- MARTIN, S.C. Potential for manipulating the gastrointestinal microflora: A review of recent progress. In: Biotechnology in the feed industry of annual symposium, 10., 1994, London. **Proceedings...** London: Nottingham University Press, 1994. P. 155-166.
- OLIVEIRA, S. J. **Guia Bacteriológico Prático: Microbiologia Veterinária**. Editora: Da Ulbra: Canoas, RS, 2000, 144p.

OLIVEIRA, W.F.; CARDOSO, W.M.; SALLES, R.P.R.; ROMÃO, J.M.; TEIXEIRA, R.S.C.; CÂMARA, S.R.; SIQUEIRA, A.A.; MARQUES, L.C.L. Initial identification and sensitivity to antimicrobial agents of *Salmonella* sp. isolated from poultry products in state of Ceará, Brazil. **Poultry Science**, v.8, n.3, p.193-199, 2006.

OSTERMANN, et al. Metabolismo e bases conceituais para a ação benéfica de ácidos orgânicos para frangos de corte. In: **Ave World: A Revista do Agricultor Moderno**. São Paulo: Animal World, ano 3, n. 15, abr/maio, p. 28 – 31, 2005.

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

PETRI, R. Produção de frangos alternativos com exclusão competitiva. **Anais...**2002.

QUINN, P. J. et al. **Clinical Veterinary Microbiology**. London: Mosby, 1994, 648p.

ROPPA, F. Promotores naturais de crescimento. **Especial Ave World**. A Revista do Avicultor Moderno, ago/set 2006. São Paulo: Animal World, Edição especial, 16 p.

SANTOS, D. M. S.; BERCHIERI JUNIOR, A.; FERNANDES, S. A.; TAVECHIO, A. T.; AMARAL, L. A. *Salmonella* em carcaças de frangos congeladas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v.20, p. 39-42. 2000.

SILVA, J.A. Microrganismos patogênicos em carne de frangos. **Higiene Alimentar**, v. 12, n.58, p.9-14, 1998.

SILVA, L.C.C.; ROMANI, F.; LOURENÇO, M. C.; FERREIRA, A.C. K.; DALLAGNOL, H.; SANTIN, E. Avaliação de um ácido orgânico como agente inibidor do crescimento de *Salmonella* sp em rações de aves. **Brazilian Journal Of Poultry Science**. Prêmio Lamas 2005. Suplemento 7, p. 219.

SIQUEIRA, R. S. **Manual de Microbiologia de Alimentos**. Brasília: Embrapa, 1995, 159p.

SNOEYENBOS, G.H., WILLIAMS, J.E. Salmonellosis. In: B.W. CALNEK, ed., **Diseases of Poultry**. 9 ed. Iowa: Iowa State University Press, Ames. 1991, p. 72-73.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMS, C. Avicultura y ácidos em la dieta. **Alimentos Balanceados para Animales**. Vol 7 (2): 14-16 p. 2000.
- BACK, A. **Manual de Doenças de Aves**. Cascavel: 2002, 246p.
- BARBOSA, H.R.; TORRES, B.B. **Microbiologia Básica**. Rio de Janeiro: Atheneu, 1999, 169p.
- BARROW, P.A., LOVELL, M.A., Experimental infection of egg-laying hens with *Salmonella enteritidis* phage 4. **Avian Pathology**, Abingdon, v. 20, p. 335-348, 1991.
- BENITEZ, L. B. Monitoramento de Pontos Críticos de Controle (PCCs) no Abate de Frangos através de Indicadores Microbiológicos. **Dissertação de Mestrado**. Santa Maria: UFSM. 104p. 2000.
- BERCHIERI JUNIOR, A., BARROW, P.A. Patologia e métodos de diagnósticos de SE em aves. In: CONFERÊNCIA APINCO 1995 DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 1995, Curitiba. **Anais**. Curitiba, Brasil: Fundação APINCO de Ciência . 1995. p. 1-5.
- BERCHIERI JÚNIOR, A. Salmoneloses Aviárias. In: A. BERCHIERI JÚNIOR & M. MACARI. **Doença das Aves**. 1<sup>a</sup>. ed. Campinas: FACTA, 2000. p. 185-194.
- BOLDUAN, G. Feeding weaner pigs without feed antibiotics. In: \_\_\_\_\_. **Biotechnology in the feed industry**. Nottingham: Nottingham University Press, 1999. p. 223-230.
- BRADLEY, G.T.; SAVAGE, T.F. Enhanced utilization of dietary calcium, phosphorus, nitrogen and metabolizable energy in poult feed diet containing a yeast culture. **Poultry Science** 1994; 73: 124 (Abstract).
- CAMPOS, L. C. *Salmonella*. In.: TRABULSI, L. R. et al. **Microbiologia**. 3ed. São Paulo: Atheneu, 2002, p. 229-234.
- CARLTON, W.; MC. GAVIN, M.D. **Patologia Especial de Thompson**. 2 ed. Porto Alegre: ArtMed, 1998, 672p.
- CROOM, J.; EDENS, F.W.; FERKET, P. The impact of nutrient digestion and absorption on poultry performances and health. In: **ANNUAL CAROLINA Poultry Nutrition Conference and Soybean Meal Symposium**, 27., 2000, Triangle Park, **Proceedings**. 2000, Nov. 15-16.
- DE LOACH, J.; OYOFU, B.; CORRIER, D.; KUBENA, L.; ZIPRIN, R. y NORMAN, J. Reduction of *Salmonella typhimurium* in Broilers Chickens by Milk or Whey. **Avian Diseases**. V.34, p.389-392, 1992.
- DIEZ-GONZALES, F.; RUSSEL, J.B. The ability of *Escherichia coli* O157:H7 to decrease its intracellular pH and resist the toxicity of acetic acid. **Microbiology**. v.143. p.1175-1180, 1997.

DOYLE, M.P., CLIVER, D.O. *Salmonella*. In: D.O. CLIVER, ed., **Foodborne Diseases**. London: Academic Press, 1990, p. 185-204.

EKLUND, T. the antimicrobial effect of dissociated and undissociated sorbic acid at different pH levels. **Journal of Applied Bacteriology**. v.54. p.383-389, 1983.

ESHDAT, Y.; OFEK, L.; SHARON, N. Isolation of manose specific lecitin from *Escherichia coli* and is role in the adherence of bacteria in the epithelial cells. **Biochemical and biophysical research communications**, New York, v.85, p.1551-1559, 1978.

FARMER III, J. J. Enterobacteriaceae: Introduction and Identification. In.: MURRAY, P. R. et al. **Manual of Clinical Microbiology**. 6 ed. Washington: ASM Press, 1995, p. 438-449.

FERREIRA, A.P.; ASTOLFI-FERREIRA, C.S. Medidas Inespecíficas para o Controle Bacteriano. In: VII Simpósio Brasil Sul de Avicultura, 2006, Chapecó(SC). **Anais...Chapecó: Núcleo Oeste de Médicos Veterinários**. p.56-69. 2006.

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

FULLER, R. Probiotics in man and animals. **Journal of Applied Bacteriology** 1989; 66:365-378.

GAST, R. K. *Salmonella Infections*. In: SAIF, Y. M. et al. **Diseases of Poultry**, 11° ed. Iowa State University Press, 2003, cap.16, p.567-599.

GIBSON, GR, ROBERFROID, MB. Dietary modulation of the human colonic microbiota: Introducing the concept of prebiotics. **Journal of Nutrition** 1995; 125: 1401-1412.

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

HOLT, J. G. et al. **Bergey's Manual of determinative Bacteriology**. 9 ed. Baltimore: Williams & Wilkins, p. 787, 1994.

HUMPHREY, T.J., MEAD, G.C., ROWE, B. Poultry meat as a source of human salmonellosis in England and Wales. **Epidemiology and Infection**, Cambridge, v. 100, p. 175-184, 1988.

INGRAN, M.; SIMONSEN, B. Poultry and poultry meat products. In: **International Commission on Microbiological Specifications for Foods**. Microbial ecology of foods: Food commodities. New York: Academic Press, 1990. v.2. p.410-458.

JAWETZ, E. et al. **Microbiologia Médica**. 18ed Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, 1991, 519 p.

JIN, L.Z.; HO, Y.W.; ABDULLAH, N. et al.. Growth performance, intestinal microbial populations, and serum cholesterol of broilers fed diets containing *Lactobacillus* cultures. **Poultry Science**, 77: 1259-1265. 1997.

JUNIOR, A.B. & OLIVEIRA, G.H. Salmoneloses aviárias. In: ANDREATTI FILHO, R. L. **Saúde aviária e doenças**. Cap.9, p. 96-111. São Paulo: Rocca, 2006.

LI, J., NELSON, K., McWHORTER, A.C., WHITTAM, T.S. Recombinational basis of serovar diversity in *Salmonella enterica*. **Proceedings of the National Academy of Science USA**, Washington, v.91, p. 2552-2556, 1994.

LISTER, S.A. *Salmonella* Enteritidis infection in broilers and broiler breeders. **Veterinary Records** 123, 350-351, 1998.

MEAD, G. C.; BARROW, P. A.; HINTON, M. H.; HUMBERT, F.; IMPEY, C. S.; LAHELLEC, C.; MULDER, R. W. W.; STAVRIC, S.; STERN, N. J. Recommended assay for treatment of chicks to prevent *Salmonella* colonization by competitive exclusion. **Journal of Food Protection** 52, (7) 500-502, 1989.

MILTEMBURG, G. Promotores e aditivos de crescimento em avicultura. In: Conferência Apinco de Ciência e Tecnologia Avícolas, 2000. **Anais...** campinas: FACTA, 2000. p. 204-215.

NASCIMENTO, V.P., RIBEIRO, A.R., SANTOS, L.R., ROCHA, A.C.G.P., SCHUCH, D.M.T., SILVA, A.B., SALLE, C.T.P., CARDOSO, M.O., ROCHA, S., VIEIRA, J.S., PONTES, A.P., OLIVEIRA, S.D., GUAHYBA, A.S. Salmoneloses paratíficas em avicultura: uma revisão e situação atual. In: CONGRESSO PANAMERICANO DE CIÊNCIAS VETERINÁRIAS, 15., 1996, Campo Grande. **Anais**. Campo Grande, Brasil: Associação Panamericana de Ciências Veterinárias. p.15, 1996.

NAGARAJA, K.V., POMERY, B.S., WILLIAMS, J.E. Paratyphoid Infections. In: B.W. CALNEK, ed., **Diseases of Poultry**. 9 ed. Iowa: Iowa State University Press, Ames, 1991, p. 99-130.

OIE. **Salmonellosis**. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals, Chapter 2.10.3, 5th edition, 2004. Disponível em:  
<[http://www.oie.int/esp/normes/mmanual/A\\_00129.htm](http://www.oie.int/esp/normes/mmanual/A_00129.htm)> Acesso em: 23 dezembro 2006.

OLIVEIRA, S. J. **Guia Bacteriológico Prático: Microbiologia Veterinária**. Editora: Da Ulbra: Canoas, RS, 2000, 144p.

OLIVEIRA, W.F.; CARDOSO, W.M.; SALLES, R.P.R.; ROMÃO, J.M.; TEIXEIRA, R.S.C.; CÂMARA, S.R.; SIQUEIRA, A.A.; MARQUES, L.C.L. Initial identification and sensitivity to antimicrobial agents of *Salmonella* sp. Isolated from poultry products in state of Ceará, Brazil. **Poultry Science**, v.8, n.3, p.193-199, 2006.

ONIFADE, A.A.; OBIYAN, R.I.; ONIPEDE, E.; ADEJUMO, D.O.; ABU, O.A.; BABATUNDE, G.D. Assessment of the effect of supplementing rabbit diet with a culture of *saccharomyces cerevisiae* using growth performance, blood composition and clinical enzyme activities. **Animal Feed Science and Technology**, n.77:25-32, 1999.

- OSTERMANN, et al. Metabolismo e bases conceituais para a ação benéfica de ácidos orgânicos para frangos de corte. In: **Ave World: A Revista do Agricultor Moderno**. São Paulo: Animal World, ano 3, n. 15, abr/maio, p. 28 – 31, 2005.
- PELCZAR Jr., M.; CHAN, E.C.S.; KRIEG, N.R. **Microbiologia, conceitos e aplicações: Doenças transmitidas por água e alimentos**. 2ed. São Paulo: Makron Books, 1996. v.2, p.222-236.
- PÉREZ, M.; SÁNCHEZ, L.; PIAD, R.; BOCOURT, D.; MILIÁN, G.; ALFONSO, G.; ORMAZA, M. J.; TAMBARA, J. Caracterización físico química de un hirolizado enzimático de *Saccharomyces cerevisiae* y su comparación con diferentes tipos de hidrolizados. **Revista Salud Animal**. Vol.23, No.3, p.153-159. 2001.
- PETRI, R. Produção de frangos alternativos com exclusão competitiva. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS. **Anais**. Curitiba, Brasil: Fundação APINCO de Ciência, p. 132-136, 2002.
- PIVNICK, H.; BLANCHFIELD, B.; RIGBY, C. et al. Comparison of fresh feces with lyophilized and frozen cultures of feces as inocula to prevent Salmonella infection in chicks. **Journal Food Protect.**, v.45, p.1188-1194, 1982.
- POPPE, C. Epidemiology of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis. In: SAEED, A.M. **Salmonella enterica serovar Enteritidis in humans and animals – epidemiology, pathogenesis and control**. 1 ed. Ames: Iowa State University Press, 1999, p. 33-41.
- POPOFF, M.Y., BOCKEMUHL, J., GHEESLING, L.L., Supplement 2001 (n<sup>o</sup> 45) to the Kauffamann – White scheme. **Research in Microbiology**, Paris, v. 154, p. 173-174. 2003.
- POMEROY, B.S., NAGARAJA, K.V. Fowl Typhoid. In: B.W. CALNEK, ed., **Diseases of Poultry**. 9 ed. Iowa: Iowa State University Press, Ames. 1991. p.87-99.
- 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.
- QUINN, P. J. et al. **Clinical Veterinary Microbiology**. London: Mosby, 1994, 648p.
- RODRIGUES, D.P. Ecologia e prevalência de *Salmonella* spp. em aves e material avícola no Brasil. In: Conferência Apinco de Ciência e Tecnologia Avícolas. Santos (SP). **Anais...**Santos: Mendes Convention center, p.223-228, 2005.
- ROPPA, F. Exclusão Competitiva. **Especial Ave World**. A Revista do Avicultor Moderno, out/nov 2004. São Paulo: Animal World, Edição especial, 11 p.
- ROPPA, F. Promotores naturais de crescimento. **Especial Ave World**. A Revista do Avicultor Moderno, ago/set 2006. São Paulo: Animal World, Edição especial, 16 p.

SANTOS, E.C.; TEIXEIRA, A.S.; BERTECHINI, A.G.; FREITAS, R.T.F.; ROGRIGUES, P.B.; DIAS, E.S.; TORRES, D.M.; SANTOS, A.V.; GIACOMETI, R.A. Uso de aditivos beneficiadores de crescimento sobre o desempenho, rendimento de carcaça, bactérias totais, pH intestinal e pH de rações de frangos de corte. In: Promotores naturais de crescimento. **Especial Ave World**. A Revista do Avicultor Moderno, ago/set 2006. São Paulo: Animal World, Edição especial, p.8-9.

SANCHES, L. **Obtención, caracterización y producción a escala piloto de un polisacárido (b-1-3-glucano) con actividad inmunomoduladora**. Tese apresentada en opción al Grado Científico de Doctor en Ciencias Veterinarias.CENSA. La Habana. p.103. 1997.

SILVA, E.N. Mitos e realidade no controle de Salmonella enteritidis em matrizes. In: **Conferência APINCO de Ciência e Tecnologia Avícolas**. Campinas, São Paulo. Brasil. p. 97-108, 1997.

SILVA, E.N. Medidas Gerais de Controle de Salmonelas em Frangos. In: Conferência Apinco de Ciência e Tecnologia Avícolas, 2005, Santos(SP). **Anais...**Santos: Mendes Convention center, 2005. p.229-237.

SIQUEIRA, R. S. **Manual de Microbiologia de Alimentos**. Brasília: Embrapa, 1995, 159p.

SNOEYENBOS, G.H. Pullorum Disease. In: B.W. CALNEK, ed., **Diseases of Poultry**. 9 ed. Iowa: Iowa State University Press, Ames. 1991, p.73-86.

SNOEYENBOS, G.H., WILLIAMS, J.E. Salmonellosis. In: B.W. CALNEK, ed., **Diseases of Poultry**. 9 ed. Iowa: Iowa State University Press, Ames. 1991, p. 72-73.

TRABULSI, L. R.; CAMPOS. L.C. Generalidades sobre enterobactérias. In.: TRABULSI, L. R. et al. **Microbiologia**. 3º ed. São Paulo: Atheneu, 2002, p. 207-213.

VARNAN, A. H. & EVANS, M. G. **Foodborne Pathogens an illustrated text**. Wolfe Publishing Ltda, Aylesbury, England, cap. 4, p. 51-85, 1991.

VETANCO, B. **Salkil**. Chapecó(SC), 2005. 8p. (Boletim Técnico,n.8)

ZINPRIN, R.L. Control of established Salmonella thyphimurium intestinal colonization with in vivo-passaged anaerobes. **Avian Diseases**, v.37, p.183-188, 1993.