

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS  
ESCOLA DE VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

**ÁCIDOS ORGÂNICOS NO CONTROLE DE *Salmonella Enteritidis*  
EM FRANGOS DE CORTE DESAFIADOS EXPERIMENTALMENTE  
COM *Salmonella Enteritidis* E *Eimeria tenella***

Gracinda Mariana Calaça

Orientador: Prof. Dr. Marcos Barcellos Café

GOIÂNIA

2009



**Termo de Ciência e de Autorização para Disponibilizar as Teses e Dissertações Eletrônicas (TEDE) na Biblioteca Digital da UFG**

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás-UFG a disponibilizar gratuitamente através da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações - BDTD/UFM, sem resarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei nº 9610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou download, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

**1. Identificação do material bibliográfico:** [ ] Dissertação [ ] Tese

**2. Identificação da Tese ou Dissertação**

Autor(a):	Gracinda Mariana Calaca		
CPF:	E-mail:	gmcveterinaria@hotmail.com	
Seu e-mail pode ser disponibilizado na página? [x] Sim [ ] Não			
Vínculo Empregatício do autor	Nenhum		
Agência de fomento:	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico		Sigla: CNPq
País:	Brasil	UF:	GO
CPF:	CNPJ:		
Título:	Ácidos orgânicos no controle de <i>Salmonella Enteritidis</i> em frangos de corte desafiadados experimentalmente com <i>Salmonella Enteritidis</i> e <i>Eimeria tenella</i>		
Palavras-chave:	Acidificantes, aves, coccidiose, contaminação		
Título em outra língua:	Organic acids in <i>Salmonella Enteritidis</i> 's control in chickens of cut challenged experimentally with <i>Salmonella Enteritidis</i> and <i>Eimeria tenella</i>		
Palavras-chave em outra língua:	acidifying, birds, coccidiosis, contamination		
Área de concentração:	Sanidade Animal		
Data defesa: (dd/mm/aa)	27/03/2009		
Programa de Pós-Graduação:	Ciência Animal		
Orientador(a):	Prof. Dr. Marcos Barcellos Café		
CPF:	E-mail:	mcafe@vet.ufg.br	
Co-orientador(a):	Profª. Dra. Maria Auxiliadora Andrade		
CPF:	E-mail:	maa@vet.ufg.br	
Co-orientador(a):	Profª. Dra. Nadja Susana Mogyca Leandro		E-mail:
CPF:	E-mail:	mogyca@vet.ufg.br	

**3. Informações de acesso ao documento:**

Liberado para disponibilização?<sup>1</sup> [x] total [ ] parcial

Em caso de disponibilização parcial, assinale as permissões:

[ ] Capítulos. Especifique: \_\_\_\_\_

[ ] Outras restrições: \_\_\_\_\_ Gostaria que não fosse divulgado os anexos.

Havendo concordância com a disponibilização eletrônica, torna-se imprescindível o envio do(s) arquivo(s) em formato digital PDF ou DOC da tese ou dissertação.

O Sistema da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações garante aos autores, que os arquivos contendo eletronicamente as teses e ou dissertações, antes de sua disponibilização, receberão procedimentos de segurança, criptografia (para não permitir cópia e extração de conteúdo, permitindo apenas impressão fraca) usando o padrão do Acrobat.

Gracinda Mariana Calaca

Data: 22/10/2009

Assinatura do(a) autor(a)

<sup>1</sup> Em caso de restrição, esta poderá ser mantida por até um ano a partir da data de defesa. A extensão deste prazo suscita justificativa junto à coordenação do curso. Todo resumo e metadados ficarão sempre disponibilizados.

GRACINDA MARIANA CALAÇA

**ÁCIDOS ORGÂNICOS NO CONTROLE DE *Salmonella Enteritidis*  
EM FRANGOS DE CORTE DESAFIADOS EXPERIMENTALMENTE  
COM *Salmonella Enteritidis* E *Eimeria tenella***

Dissertação apresentada ao Programa  
de Pós-Graduação em Ciência Animal  
para obtenção do grau de Mestre em  
Ciência Animal junto à Escola de  
Veterinária da Universidade Federal de  
Goiás

**Área de Concentração:**

Sanidade Animal

**Orientador:**

Prof. Dr. Marcos Barcellos Café

**Comitê de Orientação:**

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria Auxiliadora Andrade (UFG)

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Nadja Susana Mogyca Leandro (UFG)

GOIÂNIA

2009

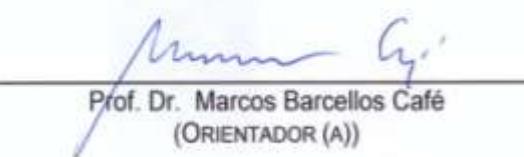
Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)  
(GPT/BC/UFG)

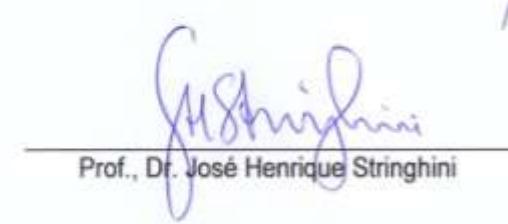
	Calaça, Gracinda Mariana.
C141a	Ácidos orgânicos no controle de <i>Salmonella Enteritidis</i> em frangos de corte desafiados experimentalmente com <i>Salmonella Enteritidis</i> e <i>Eimeria tenella</i> [manuscrito] / Gracinda Mariana Calaça. - 2009. xiii, 55f.: tabs, quads.
	Orientador: Prof. Dr. Marcos Barcellos Café; Co-Orientadoras: Prof ª Drª Maria Auxiliadora Andrade, Nadja Susana Mogyca Leandro.
	Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Goiás, Escola de Veterinária, 2009.
	Bibliografia. Inclui lista de tabelas.
	1. Frango de corte - <i>Salmonella Enteritidis</i> 2. <i>Salmonella Enteritidis</i> – Contaminação 3. Ácidos orgânicos – Ração - Avaliação 4. Coccidiose I. Título.
	CDU: 636.5.033:579.842

GRACINDA MARIANA CALAÇA

Dissertação defendida e aprovada em 27/03/2009, pela Banca  
Examinadora constituída pelos professores:

  
Prof. Dr. Marcos Barcellos Café  
(ORIENTADOR (A))

  
Prof. Dr. Douglas Emygdio de Faria – FZEA/USP

  
Prof., Dr. José Henrique Stringhini

Aos meus queridos pais e ao meu marido, por todo amor, dedicação, companheirismo e constante incentivo, com gratidão e amor, **dedico**.

A todos que dedicam sua vida em  
prol da “Ciência” e ao estudo da  
“máquina” chamada ave, **ofereço**.

## AGRADECIMENTOS

Considerando esta dissertação como resultado de uma caminhada que não começou na UFG, agradecer pode não ser tarefa fácil, nem justa. Para não correr o risco da injustiça, agradeço de antemão a todos que de alguma forma passaram pela minha vida e contribuíram para a construção de quem sou hoje.

Acima de tudo, agradeço a Deus, por ter me dado a vida, com saúde, inteligência e disposição.

Aos meus amados pais, Boriz e Edivalda, por todo seu apoio incondicional durante este e todos os desafios da minha vida, por terem proporcionado oportunidade de viver bem e estudar para garantir um futuro brilhante. Meus dois maiores exemplos de honestidade, humildade e luta. Sou grata pela compreensão em tantos momentos de ausência e confiança em mim depositada. A meu pai, agradeço imensamente pelo apoio técnico e braçal, sem o qual minhas dificuldades seriam ainda maiores na execução da pesquisa.

À minha irmã Amélia, meu afilhado Fábio e meu cunhado Fabiano, pelo apoio e companheirismo familiar sempre presente.

Ao meu Olízio Claudino, uma pessoa mais que especial, pelo carinho, paciência, incentivo e quase co-orientação.

Ao professor Dr. Marcos Barcellos Café pela amizade, serenidade, paciente orientação, pelo compartilhar de seu conhecimento e, sobretudo, pelo respeito pessoal e profissional que teve comigo, permitindo em harmonia o desenvolvimento deste trabalho.

À professora Dr. Maria Auxiliadora Andrade, pela paciência, compreensão, dedicação e co-orientação. Agradeço de coração e eternamente as contribuições que em muito enriqueceram este trabalho, e a ajuda física incondicional concedida durante as etapas do desenvolvimento da pesquisa.

À professora Dra. Nadja Susana Mogyca Leandro pela co-orientação e pelo auxílio concedido às questões estatísticas do trabalho. Foi um privilégio aprender com tão grande cientista.

Às minhas amigas de laboratório, as médicas veterinárias Eliete Souza, Dunya Mara e Tatiane Martins, e à nutricionista Maria Luiza por terem me ajudado, por tudo que aprendemos juntas e pelo companheirismo em momentos de muito trabalho. Agradeço também aos estagiários e bolsistas, Aline, Ana

Carolinne, André, Angélica, Hugo, Ítalo, Januária, Joelma, Juliana, Mariana, Plínio e ao médico veterinário Paulo Ricardo, colega de curso, pela boa vontade e disposição em ajudar a qualquer momento, parceiros e amigos sem os quais seria quase impossível a realização do experimento.

Ao programa de Pós-graduação em Ciência Animal da Escola de Veterinária da UFG, e aos professores que o compõe pela disponibilização do conhecimento.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq, pela concessão da bolsa de estudos.

À Vetanco do Brasil e seus representantes, especialmente ao Dr. Javier Kuttel por gentilmente ter financiado a pesquisa, contribuído tecnicamente e ainda pela doação do UNIWALL, utilizado neste estudo.

Em especial à minha amiga do peito Cíntia Maria Fernandes, pela nossa amizade e grandes sugestões para o desenvolvimento do projeto de pesquisa, além de estabelecer contato com a empresa financiadora e ainda não medir esforços pela aprovação do financiamento.

Ao professor Dr. José Guimarães (UEL) pela gentil doação do inóculo de *Eimeria tenella* utilizado neste estudo.

Aos funcionários do PPGCA, Gerson e Tiago, pelo bom atendimento e facilitadores das questões burocráticas.

Aos funcionários do departamento de Medicina Veterinária Preventiva da Escola de Veterinária da UFG, Cícera, Joãozinho, Maria Auxiliadora Leão e Tânia, pela ajuda e convivência agradável durante o experimento.

A todos os colegas do curso de pós-graduação, fazendo uma referência especial a Alessandra, Flávia, Ivonete, Maria Ivete e Rosângela, pelos agradáveis e descontraídos momentos que passamos durante o curso.

Aos funcionários do Setor de Produção Animal, Sr. Antônio e Sr. Enedino pela boa vontade em ajudar na pesada tarefa de fabricação de rações.

Às aves, que cederam suas vidas em prol dos cuidados com a vida de outras.

E a todos que direta ou indiretamente também contribuíram para a concretização deste sonho, todo o meu respeito e agradecimento.

“O comum é comumíssimo e o raro é raríssimo”

Prof. José Maria Lamas da Silva

## SUMÁRIO

LISTA DE QUADROS.....	ix
LISTA DE TABELAS.....	x
RESUMO.....	xii
ABSTRACT.....	xiii
1. INTRODUÇÃO .....	1
2. REVISÃO DA LITERATURA .....	5
2.1. Saúde intestinal de frangos de corte.....	5
2.2. Salmonelose aviária.....	7
2.3. Coccidiose aviária .....	9
2.4. Salmonelose x Coccidiose .....	12
2.5. Ácidos orgânicos no controle das salmoneloses aviárias.....	13
3. MATERIAL E MÉTODOS .....	18
3.1. Local.....	18
3.2. Animais experimentais .....	18
3.3. Tratamentos e delineamento experimental .....	18
3.4. Instalações e material experimental .....	19
3.5. Programa alimentar.....	20
3.6. Obtenção e preparação dos inóculos.....	21
3.7. Dados obtidos .....	22
3.7.1. Variáveis de desempenho.....	22
3.7.2. Procedimentos laboratoriais.....	23
3.8. Análise estatística .....	25
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	26
4.1. Desempenho das aves.....	26
4.2. Biometria de baço .....	36
4.3. pH do intestino delgado e ceco .....	38
4.4. Contagem de oocistos e escores de lesão .....	40
4.5. Pesquisa de <i>Salmonella</i> .....	42
5. CONCLUSÕES .....	46
REFERÊNCIAS.....	47

**LISTA DE QUADROS**

Quadro 1 - Tratamentos utilizados no experimento.....	19
Quadro 2 - Composição básica e níveis de garantia do aditivo alimentar adicionado às rações.....	20

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Composição percentual da ração fornecida aos pintos de corte de um a 14 dias de vida e de 15 dias de vida ao final da fase experimental.....	21
Tabela 2 – Peso inicial (PI), peso médio (PM), ganho de peso (GP), consumo de ração (CR), conversão alimentar (CA) e viabilidade (VB) durante o período de um a sete dias de idade de frangos de corte inoculados com <i>Salmonella Enteritidis</i> via oral e tratados com ração contendo ácidos orgânicos.....	26
Tabela 3 – Desdobramento da interação agente inoculado e utilização de ácidos orgânicos para a variável peso médio (PM) aos sete dias de idade em frangos de corte inoculados com <i>Salmonella Enteritidis</i> via oral e tratados com ração contendo ácidos orgânicos.....	28
Tabela 4 – Peso médio (PM), ganho de peso (GP), consumo de ração (CR), conversão alimentar (CA) e viabilidade (VB) durante o período de um a 14 dias de idade de frangos inoculados com <i>Salmonella Enteritidis</i> via oral e tratados com ração contendo ácidos orgânicos.....	29
Tabela 5 – Peso médio (PM), ganho de peso (GP), consumo de ração (CR), conversão alimentar (CA) e viabilidade (VB) durante o período de um a 21 dias de idade de frangos de corte inoculados com <i>Salmonella Enteritidis</i> e <i>Eimeria tenella</i> via oral e tratados com ração contendo ácidos orgânicos.....	31
Tabela 6 – Peso médio (PM), ganho de peso (GP), consumo de ração (CR), conversão alimentar (CA) e viabilidade (VB) durante o período de um a 28 dias de idade de frangos inoculados com <i>Salmonella Enteritidis</i> e <i>Eimeria tenella</i> via oral e tratados com ração contendo ácidos orgânicos.....	33
Tabela 7 – Desdobramento da interação agente inoculado e utilização de ácidos orgânicos para a variável consumo de ração (CR) aos 28 dias de idade em frangos de corte inoculados com <i>Salmonella Enteritidis</i> e <i>Eimeria tenella</i> via oral e recebendo ração com ácidos orgânicos.....	34
Tabela 8 – Peso médio (PM), ganho de peso (GP), consumo de ração (CR), conversão alimentar (CA) e viabilidade (VB) durante o período de	

um a 35 dias de idade de frangos inoculados com <i>Salmonella</i> Enteritidis e <i>Eimeria tenella</i> via oral e tratados com ração contendo ácidos orgânicos.....	35
Tabela 9 - Peso relativo do baço aos 14, 21,28 e 35 dias de idade em frangos de corte inoculados com <i>Salmonella</i> Enteritidis e <i>Eimeria tenella</i> via oral e tratados com ração contendo ácidos orgânicos.....	37
Tabela 10 – Valores de pH do intestino delgado e ceco aos 14,21,28 e 35 dias de idade em frangos de corte desafiados via oral com <i>Salmonella</i> Enteritidis e <i>Eimeria tenella</i> e tratados com ração contendo ácidos orgânicos.....	39
Tabela 11 – Contagem de oocistos de <i>Eimeria tenella</i> por grama de conteúdo cecal aos 21 e 28 dias de idade (expressa em Log) em frangos de corte desafiados com <i>Salmonella</i> Enteritidis e <i>Eimeria tenella</i> via oral e tratados com ração contendo ácidos orgânicos.....	40
Tabela 12 – Contagem de oocistos por grama de excretas após 5 a 11 dias da inoculação de <i>Eimeria tenella</i> (expressa em Log) em frangos de corte desafiados com <i>Salmonella</i> Enteritidis e <i>Eimeria tenella</i> via oral e tratados com ração contendo ácidos orgânicos.....	41
Tabela 13 – Escore de lesões por coccidiose no ceco de frangos de corte aos 21 dias de idade desafiados com <i>Salmonella</i> Enteritidis e <i>Eimeria tenella</i> via oral e tratados com ração contendo ácidos orgânicos.....	42
Tabela 14 – Presença (%) de <i>Salmonella</i> Enteritidis em frangos de corte com 14, 21, 28 e 35 dias de idade desafiados com <i>Salmonella</i> Enteritidis e <i>Eimeria tenella</i> via oral e tratados com ração contendo ácidos orgânicos .....	43

## RESUMO

Foi conduzido um experimento utilizando-se 504 pintainhas de um dia, de linhagem comercial Hubbard para corte, com o objetivo de avaliar o efeito de uma mistura de ácidos orgânicos adicionada à ração, no controle da *Salmonella* em aves experimentalmente desafiadas com *S. Enteritidis* e *S. Enteritidis* associada à *Eimeria tenella*. As aves foram distribuídas seguindo-se um delineamento inteiramente ao acaso em esquema fatorial 3x2, com a adição ou não de ácido orgânico na ração e a presença de desafio com *S. Enteritidis* e *E. tenella*, *S. Enteritidis* isolada ou sem nenhum desafio, totalizando seis tratamentos com seis repetições cada um, utilizando-se 14 aves por unidade experimental. Os dados estatísticos foram analisados empregando-se o programa SAS sendo adotado para comparação entre as médias, o teste de Tukey (variáveis quantitativas) e Kruskal-Wallis (variáveis qualitativas) para  $p<0,05$ . As aves que receberam ração contendo ácidos orgânicos apresentaram melhorias no desempenho zootécnico aos sete, 21 e 28 dias. As aves inoculadas apenas com *S. Enteritidis* e as aves inoculadas com *S. Enteritidis* e *E. tenella* apresentaram piores índices de desempenho zootécnico ( $p<0,05$ ) aos 21, 28 e 35 dias de vida. O peso do baço e o pH do intestino delgado e dos cecos não foram influenciados ( $p>0,05$ ) pela adição de ácidos orgânicos na ração. Todos os tratamentos desafiados com *S. Enteritidis* e que receberam ácidos apresentaram menor freqüência de isolamento da bactéria nos órgãos analisados. Foi também observada redução no número de oocistos de *E. tenella* nas excretas e no conteúdo cecal nos tratamentos que receberam ácidos orgânicos, bem como redução dos escores de lesão intestinal provocadas pela infecção por *E. tenella*. Os ácidos orgânicos promoveram melhorias no desempenho zootécnico dos frangos de corte, beneficiando a saúde intestinal com reflexos positivos no controle da *Salmonella Enteritidis* juntamente com a *Eimeria tenella*.

**Palavras-chave:** acidificantes, aves, coccidiose, contaminação.

**ORGANIC ACIDS IN *Salmonella* Enteritidis's CONTROL IN CHICKENS OF CUT CHALLENGED EXPERIMENTALLY WITH *Salmonella* Enteritidis AND *Eimeria tenella***

**ABSTRACT**

This experiment was carried out using 504 one-day-old Hubbard female chicks, in order to evaluate the effect of a mixture of organic acids added to the ration, on the control of *Salmonella* in birds experimentally confronted with *S. enteritidis* and *S. enteritidis* associated with *Eimeria tenella*. The birds were distributed following a totally randomized sequence in factorial way 3x2, added or not the organic acid to the ration and the presence of challenge with *S. enteritidis* and *E. tenella*, isolated *S. enteritidis* or without challenge at all, totalizing six treatments with six repetitions each one, using 14 birds by experimental unit. The statistic data was analyzed using the program SAS, adopted to compare the averages, the Tukey test (quantitative variables) and Kruskal-Wallis (qualitative variables) to  $p < 0,05$ . The birds that received organic acid enriched ration had improvement in the performance at 7, 21 and 28 days. The birds inoculated only with *S. enteritidis* and the birds inoculated with *S. Enteritidis* and *E. tenella* presented worse levels of zootecnic performance ( $p < 0,05$ ) at 21, 28 and 35 days of life. The spleen weight and the thin intestine and cecum pH were not influenced ( $p > 0,05$ ) by the addition of organic acids to the ration. All the treatments challenged with *S. enteritidis* and which received acids presented minor frequency of bacteria isolation in the analyzed organs. It was also observed a reduction on the number of oocysts of *E. tenella* in the excretes and in the cecum content in the treatments which had organic acids, as well as reduction of intestinal damage scores caused by infection with *E. tenella*. The organic acids promoted improvement on the zootecnic performance on cut chicken, improving intestinal health with positive consequences on control of *S. enteritidis* together with *Eimeria tenella*.

**Key words:** acidifying, birds, coccidiosis, contamination.

## 1. INTRODUÇÃO

O Brasil é o maior exportador e o terceiro maior produtor de carne de frango no mundo, fato este que tem causado bastante interesse e grandes investimentos no setor avícola. Dados do último relatório anual da Associação Brasileira dos Produtores e Exportadores de Frango (ABEF), referente ao ano de 2007, revelam que a carne de frango é o terceiro maior produto nas exportações do agronegócio, e o quinto na pauta brasileira de exportação. Neste mesmo ano, foram produzidas 10,2 milhões de toneladas de carne de frango, sendo 3,3 milhões de toneladas destinadas ao mercado externo. Internamente, o mercado também é promissor, haja vista que em 2006, o consumo de carne de frango foi de 35,68 kg/hab/ano, o que representou aumento de mais de 60% nos últimos 10 anos (ABEF, 2009).

A manutenção da competitividade do Brasil no mercado de carne de aves, só é possível graças ao esforço conjunto de diversas entidades, tanto públicas quanto privadas que, simultaneamente, colaboram para que se produzam as condições necessárias para o fortalecimento deste setor. Melhoramento genético, manejo eficiente, controle sanitário, modernização das instalações, alimentação e nutrição adequadas são elementos necessários para se obter elevados índices zootécnicos.

Dentre os fatores citados, a alimentação merece destaque, visto que representa cerca de 70% dos custos de produção, sendo assim intensamente explorada cientificamente. Constantemente os pesquisadores buscam alternativas para aliar à redução do custo das dietas o benefício às aves e a satisfação do mercado consumidor, que anseia por alimentos seguros (RIZZO, 2008).

A intensificação da produção animal acaba por favorecer a introdução, multiplicação e disseminação de agentes patogênicos, especialmente microrganismos da microbiota intestinal dos animais. Estes microorganismos, muitas vezes causam modificações orgânicas, e acabam sendo responsáveis pela diminuição do desempenho dos animais. Além disso, os microrganismos

patogênicos também podem levar à contaminação da carne, desencadeando enfermidades de origem alimentar nos homens.

Os aditivos antimicrobianos vêm sendo utilizados desde a década de 40, para propiciar produtividade adequada a animais criados sob condições cada vez mais intensivas, permitindo-lhes aumento na taxa de crescimento, eficiência de utilização dos alimentos, redução da mortalidade e melhora da eficiência produtiva, além da produção de um alimento sanitariamente seguro ao consumidor. Dessa forma, o uso de antibióticos em níveis sub-terapêuticos tornou-se por muitas décadas prática rotineira no desenvolvimento de estratégias nutricionais (SANTOS, 2003) para melhorar o desempenho animal.

Entretanto, ultimamente a indústria de alimentação animal tem passado por mudanças significativas, no sentido de se adequar às novas exigências do mercado consumidor e à legislação vigente. Isso porque após longo tempo de uso dos antimicrobianos na nutrição dos animais, estes passaram a ser questionados como fatores de risco para a saúde animal e humana.

O desenvolvimento da avicultura industrial ocorreu em função da sua grande aceitação pelo mercado como fonte de alimento de qualidade e preço acessível. Sendo assim, os programas de prevenção e de controle de *Salmonella* em aves têm sido elaborados visando evitar as enfermidades avícolas e os produtos alimentícios de origem avícola como fonte de infecção para os seres humanos (BERCHIERI JÚNIOR, 2000). Além disso, programas de controle de resíduos de antibióticos e quimioterápicos nos produtos alimentícios, principalmente na carne, têm sido exigidos pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) para comercialização nacional e internacional desses produtos.

Dentre as ações dirigidas especificamente às aves para controle da salmonelose em criações comerciais, estão incluídos os produtos de exclusão competitiva, probióticos, ácidos orgânicos, vacinas, antibióticos, programas de monitoramento, entre outros. Todas essas medidas, assim como o estabelecimento da biossegurança nas integrações avícolas, tornaram-se

ferramentas imprescindíveis na criação comercial de aves e uma exigência para atender as demandas no comércio internacional de produtos avícolas.

A partir de janeiro de 2006, a União Européia proibiu o uso de qualquer tipo de antibiótico e quimioterápico como promotor de crescimento na produção animal. Nesse contexto, tem aumentado a procura por promotores de crescimento alternativos que garantam máximo crescimento dos animais e mantenham a qualidade do produto final.

A simples retirada dos antibióticos promotores de crescimento da dieta de frangos leva à diminuição média no desempenho das aves de 3,0 a 7,0%, com impacto negativo sobre a saúde animal e aumento na mortalidade. Embora se discuta a relevância prática desses estudos, há um consenso geral de que a proibição total no uso dos antibióticos promotores de crescimento resulte em menor lucratividade para o setor. Está claro que, em dietas sem antibióticos promotores de crescimento, há necessidade de se introduzir novas estratégias a fim de contornar os efeitos negativos no desempenho e na saúde das aves (LANGHOUT, 2005).

Atualmente, existem novos aditivos alimentares disponíveis no mercado com esses objetivos, entre eles os probióticos, enzimas, ácidos orgânicos e extratos de microrganismos ou plantas introduzidos na ração ofertada aos animais.

Uma vantagem dos aditivos alimentares beneficiadores de crescimento em relação aos antibióticos é a ausência da resistência bacteriana. Esse fator representa um aspecto importante em relação aos riscos de saúde pública e segurança dos produtos finais (SANTOS, 2003).

Agentes acidificantes e ácidos orgânicos vêm sendo estudados desde o início da década de 80, mostrando resposta positiva no desempenho de aves e suínos. Sugere-se também que os ácidos orgânicos podem reduzir o pH estomacal, o que poderia acarretar em aumento da atividade de algumas enzimas e promover aumento na proliferação de células do cólon e do jejuno (MAIORKA et al., 2004), redução na carga microbiana do trato digestivo, entre outros (BELLAVER & SCHEUERMANN, 2004).

O uso de ácidos orgânicos na alimentação de aves tem sido frequentemente discutido por nutricionistas e patologistas. O emprego desses aditivos tem crescido mundialmente, e os técnicos devem estar preparados para avaliar os benefícios inerentes ao uso dessas substâncias.

Diante do exposto, com este trabalho objetivou-se avaliar o efeito de uma mistura de ácidos orgânicos (propiônico, acético e fórmico associados a um carrier mineral como veículo) adicionada à ração no controle da *Salmonella* em frangos de corte experimentalmente desafiados com *S. Enteritidis* e *S. Enteritidis* associada à *Eimeria tenella* sobre variáveis de desempenho zootécnico, aspectos clínico-patológicos, análises microbiológicas e parasitológicas.

## 2. REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1. Saúde intestinal de frangos de corte

A alta produtividade observada na exploração avícola decorrente do rápido ciclo de produção e da grande demanda por produtos de origem avícola depende, dentre outros fatores, principalmente da obtenção adequada de nutrientes pelo organismo. A manutenção da sanidade das aves, em especial aos agentes que atuam sobre o trato gastrintestinal, é de grande importância para a produção de frangos de corte, pois essa é a via de entrada dos nutrientes para o desenvolvimento da ave. Considerando que a ração representa de 70 a 80% dos custos de produção, a integridade dos mecanismos digestivos e absorтивos dos nutrientes no trato digestivo, ou seja, a integridade das células epiteliais da mucosa gastrintestinal é de vital relevância para o bom desempenho das aves (MAIORKA et al., 2002).

A partir deste enfoque, BARRETO (2007) afirmou que o bom desempenho e expressão do potencial genético estão diretamente relacionados com o perfeito equilíbrio e integridade do trato gastrintestinal das aves, que deve ser mantido livre de injúrias desde o nascimento até o abate.

O trato gastrintestinal (TGI) das aves é estéril no momento da eclosão, mas no período imediatamente posterior ocorre rápida colonização por grande número de espécies bacterianas. Ocorre um equilíbrio na população microbiana do TGI e parece não existir uma microbiota típica, uma vez que fatores como composição do alimento e presença de patógenos afetam as espécies bacterianas de maneira diferenciada (ITO et al., 2004).

O termo “microflora” é usado para descrever a população bacteriana que habita o intestino. A microflora intestinal forma um sistema complexo e dinâmico, responsável por influenciar decisivamente fatores microbiológicos, imunológicos, fisiológicos e bioquímicos do hospedeiro (TANNOCK, 1998).

A microflora intestinal desempenha papel crucial no processo digestório, favorecendo o metabolismo dos carboidratos, intensificando a digestão

do amido, metabolismo das proteínas, lipídios e minerais, síntese de vitaminas e digestão cecal dos componentes fibrosos. Indiretamente, a microbiota bacteriana equilibrada contribui com a exclusão e/ou competição com bactérias patogênicas como *Escherichia coli*, *Clostridium* sp. e *Salmonella* sp. (ITO et al., 2000).

A microflora pode ser considerada um “órgão” metabolicamente ativo, sujeito a variação na composição e número de espécies presentes (SAAVEDRA & TSCHERMIA, 2002). Os benefícios da microflora equilibrada proporcionam a inibição do crescimento de bactérias patogênicas, estímulo ao sistema imune (influenciando o número, distribuição e grau de ativação da população de células do sistema imune intestinal), 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 excessiva oferta de substrato ou supressão das bactérias benéficas podem apresentar efeitos prejudiciais ao hospedeiro, como diarréia, infecções, distúrbios hepáticos, carcinogênese, putrefação intestinal, redução da digestão e absorção de nutrientes (WELTZIEN, 2003).

O balanço microbiano intestinal está relacionado a vários fatores, entre eles podemos citar: fatores nutricionais (proteínas enzimáticas intestinais, ácidos biliares conjugados e uréia), condições ambientais (oxigênio, temperatura, pH, peristaltismo, turnover da célula epitelial, muco, dieta, presença de células fagocíticas, genética e idade do hospedeiro) e fatores microbianos (ácido lático, ácidos graxos voláteis, motilidade, antibióticos, competição por nutrientes e aderência ao epitélio) (MILES et al., 2006).

A alta densidade populacional e outros fatores de estresse tais como transporte do incubatório às granjas comerciais, vacinações e mudança de temperatura a que estão expostos as aves em condições normais de criação, podem alterar o balanço microbiano intestinal e predispor as aves a diversas infecções, além de reduzir os índices de produtividade (ANDREATTI FILHO & SAMPAIO, 1999).

Microrganismos patogênicos como a *Salmonella* sp. e alguns sorotipos de *Escherichia coli* podem causar severos prejuízos à saúde intestinal das aves refletindo em distúrbios ao organismo animal. Estes microrganismos aderem ao epitélio intestinal, produzindo enterotoxinas que ocasionam mudanças do fluxo de água e eletrólitos no intestino delgado, resultando em diarréia (SAULLU, 2007).

Sendo assim, a manutenção da saúde intestinal é fundamental para a otimização da expressão genética das aves e, consequentemente, o melhor desempenho das mesmas, pois possibilita uma adequada obtenção de energia e nutrientes pelo organismo. É importante que se estabeleçam critérios de manejo que mantenham a integridade funcional dos diferentes tipos celulares que compõem e caracterizam os órgãos do aparelho digestório e suas glândulas anexas e o controle de doenças entéricas que reduzam a eficácia do processo digestivo (BOLELI et al., 2002).

## 2.2. Salmonelose aviária

*Salmonella* refere-se a um gênero amplamente distribuído na natureza que pode infectar além das aves, o homem, insetos, peixes, répteis e mamíferos em geral, causando a enfermidade denominada salmonelose. Pode causar infecção clínica ou subclínica em aves, podendo estas permanecer como reservatório e fonte de infecção para humanos. É um microrganismo de fácil adaptação, tornando-se muito difícil a erradicação dos ambientes criatórios (BACK et al., 2006).

O gênero *Salmonella* se divide em duas espécies, *S. enterica* que contém mais de 2.460 sorovares e *S. bongori* com 18 sorovares. A *S. enterica* subdivide-se em seis subespécies: *S. enterica* (I), *salamae* (II), *arizonae* (IIIa), *diarizonae* (IIIb), *houtenae* (IV) e *indica* (VI), que são capazes de infectar, além do homem, uma grande variedade de animais homeotérmicos ou heterotérmicos que se identificam na cadeia epidemiológica como doente portador e reservatório (GERMANO & GERMANO, 2008).

Embora exista mais de 2.400 sorovares de *Salmonella*, apenas um pequeno número de sorovares tipicamente produzem doenças similares ao tifo em animais adultos em número restrito de espécies hospedeiras. Estas incluem: *Salmonella Typhi* e *Salmonella Paratyphi* em humanos, *Salmonella Cholerae-suis* em suínos, *Salmonella Dublin* em bovinos, e *Salmonella Gallinarum* em aves (TURNER et al., 1998). *Salmonella Typhimurium* e *Salmonella Enteritidis* são uma

exceção, pois são capazes de colonizar o trato gastrointestinal de aves e causar infecção tifoide em camundongos (REVOLLEDO, 2005).

A *Salmonella Enteritidis* juntamente com a *S. Typhimurium* são líderes em toxinfecções alimentares no homem, podendo ocasionalmente ser consideradas patogênicas para aves, principalmente jovens (BACK et al., 2006). Devido a esse fato, elas se destacam dentro da divisão por sua importância econômica e em saúde pública, constituindo patógeno entérico de origem alimentar frequente nas ocorrências de gastroenterites em seres humanos (GAST, 2003). As aves podem ser portadoras assintomáticas por meio da colonização entérica. A susceptibilidade diminui com a idade e aves adultas podem converter-se em portadoras da bactéria (REVOLLEDO, 2005).

A prevenção de salmonelas constitui-se em preocupação prioritária dos profissionais envolvidos no processo de criação e exploração de aves. Esta área da sanidade avícola tem recebido nos últimos anos uma maior relevância, pela sua importância na saúde pública. Os programas de controle são complexos e existe uma série de fontes de contaminação, incluindo aves, roedores, alimento, aves silvestres, insetos, transportes, meio ambiente e o homem. Para o controle eficaz é necessário o uso de estratégias de intervenção em todas essas fontes mencionadas (REVOLLEDO, 2005).

No Brasil, investigações de surtos de toxinfecções alimentares ocorridos em diferentes regiões e de ocorrência de salmonelas em diferentes alimentos, constatam que *S. Enteritidis* é o principal sorovar causador de salmoneloses em humanos e o mais prevalente em produtos de frango (BAÚ et al., 2001). *Salmonella Enteritidis* é invasiva em aves domésticas e, portanto, tem a capacidade de contaminar não só a carne, mas também os ovos, através de transmissão transovariana após colonização do trato gastrointestinal (BERNDT, 2007).

As aves domésticas podem se contaminar com *Salmonella* sp. por diferentes meios, visto que ao serem ingeridas, mesmo que seja apenas uma célula bacteriana, podem se multiplicar, ocasionando a enfermidade quando encontram condições predisponentes. Disseminam-se também entre as aves,

tornando difícil seu controle, sobretudo porque roedores, pássaros, insetos e mesmo os funcionários da granja são contaminados, favorecendo a propagação e a permanência da bactéria no ambiente. A transmissão vertical também acontece, entretanto, a ingestão de alimento contaminado parece ser a forma de contaminação por *Salmonella* mais importante. Embora muitos ingredientes possam estar contaminados por *Salmonella*, os considerados potencialmente perigosos e de maior risco como veículos de infecção são as farinhas de origem animal (BERCHIERI JUNIOR et al., 1989). Existe a possibilidade de a *Salmonella* contaminar a ração durante o processamento e armazenamento, dada sua capacidade de permanecer viável no ambiente por vários meses (QUINN et al., 2005).

*Salmonella Enteritidis* não pertence à microbiota normal das aves, mas é capaz de colonizar os intestinos dos frangos jovens e persistir durante todo o período de criação. Esta bactéria se localiza preferencialmente nas tonsilas cecais, na primeira metade do intestino delgado, no proventrículo e na moela (FANELLI et al., 1971, citados por BERNDT, 2007).

A presença de *Salmonella* sp. em carcaças de aves está relacionada com a colonização intestinal por esta bactéria, que é maior durante os primeiros dias de vida das aves. *Salmonella Enteritidis*, além de colonizar o intestino das aves, como muitos outros sorotipos, invade órgãos internos como folículos ovarianos, oviduto, fígado, pâncreas, baço e vesícula biliar (REVOLLEDO, 2005).

Apesar de toda a monitorização industrial com o propósito da segurança alimentar, ainda assim, as infecções por salmonelas têm sido frequentes, constituindo-se as aves em 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 desta bactéria (BACK et al., 2006).

### **2.3. Coccidiose aviária**

A coccidiose das aves domésticas é uma doença parasitária entérica causada por protozoários do gênero *Eimeria* (Apicomplexa: Eucoccidia: Eimeriidae) e é uma das mais comuns e economicamente importante doença da avicultura industrial mundial. Essa enfermidade causa perdas na produtividade, alta morbidade e mortalidade (MORRIS & GASSER, 2006).

Os protozoários do gênero *Eimeria* vivem intracelularmente ao longo do epitélio intestinal das aves. Todas as espécies desse gênero apresentam alto grau de especificidade ao hospedeiro e ao intestino, ocorrendo apenas em aves domésticas. O termo “especificidade ao hospedeiro” refere-se à restrição de uma espécie de parasita a um ou mais hospedeiros específicos (KAWAZOE, 2000).

Foram descritas sete espécies de *Eimeria* (*E. acervulina*, *E. brunetti*, *E. máxima*, *E. mitis*, *E. necatrix*, *E. precox* e *E. tenella*) reconhecidas como agentes causadores da coccidiose em galinhas, sendo que essas espécies diferem em sua patogenicidade e várias delas podem estar envolvidas em um quadro de coccidiose (Mc DOUGALD, 2003; MORAES, 2006).

Nas produções de frangos de corte, as coccídias pertencentes às espécies *E. acervulina*, *E. maxima* e *E. tenella* são consideradas as de maior relevância econômica, em razão de sua capacidade de multiplicação nos tecidos intestinais (COSTA, 2002).

A coccidiose é uma das mais importantes doenças em galinhas, sendo comum nas criações industriais, mesmo com o uso constante de drogas anticoccidianas. A coccidiose pode resultar em dano severo à mucosa intestinal, perda de peso e algumas vezes morte da ave (INNES & VERMEULEN, 2006). A *Eimeria tenella* causa lesões moderadas a severas na mucosa cecal e, em alguns casos, a morte (PINARD VAN DER LAAN et al., 1998), podendo aumentar a suscetibilidade de infecção por outros microorganismos patogênicos (McDOUGALD, 2003).

As *Eimerias* infectam e se desenvolvem nas células intestinais das aves modificando drasticamente as estruturas e a aparência das vilosidades, muitas vezes causando a destruição das células parasitadas. Isso impede a

renovação da vilosidade intestinal, resultando na sua ausência e na perda contínua de fluidos, hemorragia, suscetibilidade a invasão de bactérias e subsequente formação de lesões necróticas. Infecções severas são frequentemente acompanhadas de diarréia aquosa e morte do hospedeiro (KAWAZOE, 2000).

A diminuição no ganho de peso é um dos efeitos mais graves observados em infecções moderadas, sendo pouco perceptível em infecções leves. Esse fato está associado à diminuição do consumo alimentar e de água, utilização de energia e maior perda de água, devido ao aumento da diarréia. A diminuição no ganho de peso é decorrente da diminuição da habilidade de utilizar o alimento, que pode ser observada pelo aumento no índice de conversão alimentar (alimento consumido/ganho de peso), fatores estes, de extrema importância econômica para os produtores avícolas (CHAPMAN, 2003).

Os oocistos das eimerias estão constantemente presentes e são facilmente disseminados no ambiente de criação das aves, tendo assim, um grande potencial de reprodução, o que dificulta manter as aves livres das coccidias, especialmente em condições intensivas de criação. Os oocistos esporulam facilmente na cama, fezes e solo onde as aves são criadas, entretanto, podem ser danificados por bactérias, amônia e outros organismos que também atuam nestes ambientes. Assim sendo, a viabilidade dos oocistos diminui após três semanas (ALLEN & FETTERER, 2002).

Várias estratégias para o controle da coccidiose estão sendo utilizadas em diferentes sistemas de produção. No sistema intensivo de produção, o método mais empregado é o uso de drogas anticoccidianas (quimioprofilaxia), mas, o uso de medicamentos de forma preventiva tem sido dificultado devido à ocorrência do fenômeno de resistência aos anticoccidianos (CHAPMAN, 1999; ALLEN & FETTERER, 2002; KITANDU & JURANOVA, 2006). Também está bem estabelecido o uso de vacinas vivas para o controle da coccidiose (CHAPMAN et al., 2002; WILLIAMS, 2002).

As lesões intestinais causadas pelos parasitas favorecem a instalação de doenças oportunistas, como as enterites causadas por várias espécies de

clostrídios e infecções produzidas por amostras patogênicas de *E. coli* e *Salmonella* sp. (BAINS, 2005; REVOLLEDO & FERREIRA, 2005).

Os métodos de controle da coccidiose incluem fatores ambientais, nutricionais e de manejo, além dos aspectos intrínsecos do parasita bem como do hospedeiro. O controle realizado pela administração contínua de fármacos na ração, durante quase todo o ciclo de vida do frango de corte, tem reduzido a mortalidade, embora perdas econômicas ainda persistam, em decorrência da morbidade ou dá má administração desses produtos e ainda, do manejo inadequado das instalações (CHAPMAN, 2003).

O monitoramento da efetividade do controle da coccidiose, seja ele pelo uso de medicamentos anticoccidianos ou por vacinas, deve ser feito periodicamente, por meio da atribuição de escore de lesão de coccidiose ou contagem de oocistos nas excretas. Esse monitoramento é importante para que seja verificada constantemente a efetividade dos anticoccidianos utilizados nas rações de aves e se as lesões atribuídas à infecção por coccidias interferem no desempenho e produção avícola (AGROSS, 2006).

## **2.4. Salmonelose x Coccidiose**

Na literatura pesquisada são poucos os estudos que correlacionam infecções por *Eimeria* sp. concomitante à *Salmonella* sp.

A infecção das aves por *Eimeria tenella*, pode determinar a permanência de *Salmonella Enteritidis* (SE) no intestino por mais tempo, quando comparado com a infecção isolada pela SE, resultando em maior período de exposição da SE nas excretas (QIN et al., 1995a).

O aumento da quantidade de *Salmonella Enteritidis* no ceco das aves com infecção por *Eimeria tenella* está associado a alterações na microflora cecal normal, com comprometimento da produção de ácidos graxos voláteis. Como ocorrem danos ao epitélio da mucosa cecal após a infecção com *E. tenella*, esta

pode ser responsável pela maior suscetibilidade das aves à transmissão horizontal de *Salmonella* sp. (QIN et al., 1995b).

As alterações na microflora intestinal não são causadas somente pela *E. tenella*, mas também por outras espécies de coccidias. BABA et al. (1982) e BAINS (2005) demonstraram que aves jovens com infecção por coccidias são mais vulneráveis à infecção por *Salmonella Typhimurium*.

BABA et al. (1982) relataram que o número de unidades formadoras de colônias de *Salmonella Typhimurium* no ceco de aves experimentalmente contaminadas foi marcadamente incrementado pela infecção por *Eimeria tenella*. Os mesmos autores relataram ainda que infecções paratípicas apresentaram sinais clínicos e lesões nos órgãos mais intensas quando ocorreram concomitante às infecções por *Eimeria* sp., do que quando observadas isoladamente.

## 2.5. Ácidos orgânicos no controle das salmoneloses aviárias

A utilização dos ácidos orgânicos iniciou-se com as pesquisas de métodos de preservação de cereais colhidos com alto teor de umidade, sendo constatado que o uso de ácidos prolonga o período de armazenamento e, nos países desenvolvidos, é uma prática bem aceita e menos onerosa do que a secagem artificial. Ao ser comparado o valor nutritivo do milho preservado com ácido orgânico com aquele preservado por outros métodos, foi verificado um maior desempenho de animais alimentados com milho tratado com ácido. Tais resultados motivaram a realização de pesquisas para testar os referidos ácidos como promotores de crescimento (TEIXEIRA, 1997).

Os ácidos orgânicos são moléculas providas de um grupo carboxila, como são os ácidos graxos, aminoácidos e muitas outras substâncias orgânicas. Trata-se de ácidos graxos voláteis, de cadeia curta, eventualmente chamados de fracos, que permanecem relativamente estáveis (não dissociados) no trato gastrintestinal dos animais. Seu uso inibe o desenvolvimento de fungos e bactérias e potencializa a disponibilidade de nutrientes de matérias-primas (GONZALES, 2004). Existem diferentes classes: fórmico, lático, propiônico,

acético, cítrico, butírico e outros, que têm sido amplamente utilizados na avicultura em alternativa ao uso dos antibióticos promotores de crescimento, substituindo-os (FERREIRA & ASTOLFI-FERREIRA, 2006).

Os ácidos orgânicos são comumente encontrados na natureza como componentes normais de tecidos animais e vegetais. Além disso, são formados pela fermentação microbiana no trato intestinal constituindo parte importante do suprimento energético dos animais hospedeiros. Já foi bem estabelecido que os ácidos orgânicos possuem fortes propriedades antimicrobianas. Por esse motivo, os ácidos orgânicos são amplamente utilizados na indústria alimentícia e de nutrição animal para controlar o crescimento de bactérias e fungos. Estes efeitos positivos dos ácidos orgânicos podem ser explicados por diversos mecanismos, incluindo redução do pH, propriedades bacteriostáticas e diversas propriedades metabólicas da porção aniônica dos ácidos orgânicos após dissociação (BELLAVER & SCHEUERMANN, 2004).

Segundo PARTANEN & MROZ (1999), os ácidos orgânicos podem influenciar também a morfologia da mucosa do trato gastrointestinal, bem como estimular a secreção pancreática e servir como substrato no metabolismo intermediário. Esses possíveis benefícios multifuncionais dos ácidos orgânicos podem resultar na melhoria do metabolismo gastrointestinal, favorecendo o processo de digestão, absorção e retenção de nutrientes.

Os ácidos orgânicos são facilmente absorvidos pela parede celular das bactérias. Uma vez na célula, a porção aniônica do ácido danifica a estrutura do DNA no núcleo das células e, consequentemente, as bactérias não se dividem ou podem morrer. A porção catiônica liberada dos ácidos reduz o nível do pH da célula, obrigando a célula bacteriana a utilizar sua energia para liberar os prótons, levando a uma exaustão celular (LANGHOUT, 2005).

Por apresentarem propriedades como baixa toxicidade e solubilidade em água, os ácidos orgânicos de cadeia curta, como acético, cítrico, propiônico, fumárico e sórbico são os mais utilizados como acidificantes. Quando se considera o uso de outros ácidos como acidificantes, nota-se que a atividade antimicrobiana eleva-se com o tamanho da cadeia. No entanto, ácidos alifáticos de cadeia longa, maiores que C10 ou C11, têm muito pouco potencial de

aplicação (atividade) contra bactérias Gram negativas, em razão da sua baixa solubilidade em água (SANTOS, 2003).

O mecanismo de ação antimicrobiana dos ácidos orgânicos é baseado no potencial acidificante e sua capacidade de dissociação. O potencial acidificante está relacionado com a capacidade dos ácidos orgânicos em ceder prótons ( $H^+$ ), mais eficientemente ou não, em diferentes meios, o que quimicamente reflete o potencial de dissociação do ácido ( $pK_a$ ). Os ácidos orgânicos podem se apresentar em duas formas: não dissociada ( $RCOOH$ ) ou dissociada ( $COO^-$ ) e esse equilíbrio é medido pelo  $pK_a$ , que indica o pH onde 50% do ácido se encontram na forma dissociada. 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. Todo ácido tem um ou mais  $pK_a$ , e quanto mais fácil ele doa seu hidrogênio, mais forte ele é, e se possui mais de um  $pK_a$  significa a existência de mais um próton a ser trocado. A forma não dissociada tem a capacidade de atravessar a membrana celular dos microorganismos e dissociar-se no seu interior, produzindo íons  $H^+$  que diminuem o pH da célula e esta reage eliminando os prótons tentando manter o pH constante. Esse mecanismo faz com que o gasto energético seja maior, reduzindo o crescimento celular microbiano e, os anions  $COO^-$  do ácido, por sua vez, impedem a síntese de DNA interferindo na replicação protéica (FRANÇA, 2008).

A combinação dos ácidos orgânicos protegidos pelo *carrier* no intestino, garante a oportunidade de desenvolvimento de uma flora benéfica, isto porque o *carrier* promove aumento da superfície da matriz ácida, permitindo melhor difusão dos ácidos pelos alimentos e facilita o contato com as bactérias patógenas; permite a acidificação de todo o trato digestivo devido à liberação controlada dos ácidos; protege os ácidos no sistema gastrintestinal evitando sua metabolização; proporciona microambiente adequado para colonização de bactérias ácido tolerantes que são responsáveis pela manutenção da acidez no intestino e carrega e transporta bactérias acidófilas produtoras de ácidos até o ceco. Estas características fazem com que o sistema gastrintestinal, após contato com ácidos orgânicos protegidos pelo *carrier*, resista a uma potencial

contaminação por enteropatógenos provenientes dos alimentos, água, meio ambiente, e outros (VETANCO, 2007).

Os ácidos orgânicos têm papel predominante na redução de microrganismos como *Escherichia coli*, *Campylobacter* spp. e *Salmonella* sp. em rações, e consequente redução de infecções subclínicas nas aves. Contribuem também com o aumento da absorção de nutrientes e acentuam as potencialidades do aparelho digestivo e imunitário (DIBNER & BUTTIN, 2002; SALAZAR, 2006). OSTERMANN et al. (2005) acrescentaram que os ácidos orgânicos podem apresentar efeito antiinflamatório, especialmente os ácidos acético e propiônico.

Além de promoverem alterações no pH intestinal, ativação das enzimas proteolíticas e melhoria na produção de sais biliares, os ácidos orgânicos também podem levar a uma modificação da microflora gastrintestinal, resultando em maior e melhor absorção de nutrientes e melhor funcionamento do aparelho digestório (VAN IMMERSEEL et al., 2006).

Os resultados do uso dos ácidos orgânicos na alimentação dos animais são dependentes da concentração e das combinações dos ácidos empregados bem como da capacidade tampão dos ingredientes da ração utilizada. O principal efeito da redução da microbiota ocorre no ínguvio e cecos e, devido às características anatomo-fisiológicas das aves, a estratégia de uso dos ácidos orgânicos é recomendada durante todo o período de produção de frangos de corte (BELLAVER & SCHEUERMANN, 2004).

A magnitude da resposta aos acidificantes também sofre influência do nível e do tipo de ácido utilizado. O ácido acético é produzido por bactérias do gênero *Acetobacter* pela oxidação de alcoóis, já o ácido propiônico é produzido por bactérias do gênero *Propioni* no processo de manufatura de queijos, e também, é metabólito da degradação de valina (STRYER, 1992). Como conservante, o ácido acético inibe o crescimento de muitas espécies de bactérias e, em menor extensão, de leveduras e fungos (BRAZ, 2007).

REZENDE et al. (2008) trabalhando com a adição de ácido acético, na ração de frangos de corte contaminada com *Salmonella* sp., em diferentes concentrações, concluíram que níveis crescentes do ácido (0,5, 1,0, 1,5 e 2,0%) favoreceram o ganho de peso e melhoraram a conversão alimentar das aves.

Afirmaram também que ocorreu redução da contaminação de rações tratadas com 1,5% de ácido acético. Entretanto, o ácido acético nos níveis avaliados não demonstrou eficácia para eliminação de *Salmonella* sp. em rações.

O ácido fórmico é utilizado normalmente como preservante em silagens de forrageiras e diversos sub-produtos. É o mais simples dos ácidos orgânicos de cadeia curta. O formiato, um constituinte natural dos tecidos animais e do sangue, é importante no metabolismo, na transferência de elementos com um carbono, que são gerados principalmente durante o metabolismo de aminoácidos (STRYER, 1992).

Além do ácido fórmico, o propiônico também é utilizado na preservação de alimentos para animais. Ele é particularmente eficiente na conservação de matérias-primas e alimentos balanceados, pela sua excelente ação antifúngica. Por outro lado, o ácido fórmico é considerado um ácido “mais forte” e apresenta uma grande eficiência no controle de bactérias e leveduras. Esses dois ácidos podem ser utilizados eficientemente no controle de *Salmonella* sp. (BRAZ, 2007).

A diferença entre os ácidos são determinantes do nível de inclusão na dieta, como demonstrado por VIOLA & VIEIRA (2004) quando afirmaram que a concentração mínima de ácido propiônico que previne infecção por *Escherichia coli* é 0,5%, valor cinco vezes maior que do ácido fórmico.

Após experimento adicionando diferentes concentrações de ácido fórmico em rações de aves contaminadas com *Salmonella* sp., REZENDE (2006) concluiu que nas concentrações de 1,5 e 2,0% ocorreu redução da contaminação por *Salmonella* sp. nas rações, entretanto, não alterou o desempenho das aves.

De acordo com BELLAVER & SCHEUERMANN (2004), o principal efeito da redução da microbiota com o uso dos ácidos orgânicos ocorre no íngüvio e cecos, porém estes autores não relataram efeitos dos ácidos orgânicos no controle de *Eimeria*.

Apesar da grande variedade de trabalhos estudando a ação dos ácidos orgânicos, o uso adequado desses produtos requer maior entendimento da capacidade e de seu modo de ação nos diferentes patógenos gastrintestinais (RICKE, 2003) e morfologia intestinal.

### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

O projeto de pesquisa que originou o presente experimento e dissertação foi cadastrado e aprovado pela Comissão de Ética na Experimentação em Animais da Universidade Federal de Goiás sob o número 138/08.

#### **3.1. Local**

O experimento foi realizado no Núcleo Experimental de Aves e Laboratório de Bacteriologia do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás (UFG), no período de maio a julho de 2008.

#### **3.2. Animais experimentais**

Foram utilizadas 504 pintainhas de um dia, da linhagem comercial para corte HUBBARD, alojadas em grupos de 14 aves por unidade experimental, em um total de 36 unidades experimentais.

#### **3.3. Tratamentos e delineamento experimental**

Os tratamentos utilizados no experimento foram distribuídos seguindo-se um delineamento inteiramente ao acaso em esquema fatorial 3x2, com a adição ou não de ácido orgânico na ração e a presença de desafio com *Salmonella Enteritidis* e *Eimeria tenella*, *Salmonella Enteritidis* isolada ou sem nenhum desafio, totalizando seis tratamentos com seis repetições cada um, utilizando-se 14 aves por unidade experimental (Quadro 1).

**QUADRO 1 - Tratamentos utilizados no experimento**

<b>Tratamento</b>	<b>Adição de ácidos orgânicos</b>	<b>Desafio SE</b>	<b>Desafio Et</b>
T1	Não	Não	Não
T2	Sim	Não	Não
T3	Não	Sim	Não
T4	Sim	Sim	Não
T5	Não	Sim	Sim
T6	Sim	Sim	Sim

SE – *Salmonella Enteritidis*; Et – *Eimeria tenella*

### **3.4. Instalações e material experimental**

O experimento foi conduzido em ambientes isolados e controlados, separando os tratamentos desafiados com *Salmonella Enteritidis* e *Eimeria tenella* dos tratamentos que não foram desafiados. Para o alojamento das aves foram utilizadas baterias de aço galvanizado, com quatro e cinco andares possuindo as seguintes dimensões: 0,80m x 0,75m x 0,25m (comprimento x largura x altura), acomodadas em duas salas de alvenaria.

A preparação do local de alojamento obedeceu às normas de limpeza e desinfecção, preconizadas por CONY & ZOCCHE (2004), com vazio sanitário de sete a dez dias, dos quais dois dias foram reservados para limpeza e o restante para o vazio sanitário.

Foram utilizadas lâmpadas incandescentes de 60 W em cada andar da bateria para aquecimento com monitoramento diário para manter a temperatura ambiente adequada para as aves (temperatura média de 30°C até sete dias de idade e 25°C até o final). Comedouros e bebedouros eram do tipo calha linear, instalados na lateral das baterias, que foram limpos e abastecidos duas vezes ao dia.

As aves foram alimentadas com dieta experimental de um a 35 dias de vida. As aves e as rações foram pesadas com um, sete, 14, 21, 28 e 35 dias, e os dados obtidos nas pesagens foram utilizados para cálculo do ganho de peso, consumo de ração e conversão alimentar.

As aves dos tratamentos desafiados com *Salmonella Enteritidis* (SE) foram inoculadas, via oral, no primeiro dia de vida e com reforço aos sete dias de vida, com 0,3mL de solução salina tamponada estéril a 0,85% contendo  $4,8 \times 10^6$  unidades formadoras de colônias (UFC) de SE por dose de 0,3mL. As aves dos tratamentos desafiados com *Eimeria tenella* foram inoculadas, via oral, aos 15 dias de vida com uma concentração de  $10^5$  oocistos/ave.

### 3.5. Programa alimentar

A dieta fornecida às aves foi ração vegetal farelada a base de milho moído e farelo de soja, formulada para atender as recomendações nutricionais e a composição dos alimentos propostas por ROSTAGNO et al. (2005). Produtos anticoccidianos e promotores de crescimento não foram adicionados à ração. O aditivo alimentar à base de ácidos orgânicos (Quadro 2) foi adicionado às rações (nos tratamentos T2, T4 e T6 – Quadro 1), na concentração de 4 kg por tonelada, seguindo as recomendações do fabricante. As rações fornecidas às aves, levando em consideração a composição nutricional das dietas e as exigências nutricionais, foram divididas em duas fases: de um a 14 dias de vida, e de 15 dias de vida ao final da fase experimental aos 35 dias de vida. (Tabela 1).

**QUADRO 2 – Composição básica e níveis de garantia do aditivo alimentar adicionado às rações**

Ingredientes	Quantidade a cada 100g do aditivo
Formiato de amônio	17,7g
Propionato de amônio	5,1g
Ácido fórmico	5,0g
Ácido acético	5,0g
Carrier mineral (vermiculita)	Q.S.P.
Água	Q.S.P.
Níveis de garantia	%
Ácido acético	5,0
Ácido fórmico	12,0
Ácido propiônico	4,0

Fonte: Vetanco (2007). Forma de apresentação: pó.

TABELA 1 – Composição percentual da ração fornecida aos pintos de corte de um a 14 dias de vida e de 15 dias de vida ao final da fase experimental

<b>Ingredientes</b>	<b>1 a 14 dias</b>	<b>15 dias ao final</b>
	<b>% de inclusão</b>	
Milho	61,40	64,98
Farelo de soja (45%)	34,10	31,18
Fosfato bicálcico	1,80	1,67
Calcário	0,77	0,74
Óleo vegetal	0,56	0,55
L-Lisina-HCL	0,44	0,16
Sal (NaCl)	0,40	0,39
DL-Metionina	0,35	0,16
Colina	0,08	0,07
Suplemento mineral	0,05	0,05
Suplemento vitamínico	0,05	0,05
<b>Total</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>
<b>Nutrientes</b>		<b>Atendimento</b>
Energia metabolizável (kcal/kg)	2,95	2,98
Proteína bruta (%)	20,81	19,77
Metionina total (%)	0,69	0,49
Metionina digestível (%)	0,43	0,26
Metionina + cistina total (%)	1,05	0,84
Metionina+cistina digestível (%)	0,54	0,37
Lisina total (%)	1,47	1,18
Cálcio (%)	0,88	0,83
Fósforo disponível (%)	0,44	0,41
Sódio (%)	0,20	0,20
Ácido Linoleico (%)	1,47	1,54

### 3.6. Obtenção e preparação dos inóculos

#### 3.6.1. *Salmonella Enteritidis*

O inóculo foi preparado com *Salmonella Enteritidis* isolada de amostras oriundas de frangos de corte cedida por REZENDE (2006). A concentração do inóculo foi de  $4,8 \times 10^6$  UFC por dose de 0,3 mL, fornecido às aves com um dia de vida via oral.

Para obtenção do inóculo a cepa foi repicada em ágar verde brilhante e incubada a 37°C, por 20h. Em seguida, as células foram suspensas em solução salina tamponada a 0,85%, mantidas a 4°C e concentração de  $1,6 \times 10^6$  UFC para cada 0,1mL ajustada com auxílio da escala de Mac Farland (FERNÁNDEZ et al., 2001). A concentração foi confirmada pelo plaqueamento das diluições decimais

seriadas em ágar verde brilhante, com posterior incubação a 37°C e contagem das UFC de *Salmonella*.

### **3.6.2. *Eimeria tenella***

As pintainhas foram desafiadas aos 15 dias de vida com oocistos de *E. tenella* oriundos de frango de corte cedidos por GUIMARÃES JÚNIOR et al. (2007) e isolados no Laboratório de Bacteriologia da Escola de Veterinária da UFG seguindo metodologia proposta pelo mesmo autor.

Para obtenção do inóculo, dez pintos de linhagem comercial para corte com um dia de vida foram criados em gaiolas suspensas até 11 dias de vida recebendo ração medicada com anticoccidiano. A partir do 12º dia de vida, os pintos começaram a receber ração livre de anticoccidiano. No 15º dia de vida, estes pintos, após jejum de 12 horas, foram inoculados com  $5,0 \times 10^4$  oocistos/ave da amostra inicial. O fornecimento de água foi à vontade desde o primeiro dia de vida. Após sete dias da inoculação da amostra inicial, os pintos foram sacrificados, necropsiados e os cecos foram colhidos para retirada do conteúdo cecal. Após a colheita, dos conteúdos cecais, estes foram homogeneizados em água destilada e filtrados, empregando-se gaze. À solução de conteúdo cecal contendo oocistos, foram adicionadas quatro partes de dicromato de potássio a 2,5% para esporulação. Esta solução foi colocada em garrafa plástica dotada de uma mangueira que foi ligada a um pequeno compressor (o mesmo utilizado para oxigenação de aquários) para aeração. A aeração foi feita durante três dias e o inóculo foi então quantificado e armazenado sob refrigeração (8°C) até o momento da inoculação experimental.

## **3.7. Dados obtidos**

### **3.7.1. Variáveis de desempenho**

Para análise do desempenho das aves foi observado o seguinte:

- Peso médio (PM): obtido dividindo-se o peso total das aves de cada parcela, pelo número médio de aves da parcela.

- Ganho de peso (GP): calculado pela diferença entre os pesos médios das aves obtidos pelas pesagens.
- Consumo de ração (CR): obtido pela diferença entre a quantidade de dieta oferecida no início e as sobras ao final da fase de pesagem, e considerando o número de aves mortas nos intervalos como critério para correção dos valores de consumo.
- Conversão alimentar (CA): calculado pela razão entre o ganho de peso total e o consumo total da dieta, corrigido pelo peso total das aves mortas por parcela nas diferentes fases de pesagem e no período total.
- Mortalidade (Mort.): obtido pelo número de aves mortas durante o período experimental.
- Viabilidade criatória (VB): obtido pela diferença entre o índice 100 e a mortalidade obtida no período.

As pesagens regulares das aves e da ração foram feitas com um, sete, 14, 21, 28 e 35 dias de idade para cálculo de peso médio, ganho de peso, consumo de ração e conversão alimentar. As aves mortas foram identificadas e pesadas para o ajuste do consumo de ração e conversão alimentar, bem como necropsiadas e as alterações macroscópicas identificadas.

### **3.7.2. Procedimentos laboratoriais**

- Pesquisa de *Salmonella Enteritidis* no baço e tonsilas cecais

Imediatamente após a colheita do baço e tonsilas cecais de aves controle e infectadas (uma ave por parcela) aos 14, 21, 28 e 35 dias de idade para pesquisa do patógeno, cerca de 0,5 grama da amostra foi macerada, homogeneizada e colocada em tubos de ensaio contendo 4,5 mL de caldo de enriquecimento Selenito Cistina e incubados em estufa a 37°C por 24h. Dos caldos de enriquecimento, alíquotas foram repicadas nos ágares Hektoen, Rambach e XLT<sub>4</sub> para microbiologia. A pesquisa de *S. Enteritidis* foi realizada de acordo com o GEORGIA POULTRY LABORATORY (1997) e BRASIL (2003), com as modificações propostas por ANDRADE (2005).

De cada um dos ágaros foram selecionadas quatro colônias com características morfológicas sugestivas da *Salmonella* e transferidas para ágar tríplice açúcar-ferro (ágar TSI), seguindo-se incubação a 37°C por 24h. Os isolados bacterianos que apresentaram reações e características compatíveis às do gênero *Salmonella* foram submetidas aos testes bioquímicos de produção de indol, produção de H<sub>2</sub>S, urease, descarboxilação da lisina, vermelho de metila e utilização do malonato e motilidade.

Os tubos dos testes bioquímicos foram incubados a 37°C por até sete dias, com leituras diárias para as provas com resultados negativos nas primeiras 48 horas de incubação e para os testes de descarboxilação ou hidrólise de aminoácidos. As amostras confirmadas bioquimicamente como *S. Enteritidis* foram ainda submetidas a testes sorológicos com soro polivalente anti “O”. Aquelas confirmadas na bioquímica e na sorologia foram encaminhadas ao Instituto Oswaldo Cruz (FIOCRUZ-RJ) para tipificação sorológica.

- Contagem de oocistos de *Eimeria tenella* e avaliação macroscópica intestinal

Aos 21, 28 e 35 dias, uma ave por parcela foi eutanasiada para realização de necropsia e determinação do grau de lesão intestinal macroscópica avaliada de acordo com os escores de lesão como idealizado por JOHNSON & REID (1970). Simultaneamente, amostras de conteúdo cecal foram colhidas para a realização da contagem de oocistos.

Também foram colhidas 10g de amostra de excretas (das gaiolas) de cada parcela aos cinco, seis, sete, oito, nove, 10 e 11 dias após a inoculação dos oocistos de *Eimeria tenella*, armazenado-as em frascos plásticos sob refrigeração (8°C), processadas (obtendo-se um “pool” de cada parcela) ao final do experimento e colhendo uma nova amostra para realização da contagem de oocistos pelo método de McMaster, conforme descrito por KAWAZOE (2000).

- Mensuração de pH intestinal

Os conteúdos do intestino delgado e cecos foram colhidos, diluídos em 15 mL de água destilada, homogeneizados e determinado o pH (utilizando-se peagâmetro digital), conforme metodologia descrita por SILVA et al. (2000).

- Exames biométricos do baço

Para determinação dos índices biométricos, uma ave por parcela, após jejum de aproximadamente uma hora, foi sacrificada aos 14, 21, 28 e 35 dias de idade. O peso da ave e do baço foram anotados para cálculo da relação peso de órgão/peso da ave. O método de eutanásia das aves empregado neste experimento foi pela aplicação de Cloridrato de Lidocaína a 2% por via intra-tecal, conforme descrito por CALAÇA et al. (2008).

### **3.8. Análise estatística**

A análise estatística foi realizada seguindo o esquema da Análise de Variância (ANOVA), para um delineamento inteiramente ao acaso em esquema fatorial 3x2.

Os dados estatísticos foram analisados empregando-se o programa SAS (1998), sendo adotado para comparação entre as médias, o teste de Tukey (variáveis quantitativas) e Kruskal-Wallis (variáveis qualitativas) para  $p<0,05$  (SAMPAIO, 2007).

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1. Desempenho das aves

Na Tabela 3 podem ser observados os valores de peso inicial, peso médio, ganho de peso, consumo de ração, conversão alimentar, mortalidade e viabilidade referentes ao período de um a sete dias de vida dos frangos de corte. A média de peso inicial das aves alojadas foi 40,3g.

TABELA 2 – Peso inicial (PI), peso médio (PM), ganho de peso (GP), consumo de ração (CR), conversão alimentar (CA) e viabilidade (VB) durante o período de um a sete dias de idade de frangos de corte inoculados com *Salmonella Enteritidis* via oral e tratados com ração contendo ácidos orgânicos

Tratamento	PM*	GP	CR	CA	VB
<b>Desafio</b>					
Controle	142,64a	102,28	130,0a	1,27	99,4
<i>Salmonella</i>	135,50b	94,85	117,4b	1,23	100,0
<i>Salm.+Eim.</i>	-	-	-	-	-
<b>Ac. Orgânico</b>					
Sem ácido	140,84	100,24	124,6	1,24	100,0
Com ácido	139,34	99,14	122,4	1,23	99,2
CV (%)	5,06	7,07	9,21	5,37	1,69
<b>P</b>					
Ácido	NS	NS	NS	NS	NS
Desafio	0,03	0,02	0,03	NS	NS
Desaf.x Ácido	0,03	NS	NS	NS	NS

Médias seguidas por letras minúsculas distintas na mesma coluna diferem entre si pelo Teste de Tukey ( $P<0,05$ ). \* Desdobramento da interação na Tabela 3.

Ocorreu interação entre o agente inoculado e a utilização de ácidos orgânicos para a variável peso médio. A inoculação de *Salmonella Enteritidis* (SE), via oral, no primeiro dia de vida, influenciou ( $p<0,05$ ) o ganho de peso e o consumo de ração de um a sete dias de vida e as aves que receberam a SE apresentaram menor ganho de peso e menor consumo de ração (Tabela 2). Resultados semelhantes foram obtidos por CHAVES (2007) para frangos de corte da mesma linhagem e inoculados com a mesma bactéria. A invasão da microflora intestinal pela *Salmonella Enteritidis*, que é considerada patogênica para aves e

humanos, provavelmente tenha provocado o desequilíbrio na colonização natural do intestino das aves na primeira semana de vida. Isso refletiu negativamente no aproveitamento dos nutrientes da dieta e provocou queda nas variáveis de desempenho das aves. Tal fato foi confirmado por ROCHA (2008), justificando que a colonização do sistema digestório da ave provoca modificações já nos primeiros dias de vida, interferindo negativamente no consumo de ração, conversão alimentar e ganho de peso.

A adição de ácidos orgânicos não influenciou ( $p>0,05$ ) o ganho de peso, consumo de ração, conversão alimentar e viabilidade avaliados aos sete dias de vida (Tabela 3). O mesmo também não foi observado por VIOLA & VIEIRA (2007) e ROCHA (2008) em consequência da utilização de ácidos orgânicos sobre essas variáveis. Entretanto, SALAZAR (2006), estudando a interação dos ácidos lático e butírico sobre variáveis de desempenho, encontrou diferença entre os grupos que receberam a mistura de ácidos e os que não receberam, para os parâmetros ganho de peso, conversão alimentar e consumo de ração. ZANELATO et al. (2008a), utilizando ácidos orgânicos em dietas iniciais para frangos de corte, observaram melhora na conversão alimentar quando comparado a dietas sem adição de acidificantes, e concluíram que a utilização de ácidos orgânicos permite a retirada dos antibióticos promotores de crescimento na fase inicial de frangos de corte sem afetar o desempenho zootécnico.

Apesar de não terem sido encontradas diferenças ( $p>0,05$ ) para desempenho das aves com a utilização de ácidos orgânicos na dieta, CAMPOS et al. (2004) afirmaram que as primeiras semanas de vida das aves são cruciais para o desenvolvimento do trato digestório. Os autores salientaram que qualquer alimento ou aditivo que seja adicionado à ração que leve à manutenção da integridade e ao desenvolvimento da mucosa intestinal proporcionará resultados mais satisfatórios posteriormente.

Para viabilidade criatória de um a sete dias de vida, não houve diferença ( $p>0,05$ ) entre os tratamentos. Resultados semelhantes foram encontrados por GARRIDO et al. (2004), GARCIA et al. (2000) e SALAZAR

(2006) que estudaram os efeitos da acidificação de rações e não encontraram diferenças na fase inicial de crescimento para viabilidade criatória.

A uniformidade da viabilidade criatória observada neste estudo na primeira semana de vida das aves pode estar relacionada às boas condições de manejo experimental e das boas condições de saúde dos animais. Mesmo sob desafio microbiológico de *Salmonella Enteritidis*, sugere-se que a utilização da mistura de ácidos orgânicos na dieta das aves desde o primeiro dia de vida, tenha promovido modificação da microflora intestinal e redução da ação deletéria da bactéria estudada.

Ao avaliar o desdobramento da interação agente inoculado e ácidos orgânicos (Tabela 3), nota-se que os grupos que receberam a mistura de ácidos orgânicos na ração apresentaram melhor peso médio aos sete dias de idade em relação aos grupos que não receberam a mistura de ácidos orgânicos.

TABELA 3 – Desdobramento da interação agente inoculado e utilização de ácidos orgânicos para a variável peso médio (PM) aos sete dias de idade em frangos de corte inoculados com *Salmonella Enteritidis* via oral e tratados com ração contendo ácidos orgânicos

	Desafio		
<b>Ácido</b>	<b>Controle</b>	<b>Salmonella</b>	<b>Salm.+Eimeria</b>
C/ Ácido	144,81Aa	136,26Ab	-
S/Ácido	140,46Aa	134,75Ab	-
<b>CV(%)</b>		5,06	

Médias seguidas por letras minúsculas (maiúsculas) distintas na mesma linha (coluna) diferem entre si pelo Teste de Tukey ( $P<0,05$ ).

Resultados semelhantes ao deste estudo foram observados por VIOLA et al. (2008) que avaliaram os efeitos dos ácidos lático, acético e propiônico na dieta de frangos de corte e obtiveram benefício no ganho de peso e no peso médio de frangos de corte na fase inicial de criação. De acordo com BELLAVER & SCHEUERMANN (2004), os ácidos orgânicos alteram o pH intestinal, ativam enzimas proteolíticas, melhoram a produção de sais biliares, modificam a microflora intestinal, possuem capacidade aniónica tamponante com os cátions das dietas, promovendo aumento da digestibilidade, retenção de elementos minerais e utilização da energia do ácido no metabolismo da ave. Estas

características dos ácidos orgânicos resultam em maior e melhor absorção de nutrientes, proporcionando melhor desempenho aos frangos de corte.

Durante o período de um a 14 dias não foram observadas diferenças ( $p>0,05$ ) no desempenho entre os tratamentos inoculados, via oral, com *Salmonella Enteritidis* e os não-inoculados. A utilização de ácidos orgânicos na dieta das aves influenciou ( $p<0,05$ ) a mortalidade e viabilidade criatória das aves, que foi pior nos grupos que receberam ácidos orgânicos na ração (Tabela 4).

TABELA 4 – Peso médio (PM), ganho de peso (GP), consumo de ração (CR), conversão alimentar (CA) e viabilidade (VB) durante o período de um a 14 dias de idade de frangos inoculados com *Salmonella Enteritidis* via oral e tratados com ração contendo ácidos orgânicos

Tratamento	PM	GP	CR	CA	VB
<b>Desafio</b>					
Controle	309,56	266,30	388,55	1,44	98,21
<i>Salmonella</i>	305,48	261,59	384,41	1,46	98,81
<i>Salm.+Eim.</i>	-	-	-	-	-
<b>Ac. Orgânico</b>					
Sem ácido	305,33	263,96	384,79	1,45	99,60a
Com ácido	305,33	260,67	382,60	1,45	97,62b
CV (%)	4,58	5,51	6,06	3,86	2,90
<b>P</b>					
Ácido	NS	NS	NS	NS	0,04
Desafio	NS	NS	NS	NS	NS
Desaf.x Ácido	NS	NS	NS	NS	NS

Médias seguidas por letras minúsculas distintas na mesma coluna diferem entre si pelo Teste de Tukey ( $P<0,05$ ).

Os valores encontrados para o desempenho nos grupos inoculados com a bactéria em estudo em que foi utilizada a mistura de ácidos orgânicos na ração mantiveram-se praticamente idênticos aos grupos controle (Tabela 4). Estes resultados são condizentes com os obtidos por MAIORKA et al. (2004) 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 estudados. GARCIA et al. (2000) estudaram a ação e desempenho dos ácidos orgânicos na ração de frangos de corte e também não encontraram diferenças entre os grupos tratados. Entretanto, VIOLA et al. (2008) estudando utilização de rações contendo antibióticos promotores de crescimento

ou misturas de acidificantes, encontraram efeito dos tratamentos, com valores de conversão alimentar melhores para os tratamentos onde utilizou-se a mistura de ácidos orgânicos.

SCAPINELLO et al. (2001) atribuíram a ausência de resposta na fase de crescimento com a utilização de ácidos orgânicos na dieta de coelhos como sendo decorrentes de fatores relacionados à dosagem do acidificante, que estão relacionados à constante de dissociação responsável por identificar a capacidade acidificante. FAVERO et al. (2008) discordaram desta citação ao demonstrarem, em estudo com diferentes inclusões de ácidos orgânicos nas rações, que aves que consumiram ração com acidificante, indiferentemente da dosagem utilizada, obtiveram o maior ganho de peso e melhor conversão alimentar em relação ao grupo que não foi adicionado ácidos na ração.

Diante dos resultados deste estudo e dos achados na literatura, pode-se inferir que, embora não tenham sido encontradas diferenças, a utilização de ácidos orgânicos potencializa o desempenho zootécnico na fase inicial de criação, especialmente no que diz respeito ao ganho de peso e conversão alimentar, que serão refletidos posteriormente em melhores respostas de desempenho na fase final.

Os resultados para viabilidade criatória observados na Tabela 4, provavelmente não estão diretamente relacionados ao uso de ácidos orgânicos nas rações e nem ao desafio microbiano imposto às aves, e sim, ao efeito seletivo que os animais passam naturalmente conforme se desenvolvem, sendo os mais fracos eliminados pela competição. Mesmo sem a aplicação de um desafio controlado, como neste estudo, FRANCO et al. (2006), analisando diferentes promotores de crescimento, entre eles um ácido orgânico, também não verificaram diferenças, porém a média de mortalidade foi acima do esperado, fato este explicado pela competição natural.

Verifica-se pelos resultados observados na Tabela 5, que todos as variáveis avaliadas sofreram influência do desafio imposto às aves, com desempenho pior para os grupos inoculados. Observa-se também que os grupos que receberam ácidos orgânicos obtiveram um benefício geral no desempenho

advindo deste aditivo, com diferença significativa ao nível de 7% ( $p<0,07$ ) para peso médio e ao nível de 6% ( $p<0,06$ ) para ganho de peso. Além dos benefícios sobre a parede intestinal, com reflexos na melhoria do desempenho proporcionado pelos ácidos orgânicos às aves, é possível supor que houve redução do desafio microbiológico pela ação antimicrobiana dos acidificantes. Resultados semelhantes foram obtidos por ROCHA (2008) ao estudar a ação de uma mistura de ácidos orgânicos sobre o desempenho e redução microbiana de frangos desafiados com *Salmonella Typhimurium*. Melhoria no desempenho das aves com a utilização de acidificantes na dieta de um a 21 dias também foram observados por SALAZAR (2006), no entanto, estes resultados discordam dos encontrados por VALE et al. (2004), nos quais na fase de um a 21 dias de idade, utilizando 0,5% de uma mistura de ácidos fórmico e propiônico nas rações não foram observadas diferenças no ganho de peso médio.

TABELA 5– Peso médio (PM), ganho de peso (GP), consumo de ração (CR), conversão alimentar (CA) e viabilidade (VB) durante o período de um a 21 dias de idade de frangos de corte inoculados com *Salmonella Enteritidis* e *Eimeria tenella* via oral e tratados com ração contendo ácidos orgânicos

Tratamento	PM	GP	CR	CA	VB
<b>Desafio</b>					
Controle	584,29a	543,94a	421,74a	1,63b	90,47ab
<i>Salmonella</i>	548,09b	507,44b	393,22a	1,67b	92,26a
<i>Salm.+Eim.</i>	459,67c	419,49c	313,20b	1,76a	88,09b
<b>Ac. Orgânico</b>					
Sem ácido	520,94b	480,34b	366,45	1,70	91,27
Com ácido	540,43a	500,23a	385,65	1,67	89,28
CV (%)	5,95	6,44	10,87	4,17	3,95
<b>P</b>					
Ácido	0,07	0,06	NS	NS	NS
Desafio	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,0002	0,026
Desaf.x Ácido	NS	NS	NS	NS	NS

Médias seguidas por letras minúsculas distintas na mesma coluna diferem entre si pelo Teste de Tukey ( $P<0,05$ ).

Incremento no desempenho das aves em fase de crescimento proporcionado pelo uso de ácidos orgânicos na ração também foram observados por DASKIRAM et al. (2004) e ZANELATO et al., (2008b) sendo similar ao uso de

antibióticos promotores de crescimento sobre o ganho de peso e a conversão alimentar de frangos de corte, podendo substituí-los. Os últimos autores sugeriram que os acidificantes auxiliam na manutenção da integridade intestinal por reduzirem os desafios microbiológicos sobre a mucosa, melhorando a capacidade de utilização do alimento pelos animais e reduzindo os gastos de manutenção dos tecidos intestinais.

Durante o período de um a 28 dias (Tabela 6), verificou-se melhor desempenho das aves dos grupos que receberam ácidos orgânicos na ração, mesmo quando desafiadas com os microrganismos em estudo. Observa-se também a ocorrência de interação entre agentes inoculados e a utilização de ácidos orgânicos para a variável consumo de ração aos 28 dias. Embora a conversão alimentar dos grupos que receberam a mistura de ácidos orgânicos na dieta tenha sido idêntica à dos grupos que não receberam a mistura de acidificantes, é possível observar que ocorreu uma melhora ( $p<0,05$ ) no ganho de peso e no peso médio das aves dos grupos tratados com a mistura de ácidos orgânicos na ração em relação aos grupos que não receberam os acidificantes. Concordando com os resultados encontrados neste estudo, MAIORKA et al. (2004), que utilizaram uma mistura de ácidos orgânicos na dieta de frangos de corte, também não observaram diferença ( $p<0,05$ ) na conversão alimentar entre os tratamentos.

TABELA 6 – Peso médio (PM), ganho de peso (GP), consumo de ração (CR), conversão alimentar (CA) e viabilidade (VB) durante o período de um a 28 dias de idade de frangos inoculados com *Salmonella Enteritidis* e *Eimeria tenella* via oral e tratados com ração contendo ácidos orgânicos

<b>Tratamento</b>	<b>PM</b>	<b>GP</b>	<b>CR*</b>	<b>CA</b>	<b>VB</b>
<b>Desafio</b>					
Controle	867,87a	827,52a	1.381,45	1,81b	82,73
<i>Salmonella</i>	841,65a	800,99a	1.400,78	1,89ab	83,92
<i>Salm.+Eim.</i>	729,97b	689,62b	1.243,78	1,96a	79,73
<b>Ac. Orgânico</b>					
Sem ácido	794,28b	753,57b	1.317,33	1,89	82,93
Com ácido	832,05a	791,85a	1.366,67	1,89	81,34
CV (%)	6,39	6,72	5,63	5,38	5,49
<b>P</b>					
Ácido	0,037	0,035	0,05	NS	NS
Desafio	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,003	NS
Desaf.x Ácido	NS	NS	0,06	NS	NS

Médias seguidas por letras minúsculas distintas na mesma coluna diferem entre si pelo Teste de Tukey ( $P<0,05$ ). \* Desdobramento da interação na Tabela 7.

A conversão alimentar foi pior nos grupos que receberam o desafio microbiológico (Tabelas 5 e 6) em razão da espoliação que os microrganismos causam na mucosa intestinal dos animais, o que leva à desidratação e pior aproveitamento dos nutrientes da dieta, com reflexos na piora da conversão alimentar. Sabe-se que as aves infectadas podem excretar *Salmonella* por um longo período sem que apresentem sinais clínicos, porém gerando prejuízos econômicos como perdas no ganho de peso, maior consumo de ração e pior conversão alimentar, como enfatizado por DELAZARI (2001) e LEITÃO (2001). Igualmente, conforme observado por MORAES (2006), a coccidiose causa grandes prejuízos econômicos, por causa da redução no desempenho zootécnico das aves e gastos com utilização de medicamentos com fim preventivo e curativo.

Da mesma forma que o observado neste estudo, BELLAVER et al. (2005), utilizando uma mistura de ácidos orgânicos contendo 80% de ácido lático, 10% de ácido acético e 10% de ácido orto-fosfórico e desafiando o lote de aves com uma inoculação oral de oocistos de Eimerias, obtiveram melhor desempenho

zootécnico das aves em relação ao grupo controle (ausência de aditivos) e semelhante à dieta com antibióticos usados como promotores de crescimento.

Ao avaliar a interação entre os agentes inoculados e a utilização de ácidos orgânicos (Tabela 7), nota-se que os grupos que receberam a mistura de ácidos orgânicos na ração apresentaram melhores valores de consumo de ração aos 28 dias de idade em relação aos grupos que não receberam a mistura de ácidos orgânicos, mesmo quando junto ao desafio com *Salmonella Enteritidis* e *Eimeria tenella*, denotando que os ácidos orgânicos adicionados à ração não alteraram sua palatabilidade. Neste estudo, o ganho de peso e o consumo de alimento melhoraram com o uso de ácidos orgânicos na ração, concordando com os resultados observados por VIOLA et al. (2008). Entretanto, os benefícios obtidos pelas aves deste estudo foram relacionados à melhora no ganho de peso, diferentemente das vantagens obtidas na conversão alimentar quando são utilizados antibióticos promotores de crescimento na dieta. Esses benefícios são confirmados por VAN IMMERSEEL et al.( 2006) ao afirmarem que a redução da carga de microrganismos é a principal função atribuída aos ácidos orgânicos, portanto, são esperados efeitos na prevenção de alterações digestivas e consequente melhoria na conversão alimentar, no ganho de peso e na digestibilidade, promovendo melhoria no desempenho e utilização de fósforo da dieta.

TABELA 7 – Desdobramento das interação agente inoculado e utilização de ácidos orgânicos para a variável consumo de ração (CR) aos 28 dias de idade em frangos de corte inoculados com *Salmonella Enteritidis* e *Eimeria tenella* via oral e recebendo ração com ácidos orgânicos

Desafio			
Ácido	Controle	Salmonella	Salm.+Eimeria
C/ Ácido	1422,81Aa	1382,35Aa	1294,85Ab
S/Ácido	1340,08Aa	1419,21Aa	1192,69Bb
CV(%)		5,63	

Médias seguidas por letras minúsculas (maiúsculas) distintas na mesma linha (coluna) diferem entre si pelo Teste de Tukey ( $P<0,05$ ).

Nota-se que da mesma forma que o observado aos 28 dias, durante o período de um a 35 dias (Tabela 8), não houve diferença ( $p>0,05$ ) nos valores de conversão alimentar entre os grupos que receberam ou não a mistura de ácidos

orgânicos na dieta. Os valores de conversão alimentar nos grupos desafiados com os microrganismos também mantiveram-se similares, entretanto o consumo de ração, o peso médio e o ganho de peso dos grupos que receberam desafio de *Eimeria tenella* e *Salmonella Enteritidis* foram piores que os valores observados para as mesmas variáveis nos grupos que não receberam desafio microbiológico e que receberam somente a bactéria. Estes resultados denotam que as infecções por *Salmonella* e *Eimeria* concomitantes promovem maior espoliação às aves com queda no desempenho e posterior prejuízo econômico, além de a infecção por eimeria promover persistência por tempo prolongado da salmonela no organismo da ave com aumento da suscetibilidade a outros patógenos, conforme já observado por BABA et al. (1982), QIN et al. (1995a e b) e BAINS (2005).

TABELA 8 – Peso médio (PM), ganho de peso (GP), consumo de ração (CR), conversão alimentar (CA) e viabilidade (VB) durante o período de um a 35 dias de idade de frangos inoculados com *Salmonella Enteritidis* e *Eimeria tenella* via oral e tratados com ração contendo ácidos orgânicos

Tratamento Desafio	PM	GP	CR	CA	VB
Controle	1.189,22a	1.148,86a	2.081,38a	2,12	76,19a
<i>Salmonella</i>	1.220,97a	1.180,31a	2.100,63a	2,08	76,19a
<i>Salm.+Eim.</i>	1.120,97b	1.080,63b	1.892,14b	2,07	71,42b
<b>Ac. Orgânico</b>					
Sem ácido	1.165,89	1.125,18	2.003,48	2,09	74,99
Com ácido	1.188,22	1.148,02	2.045,95	2,09	74,20
CV (%)	6,44	6,66	6,62	5,95	7,20
<b>P</b>					
Ácido	NS	NS	NS	NS	NS
Desafio	0,0096	0,0098	0,001	NS	0,05
Desaf.x Ácido	NS	NS	NS	NS	NS

Médias seguidas por letras minúsculas distintas na mesma coluna diferem entre si pelo Teste de Tukey ( $P<0,05$ ).

Neste estudo, as variáveis de desempenho aos 35 dias não apresentaram diferenças ( $p>0,05$ ) com a utilização ou não de ácidos orgânicos na dieta, corroborando os resultados obtidos por GARCIA et al. (2001) que, estudando a ação e o desempenho de dois ácidos orgânicos na ração de frangos de corte, também não encontraram diferenças entre os grupos tratados. Porém, RUNHO et al. (1997), RAHMANI & SPEER (2005) e SALAZAR (2006) verificaram

que nos grupos que não receberam ácidos orgânicos, a conversão alimentar foi pior. A variedade dos diferentes resultados observados nos trabalhos citados pode ser atribuída às diferentes condições de manejo e qualidade de rações e presença ou não de desafio microbiológico e de campo realizado em cada um deles. Os ácidos orgânicos estudados foram diferentes, em concentrações e dosagens desiguais entre um estudo e outro, incluindo as condições e apresentações totalmente diferentes. Todos esses fatores de certa forma justificam a ampla margem de variação nos resultados estudados.

A viabilidade criatória dos grupos desafiados com ambos os microrganismos estudados apresentaram diferença ( $p<0,05$ ) em relação aos grupos que não foram desafiados e que receberam desafio apenas da *Salmonella*, mostrando que os grupos que receberam *Salmonella Enteritidis* e *Eimeria tenella* apresentaram pior viabilidade criatória. A pior viabilidade criatória observada nos grupos desafiados com os dois microrganismos provavelmente é decorrente do desafio duplo imposto às aves. Resultados semelhantes foram encontrados por BELLAVER et al. (2005) que acidificaram dietas de frango de corte e obtiveram média de mortalidade 2% maior do que a convencional, sendo explicada pelo desafio com oocistos de *Eimerias* imposto às aves com 14 dias de idade.

#### **4.2. Biometria de baço**

Aos 14, 21, 28 e 35 dias, o baço de uma ave por parcela experimental foi colhido, pesado e realizado cálculo para o peso relativo deste órgão. A utilização de ácidos orgânicos na ração não influenciou no peso do baço nos períodos estudados (Tabela 9). SANTOS (2003) também não encontrou diferença ( $p>0,05$ ) no peso do baço de frangos de corte ao comparar dietas contendo diferentes aditivos promotores de crescimento, entre eles um acidificante, no período de um a 42 dias de idade, porém, este autor afirmou que o menor peso do baço verificado em dietas contendo acidificantes, ocorre pela ação da atividade antibiótica dos ácidos orgânicos que proporcionam modificações na microbiota e no metabolismo dos microrganismos intestinal, reduzindo a capacidade de fixação

de algumas bactérias patogênicas na parede do intestino e induzindo menor resposta imune.

TABELA 9- Peso relativo do baço aos 14, 21,28 e 35 dias de idade em frangos de corte inoculados com *Salmonella Enteritidis* e *Eimeria tenella* via oral e tratados com ração contendo ácidos orgânicos

<b>Tratamento</b>	<b>14dias</b>	<b>21dias</b>	<b>28dias</b>	<b>35dias</b>
<b>Desafio</b>				
Controle	0,12	0,12b	0,13	0,11
<i>Salmonella</i>	0,11	0,11b	0,13	0,11
<i>Salm.+Eim.</i>	0,13	0,18a	0,15	0,11
<b>Ac. Orgânico</b>				
Sem ácido	0,11	0,14	0,13	0,12
Com ácido	0,13	0,13	0,13	0,11
<b>CV (%)</b>	<b>35,57</b>	<b>24,85</b>	<b>23,50</b>	<b>17,74</b>
<b>P</b>				
Ácido	NS	<0,0001	NS	NS
Desafio	NS	NS	NS	NS
Desaf.x Ácido	NS	NS	NS	NS

Médias seguidas por letras minúsculas distintas na mesma coluna diferem entre si pelo Teste de Tukey ( $P<0,05$ ).

Nota-se que aos 21 dias de idade (Tabela 10) houve diferença ( $p<0,05$ ) para o peso do baço entre os grupos desafiados com *Salmonella Enteritidis* e *Eimeria tenella* e foi maior que os grupos desafiados somente com *Salmonella*. Tais resultados podem ser explicados pela provável atividade intensa do baço na renovação de células sanguíneas e na produção de linfócitos e anticorpos para defesa imunológica das aves contra os desafios impostos.

Diante de tais resultados e sabendo-se que a coccidiose pode exacerbar a infecção por *Salmonella* e ainda deixar as aves mais suscetíveis a outras infecções, BERCHIERI JR. (2000) afirmou que em casos de salmoneloses agudas, o baço apresenta congestão severa com exsudação fibrinosa dos sinusóides e posteriormente hiperplasia do sistema de células fagocitárias mononucleares.

AMAZONAS et al. (2008) avaliaram o peso do baço de aves com diferenças na suscetibilidade à infecção por *Eimeria tenella* e concluíram que o

tamanho do baço tem influência na resposta imune das aves. De acordo com os autores, o maior desenvolvimento relativo do baço da ave ocorre em aves de alta fertilidade selecionadas para postura, e estas aves são as mais resistentes à infecção por *Eimeria tenella*.

#### **4.3. pH do intestino delgado e ceco**

Aos 14, 21, 28 e 35 dias de idade, os conteúdos do intestino delgado e dos cecos foram colhidos e os valores de pH destas porções intestinais foram aferidos. Pelos resultados obtidos (Tabela 10), verifica-se que a adição de ácidos orgânicos na ração reduziu o pH do intestino delgado aos 14 dias de idade. Nos demais períodos estudados, a adição de acidificantes não interferiu no pH do intestino delgado e dos cecos.

Estes achados são condizentes com o mecanismo de ação dos ácidos orgânicos, visto que, o efeito antibacteriano dos acidificantes é maior na parte anterior do sistema digestório (inglúvio/moela) (GAUTHIER, 2002). ROCHA (2008) também não encontrou diferenças nos valores de pH dos diferentes segmentos do intestino delgado e do ceco utilizando a associação de ácido benzóico, fumárico e HMTBa em rações de frangos de corte. De acordo BELLAVER & SCHEUERMAN (2006), o principal efeito da redução da microbiota se dá no inglúvio e cecos, porém com a redução do pH ocorrendo principalmente até o divertículo de Meckel.

As diferenças observadas para valores de pH maiores nos grupos que foram desafiados (Tabela 10), provavelmente não estejam associados aos desafios imposto às aves. A variação de pH manteve-se dentro do padrão para frangos de corte que de acordo com GAUTHIER (2002) varia de 6,0 a 7,5 no intestino delgado e 6,5 a 8,0 nos cecos.

TABELA 10 – Valores de pH do intestino delgado e ceco aos 14,21,28 e 35 dias de idade em frangos de corte desafiados via oral com *Salmonella Enteritidis* e *Eimeria tenella* via oral e tratados com ração contendo ácidos orgânicos

<b>Tratamento Desafio</b>	<b>Intestino Delgado</b>			
	<b>14dias</b>	<b>21dias</b>	<b>28dias</b>	<b>35dias</b>
Controle	6,77	6,54	6,76a	6,36b
<i>Salmonella</i>	6,79	6,47	6,55ab	6,57a
<i>Salm.+Eim.</i>	6,90	6,27	6,54b	6,46ab
<b>Ac. Orgânico</b>				
Sem ácido	6,89a	6,48	6,66	6,48
Com ácido	6,75b	6,38	6,57	6,45
CV (%)	2,59	7,22	3,28	3,13
<b>P</b>				
Ácido	0,02	NS	NS	NS
Desafio	NS	NS	0,02	0,05
Desaf.x Ácido	NS	NS	NS	NS
<b>Ceco</b>				
<b>Tratamento Desafio</b>	<b>14dias</b>	<b>21dias</b>	<b>28dias</b>	<b>35dias</b>
	6,66b	6,60	6,98	6,55b
<i>Salmonella</i>	7,00a	6,83	6,98	6,87a
<i>Salm.+Eim.</i>	7,07a	6,75	6,89	7,00a
<b>Ac. Orgânico</b>				
Sem ácido	6,97	6,67	6,92	6,79
Com ácido	6,85	6,79	6,98	6,83
CV (%)	3,07	5,11	5,85	4,30
<b>P</b>				
Ácido	NS	NS	NS	NS
Desafio	0,0001	NS	NS	0,002
Desaf.x Ácido	NS	NS	NS	NS

Médias seguidas por letras minúsculas distintas na mesma coluna diferem entre si pelo Teste de Tukey ( $P<0,05$ ).

#### 4.4. Contagem de oocistos e escores de lesão

Aos 21 e 28 dias de idade, uma ave de cada parcela experimental foi sacrificada e os conteúdos dos cecos foram colhidos e feita a contagem de oocistos de *Eimeria tenella*. A adição de ácidos orgânicos na ração não influenciou estatisticamente a contagem de oocistos do conteúdo cecal, entretanto, nos grupos que receberam acidificantes na ração é possível verificar uma redução no número médio de oocistos do conteúdo cecal (Tabela 11).

TABELA 11 – Contagem de oocistos de *Eimeria tenella* por grama de conteúdo cecal aos 21 e 28 dias de idade (expressa em Log) em frangos de corte desafiados com *Salmonella Enteritidis* e *Eimeria tenella* via oral e tratados com ração contendo ácidos orgânicos

<b>Tratamento</b>	<b>21dias</b>	<b>28dias</b>
<b>Desafio</b>		
<i>Salmonella</i>	0,91b	0b
<i>Salmonella+Eimeria</i>	5,96a	3,57a
<b>Ac. Orgânico</b>		
Sem ácido	3,50	1,96
Com ácido	3,38	1,61
<b>CV (%)</b>	<b>38,31</b>	<b>48,98</b>
<b>P</b>		
Ácido	NS	NS
Desafio	<0,0001	<0,0001
Desaf.x Ácido	NS	NS

Médias seguidas por letras minúsculas distintas na mesma coluna diferem entre si pelo Teste de Tukey ( $P<0,05$ ).

Do mesmo modo, ocorreu considerável redução do número de oocistos das excretas dos grupos que receberam ácidos orgânicos na ração diferindo ( $p<0,05$ ) dos grupos que não receberam ácidos orgânicos aos sete dias após a inoculação dos oocistos de *Eimeria tenella* (Tabela 12).

TABELA 12 – Contagem de oocistos por grama de excretas após 5 a 11 dias da inoculação de *Eimeria tenella* (expressa em Log) em frangos de corte desafiados com *Salmonella Enteritidis* e *Eimeria tenella* via oral e tratados com ração contendo ácidos orgânicos

	<b>Dias após inoculação</b>						
<b>Ácido</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>
C/Ácido	3,01	3,32	4,83B	4,31	4,07	4,03	4,04
S/Ácido	3,08	3,67	5,11A	4,58	4,46	4,21	4,24
<b>CV (%)</b>	7,10	13,64	1,97	8,31	8,79	6,31	11,12

Médias seguidas por letras maiúsculas distintas na mesma coluna diferem entre si pelo Teste de Tukey ( $P<0,05$ ).

A maior contagem de oocistos nas excretas aos sete dias após a inoculação ocorreu provavelmente devido à maior eliminação de oocistos pelas fezes neste período. Estes resultados são condizentes com KAWAZOE (2000) quando citou que a infecção por *Eimeria tenella* se caracteriza por sangramento e espessamento da parede cecal no quinto e sexto dias após a infecção, com posterior eliminação de oocistos nas fezes, coincidindo com a maturação da segunda geração de esquizogonia.

A diminuição do número de oocistos nas excretas dos grupos que receberam ácidos orgânicos na dieta provavelmente ocorreu pelo benefício à saúde intestinal das aves destes grupos proporcionado pela ação dos acidificantes, com diminuição da invasão bacteriana na mucosa cecal. Entretanto, não foram encontrados dados na literatura pesquisada referentes ao uso de ácidos orgânicos no tratamento de eimerioses que respaldem estes resultados.

Aos 21 dias de idade os cecos de uma ave por parcela experimental foram observados quanto às lesões produzidas pela coccidiose e foram atribuídos escores de acordo com a gravidade da lesão observada (Tabela 13). Analisando-se os dados da Tabela 14, observa-se que houve diferença ( $p<0,05$ ) entre os tratamentos quando se avaliou as médias de lesões por coccidiose causadas pela *Eimeria tenella*.

TABELA 13 – Escore de lesões por coccidiose no ceco de frangos de corte aos 21 dias de idade desafiados com *Salmonella Enteritidis* e *Eimeria tenella* via oral e tratados com ração contendo ácidos orgânicos

<b>Tratamento</b>	<b>Escore de lesões</b>					<b>Média pelo KW</b>
	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	
SE+Et c/ ácido	0	2	4	0	0	4,83A
SE+Et s/ácido	0	0	4	2	0	8,16B
<b>P</b>	0,034					

Escore de lesão: 0 – sem lesões; 1 – lesões leves; 2 – lesões moderadas; 3 - lesões intensas; 4 – lesões máximas, irreversíveis. Médias seguidas por letras diferentes na mesma coluna diferem entre si pelo teste de Kruskal-Wallis (KW). SE – *Salmonella Enteritidis*; Et – *Eimeria tenella*.

As aves que receberam ração sem a adição de ácidos orgânicos apresentaram maior média de lesões pelo KW aos 21 dias de idade, quando comparado ao tratamento que recebeu adição de acidificantes na ração. A provável causa para esses resultados é a mesma que justificou a redução no número de oocistos por grama de fezes observada nos tratamentos que receberam a adição de ácidos orgânicos na ração, ou seja, a melhoria na saúde intestinal proporcionada pela ação benéfica dos acidificantes no trato gastrintestinal.

O mecanismo de ação dos ácidos orgânicos no controle da coccidiose nos monogástricos não foi encontrado na literatura consultada. Entretanto, os resultados são consistentes em relação ao uso de acidificantes na melhora da capacidade do sistema digestivo das aves em metabolizar e utilizar o alimento e na modulação da microbiota intestinal (MIN et al., 2007; SALAZAR et al., 2008).

#### 4.5. Pesquisa de *Salmonella*

Aos 14, 21, 28 e 35 dias, uma ave por parcela experimental foi eutanasiada e pesada. O baço e as tonsilas cecais foram colhidos, macerados e homogeneizados e submetidos à análise bacteriológica convencional para pesquisa de *Salmonella* (Tabela 14). O mesmo procedimento foi feito nas aves que morreram no decorrer do experimento. Das 16 aves dos grupos desafiados com *Salmonella Enteritidis*, foi identificada a presença de *Salmonella* em nove (56%) e destas nove aves, duas (22,2%) receberam acidificantes na ração e morreram até os 15 dias de idade; três (33,3%) não receberam acidificantes na

ração e quatro (44,4%) aves foram desafiadas com os dois patógenos em estudo e não receberam acidificantes na ração; uma ave destas quatro apresentou escore 4 de lesão por coccidiose. Nas sete aves, que morreram, dos grupos não desafiados não foi detectada presença de *Salmonella* nas amostras de órgãos analisadas.

Todas as aves dos grupos não desafiados com *Salmonella Enteritidis* que foram necropsiadas apresentaram negatividade para a presença da bactéria nos órgãos analisados.

**TABELA 14 – Presença (%) de *Salmonella Enteritidis* em frangos de corte com 14, 21, 28 e 35 dias de idade desafiados com *Salmonella Enteritidis* e *Eimeria tenella* via oral e tratados com ração contendo ácidos orgânicos**

<b>Tratamento/Idade</b>	<b>14dias</b>	<b>21dias</b>	<b>28dias</b>	<b>35dias</b>	<b>Total</b>
<b>Tonsilas cecais</b>					
<b>SE c/ ácidos</b>	4/6*(66%)	0/6(0%)	0/6(0%)	0/6(0%)	4/24(16,6%)
<b>SE s/ ácidos</b>	4/6(66%)	4/6(66%)	3/6(50%)	2/6(33%)	13/24(54,1%)
<b>SE+Et c/ ácidos</b>	2/6(33%)	2/6(33%)	1/6(16%)	1/6(16%)	6/24(25%)
<b>SE+Et s/ácidos</b>	2/6(33%)	5/6(83%)	4/6(66%)	3/6(50%)	14/24(58,3%)
<b>Baço</b>					
<b>SE c/ ácidos</b>	2/6(33%)	1/6(16%)	0/6(0%)	0/6(0%)	3/24(12,5%)
<b>SE s/ ácidos</b>	2/6(33%)	2/6(33%)	1/6(16%)	2/6(33%)	7/24(29,1%)
<b>SE+Et c/ ácidos</b>	0/6(0%)	1/6(16%)	1/6(16%)	0/6(0%)	2/24(8%)
<b>SE+Et s/ácidos</b>	4/6(66%)	3/6(50%)	2/6(33%)	2/6(33%)	11/24(45%)

\* Número de isolamentos positivos/número de amostras analisadas. SE - *Salmonella Enteritidis*; Et – *Eimeria tenella*.

Observa-se (Tabela 15) que a *Salmonella Enteritidis* utilizada experimentalmente como agente desafiante foi capaz de promover a invasão do baço e colonizar o ceco das aves, persistindo por maior tempo nos grupos que também foram desafiados com *Eimeria tenella*. Estes resultados encontram respaldo em QIN et al. (1995) quando afirmaram que a infecção das aves por *Eimeria tenella*, pode determinar a permanência de *Salmonella Enteritidis* (SE) no intestino por um período mais longo, quando comparado com a infecção isolada pela SE, resultando em maior período de exposição da SE nas excretas, levando à reingestão e reinfecção.

As aves desafiadas somente com *Salmonella* Enteritidis não apresentaram sinais clínicos, já quando desafiadas juntamente com *Eimeria tenella* os sinais clínicos observados entre 19 e 25 dias foram diarréia sanguinolenta, arrepiamento das penas e perda de peso, que provavelmente estavam relacionados à coccidiose e não à salmonelose. BERCHIERI JUNIOR & OLIVEIRA (2006) citaram que a presença de sinais clínicos da salmonelose é comum em aves jovens e ocasional em adultas, entretanto, relataram que os sorotipos pertencentes ao grupo das paratifóides colonizam o trato intestinal sem determinar qualquer sinal clínico, uma vez que não são específicos de aves, mas com adaptação suficiente para persistir no intestino destas, possibilitando a eventual contaminação das carcaças e dos ovos. KAWAZOE (2000) citou que a *E. tenella* parasita células da cripta e da lâmina própria do intestino destruindo-as, impedindo a renovação das vilosidades epiteliais, resultando na sua ausência e na perda contínua de fluidos, hemorragia, suscetibilidade a invasão de bactérias e subsequente formação de lesões necróticas. A mesma autora sugeriu também que a diminuição na absorção dos nutrientes e perda de peso estejam relacionadas com a rapidez com que os alimentos ingeridos passam pelo trato digestivo das aves infectadas.

A detecção da *Salmonella* no baço ocorre após a ingestão oral com colonização do sistema digestório da ave, especialmente os cecos e posteriormente penetra na mucosa epitelial, replicando dentro dos fagossomos, sobrevivendo assim dentro dos macrófagos e disseminando-se aos órgãos internos tais como o fígado, o baço e tecidos reprodutivos estabelecendo um quadro de infecção sistêmica (DESMIDT et al., 1997; BOHEZ et al., 2008).

Neste estudo, os grupos tratados com ácidos orgânicos (Tabela 15), obtiveram menores freqüências de isolamento de *Salmonella* Enteritidis no baço e tonsilas cecais do que os grupos que não receberam ácidos na ração, mesmo quando desafiados também com *Eimeria tenella*. Resultados semelhantes também foram encontrados por BASSAN et al. (2008) e ROCHA (2008), ao utilizarem acidificantes na ração para controlar *S. Enteritidis* e *S. Typhimurium* em frangos de corte, respectivamente. VAN IMMERSEEL et al. (2004) ao inocularem *Salmonella* Enteritidis em frangos de corte e posteriormente tratarem-

nos com ácido butírico, também observaram diminuição na invasão bacteriana nas células epiteliais do ceco.

MIN et al. (2007) justificaram que os ácidos orgânicos reduzem bactérias ácido-intolerantes como *Salmonella* sp., com melhoria da digestibilidade da energia e da proteína, provavelmente, pela redução da carga microbiana, diminuição na produção de aminas biogênicas e outros metabólitos, reduzindo o estímulo imune local, resultando na melhoria da saúde intestinal.

## 5. CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos e sob as condições que o experimento foi realizado, pode-se concluir que a adição de ácidos orgânicos (acético, fórmico e propiônico) na proporção de 4 kg por tonelada de ração pode ser recomendada, pois promoveu melhorias no desempenho zootécnico dos frangos de corte, beneficiando a saúde intestinal com reflexos positivos no controle da *Salmonella Enteritidis* juntamente com a *Eimeria tenella*.

## REFERÊNCIAS

1. ABEF. **Relatórios Anuais.** Disponível em: <http://www.abef.com.br/relatorios/rel2007/2008.zip>. Acessado em 11/02/2009.
2. ALLEN, P.C.; FETTERER, R.H. Recent advances in biology and immunobiology of *Eimeria* species and in diagnosis and control of infection with these coccidian parasites of poultry. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 15, n. 1, p. 58-65. Jan./ 2002.
3. AMAZONAS, E.A.; BAYER, D.V.; COSTA, C.A.F.; BRENTANO, L.; TREVISOLO, I.; FIGUEIREDO, E.A.P.; BARONI JUNIOR, W.; GIL, L.H.V.; BERTANI, G.R. Peso do baço em linhagens de aves com diferenças na suscetibilidade à infecção por *Eimeria tenella*. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**. Suplemento 10. p. 244, 2008.
4. ANDRADE, M. A. **Inoculação de *Salmonella* entérica subspécie entérica sorovar Enteritidis fagotipo 4 em ovos embrionados de duas linhagens de frango de corte.** 2005. 74f. Tese (Doutorado). Escola de Veterinária. Universidade Federal de Goiás, Goiânia, GO.
5. ANDREATTI FILHO, R. L.; SAMPAIO, H. M. Probióticos e Prebióticos: realidade na avicultura industrial moderna. **Revista Educação Continuada CRMV-SP**, São Paulo, v.2, fasc. 3, p. 59-71, 1999.
6. BABA, E., FUKATA, T.; ARAKAWA, A. Establishment and persistence of *Salmonella typhimurium* infection stimulated by *Eimeria tenella* in chickens. **Research in Veterinary Science**. Canadá, v. 33, p. 95-98. 1982.
7. BACK, A.; BELTRÃO, N.; LEÃO, J.A. Monitoria e Controle de Salmonela: Aspectos Práticos. In: VII SIMPÓSIO BRASIL SUL DE AVICULTURA. **Anais...** Chapecó - SC: Associação dos Médicos Veterinários do Oeste de Santa Catarina, 2006. p. 95 – 103.
8. BAINS, B.S. Coccidioses control reduces the risk of *Salmonella* contamination. **World Poultry**, v. 21, n. 9, p. 41-42. 2005.
9. BARRETO, M.S.R. **Uso de extratos vegetais como promotores de crescimento em frangos de corte.** 2007. 51f. Dissertação (Mestrado). Escola Superior de agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP.
10. BASSAN, J.D.L.; FLORES, M.L.; ANTONIAZZI, T.; BIANCHIII, E.; KUTTEL, J.; TRINDADE, M.M. Controle da infecção por *Salmonella* Enteritidis em frangos de corte com ácidos orgânicos e mananoligossacarídeo. **Ciência Rural**, v.38, n.7, out, 2008.
11. BAÚ, A.C.; CARVALHAL, J.B.; ALEIXO, J.A.G. Prevalência de *Salmonella* em produtos de frangos e ovos de galinha comercializados em Pelotas, RS, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.31, n. 2, p.303-307, 2001.

12. BELLAVER, C.; AVILA, V.S.; COLDEBELLA, A.; COSTA, C.A.F.; JAENISH, F.R.F.; ARMILIATO, N. Acidificação de dietas para frangos de corte com uma mistura de ácidos orgânicos de cadeia curta. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia (SBZ), 42. **Anais...** Goiânia: SBZ/UFG, 2005. CD ROM.
13. BELLAVER, C.; SCHEUERMANN, G. Aplicações dos ácidos orgânicos na produção de aves de corte. **AVESUI 2004**. Disponível em [http://www.cnpsa.embrapa.br/down.php?tipo=palestras&cod\\_arquivo=13](http://www.cnpsa.embrapa.br/down.php?tipo=palestras&cod_arquivo=13). Acessado em 23/01/2009.
14. BERCHIERI JÚNIOR, A. Salmoneloses Aviárias. In: MACARI, M.; BERCHIERI Jr, A. **Doenças das aves**. Campinas: FACTA, p. 185-196, 2000.
15. BERCHIERI JUNIOR, A.; ADACHI, S.Y.; CALZADA, C.T.; PAULILLO, A.C.; ITURRINO, R.P.S.; TAVECHIO, A.T. Farinha de carne como fonte de *Salmonella* em granja avícola. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.9, n. 1/2, p. 9-12, 1989.
16. BERCHIERI JUNIOR, A.; OLIVEIRA, G.H. Salmoneloses aviárias. In: ANDREATTI FILHO, R.L. **Saúde aviária e doenças**. São Paulo: Roca, 2006. p.96-111.
17. BERNDT, A.; WILHELM, A.; JUGERT, C.; PIEPER, J.; SACHSE, K.; METHNER, U. Chicken Cecum Immune Response to *Salmonella enterica* Serovars of Different Levels of Invasiveness. **Infection and immunity**. Dezembro, v. 75, n. 12, 2007, p. 5993–6007.
18. BOHEZ, L.; GANTOIS, I.; DUCATELLE, R.; PASMANS, F.; DEWULF, J.; HAESEBROUCK, F.; VAN IMMERSEEL, F. The *Salmonella* pathogenicity island 2 regulator *ssrA* promotes reproductive tract but not intestinal colonization in chickens. **Veterinary Microbiology**, v.126, p.216-224. 2008.
19. BOLELI, I.C.; MAIORKA, A.; MACARI, M. Estrutura funcional do trato digestório. In: MACARI, M.; FURLAN, L.R.; GONZÁLES, E. **Fisiologia Aviária Aplicada a Frangos de Corte**. Jaboticabal: FUNEP/UNESP, 2002, p. 75-92.
20. BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003. **Oficializa os métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água**. Diário Oficial da União. Brasília, Seção 1, p.14, em 18/09/2003.
21. BRAZ, D.B. **Acidificantes como alternativa aos antimicrobianos melhoradores do desempenho de leitões na fase de creche**. 2007. 78f. Dissertação (Mestrado). Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP.
22. CALAÇA, G.M.; OLIVEIRA, A.P.; BASTOS, E.R.; ANDRADE, M.A.; CAFÉ, M.B.; SILVA, O.C. Emprego de cloridrato de lidocaína 2% por via intratecal na eutanásia de aves de experimentação. In: CONPEEX, CONGRESSO DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO, 5. **Anais...** Goiânia, UFG, 2008. CD ROM.

23. CAMPOS, M.P.A.; RABELLO, C.B.V.; SAKOMURA, N.K.; LONGO, F.A.; KUANA, S.; GUT, F. Utilização do ácido fumárico em dietas de frango de corte com baixa energia metabolizável. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, Maringá, v. 26, n. 1, p. 35-39, 2004.
24. CHAPMAN, H.D. Anticoccidial drugs and their effects upon the development of immunity to *Eimeria* infections in poultry. **Avian Pathology**, v. 28, n. 5, p. 521-535. 1999.
25. CHAPMAN, H.D. Origins of coccidiosis research in the fowl - the first fifty years. **Avian diseases**, Athens, v. 47, n. 1, p. 1-20. 2003.
26. CHAPMAN, H.D.; CHERRY, T.E.; DANFORTH, H.D.; RICHARD, G.; SHIRLEY, M.W., WILLIAMS, R.B. Sustainable coccidiosis control in poultry production: the role of live vaccines. **International Journal for Parasitology**, v. 32, n. 6, p. 617-629. 2002.
27. CHAVES, L.S. **Frangos de corte de crescimento lento e rápido, oriundos de ovos inoculados com probiótico, submetidos a desafio com *Salmonella Enteritidis* e jejum após a eclosão.** 2007. 52f. Dissertação (Mestrado). Escola de Veterinária. Universidade Federal de Goiás. Goiânia, GO.
28. CONY, A. V.; ZOCCHE, A. T. Equipamentos para aquecimento e refrigeração. In: MENDES, A. A.; NÄÄS, I. A.; MARCARI, M. **Produção de Frango de Corte**. Campinas: FACTA, 2004, p.117.
29. COSTA, C.A.F. Controle da coccidiase: possíveis avanços. In: SIMPÓSIO DE SANIDADE AVÍCOLA da UFSM, 3.,2002. Santa Maria. **Anais...**, Santa Maria: UFSM, 2002. p.36-47.
30. DASKIRAN, M.; TEETER, R.G.; VANHOOSER, S.L.; GIBSON, M.L.; ROURA, E. 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. 2004.
31. DELAZARI, I. Abate e processamento de carne de aves para garantia da qualidade. In: CONFERÊNCIA APINCO 2001 DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, Campinas, **Anais...** Campinas: FACTA, 2001, p. 191-203.
32. DESMIDT, M.; DUCALLETE, R.; HAESEBROUCK, F. Pathogenesis of *Salmonella Enteritidis* phage types four after experimental infection of young chickens. **Veterinary Microbiology**, v.56, p.99-109. 1997.
33. DIBNER, J.J.; BUTTIN, P. Use of organic acids as a model to study the impacto f gut microflora on nutrition and metabolism. **Journal of Applied Poultry Research**, Champaign, v. 11, p.453-463, 2002.
34. FAVERO, A.; HUBER, M.S.; OLIVEIRA, R.S.; BUENO, I.J.M.; MAIORKA, A.; BORGES, S.A. Efeito de diferentes inclusões de acidificante na ração sobre o

- desempenho de frangos de corte. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, Campinas. Suplemento 10. p. 107, 2008.
35. FERNÁNDEZ, A.; LARA, C.; LOSTE, A.; CALVO, S.; MARCA, M.C. Control of *Salmonella* Enteritidis phage type 4 experimental infection by fosfomicin in newly hatched chicks. **Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Disease**, v.24, p. 207-216, 2001.
36. FERREIRA, A.P.; ASTOLFI-FERREIRA, C.S. Medidas inespecíficas para o controle bacteriano. In: SIMPÓSIO BRASIL SUL DE AVICULTURA, 6. **Anais...** Chapecó – SC: 2006. p. 56 – 69.
37. FRANÇA, M.I. **Uso de formiato de sódio e potássio em rações para frangos**. 2008. 53f. Dissertação (Mestrado). Setor de Ciências Agrárias. Universidade Federal do Paraná. Curitiba.
38. FRANCO, S.Z.C.; NEVES, A.C.R.S.; BORGES, M.S.; GUSTIN, P.C.; FREITAS, A.G.; SILVA, P.L. Efeitos de promotores de crescimento sobre o desempenho de frangos de corte no verão. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, Campinas. Suplemento 8. p. 139, 2006.
39. GARCIA, R.G.; ARIKI, J.; MORAES, V.M.B.; KRONKA, S.N.; BORGES, S.A.; MURATA, L.S.; CAMPOS, L.A. 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, 2000.
40. GARRIDO, M.N.; SKJERVHEIM, M.; OPPEGAARD, H.; SORUM, H. Acidified litter benefits the intestinal flora balance of broiler chickens. **Applied and Environmental Microbiology**, v.70, n. 9, p. 5208-5213. 2004.
41. GAST, R.K. Parathyphoid infections. In: SAIF, Y.M.; BARNES, H.J.; FADLY, A.M.; GLISSON, J.R.; McDougald, L.R.; SWAYNE, D.E. **Diseases of Poultry**. Iowa State university Press, p. 583-599. 2003. CD ROM.
42. GAUTHIER, R. La Salud Intestinal: Clave de la productividad (El caso de los Ácidos Orgânicos). In: Precongreso Científico Avícola IASA, XXVII Convencion ANECA-WPDC. Puerto Vallarta, Jal. México, 2002. **Anais eletrônicos...** [online] Disponível em: <http://www.etsia.upm.es/fedna/capitulos/00CAP8.pdf>. Acesso em: 23/01/2009.
43. GEORGIA POULTRY LABORATORY. **Monitoring and detection of *Salmonella* in poultry and poultry environments**. Oakwood: Georgia Poultry Laboratory, 1997.293p. [workshop].
44. GERMANO, P.M.L.; GERMANO, M.I.S. Agentes bacterianos de toxinfecções. In: **Higiene e vigilância sanitária de alimentos**. Barueri, SP: Manole, 2008. p. 317-323.
45. GONZALES, E. **Aditivos para rações de aves e suínos**. Botucatu, 2004, 134p. [Apostila].

46. GUIMARÃES JÚNIOR, J. S.; BOGADO, A.L.G.; CUNHA, T.C.B.; GARCIA, J.L. *In vitro* evaluation of the disinfection efficacy on *Eimeria tenella* unsporulated oocysts isolated from broilers. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**. São Paulo, v. 16, n. 2, p. 67-71, 2007.
47. INNES, E.A., VERMEULEN, A.N. Vaccination as a control strategy against the coccidial parasites *Eimeria*, *Toxoplasma* and *Neospora*. **Parasitology**, v. 133, p. 145-168. 2006.
48. ITO, N. M. K; MIYAJI, C. I.; LIMA, E. A.; OKABAYASHI, S. O. Enfermidades do Sistema Nervoso e órgãos do sentido. In: BERCHIERI JR, A.; MACARI, M. **Doenças das Aves**. Editora FACTA: Campinas, SP. p.51-52. 2000.
49. ITO, N. M. K; MIYAJI, C. I.; LIMA, E. A.; OKABAYASHI, S. O. Saúde gastrointestinal, manejo e medidas para controlar as enfermidades gastrointestinais. In: MENDES, A.A.; NAAS, I.A.; MACARI, M. **Produção de frangos de corte**. Editora FACTA: Campinas, SP. p.205-260. 2004.
50. JOHNSON, J.; REID, W.M. Anticoccidial drugs: lesion scoring techniques in battery and floor-pen experiments with chickens. **Experimental Parasitology**, v.28, p. 30-34, 1970.
51. KAWAZOE, U. Coccidiose. In: MACARI, M.; BERCHIERI Jr, A. **Doenças das aves**. Campinas: FACTA, p. 391-405, 2000.
52. KITANDU, A.; JURANOVA, R. Progress in control measures for chicken coccidiosis. **Acta Veterinaria BRNO**, v. 75, p. 265-276. 2006.
53. LANGHOUT, P. Alternativas ao uso de quimioterápicos na dieta de aves: a visão da indústria e recentes avanços. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2005. Santos, **Anais...** Santos: FACTA, 2005. p. 21-33.
54. AGROSS tecnologia. Boletim técnico. **Saúde entérica em frangos de corte**. Organização: LAUANDOS, I.P. Novembro, 2006. p. 1-6.
55. LEITÃO, M.F.F. Qualidade e segurança alimentar em produtos avícolas. In: CONFERÊNCIA APINCO 2001 DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, Campinas, **Anais...** Campinas: FACTA. p. 181-190, 2001.
56. MAIORKA, A.; BOLELI, I.C.; MACARI, M. Desenvolvimento e reparo da mucosa intestinal. In: MACARI, M.; FURLAN, L.R.; GONZÁLES, E. **Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte**. Jaboticabal: FUNEP/UNESP, 2002.p. 113-120.
57. MAIORKA, A.; SANTIN, A.M.E.; BORGES, S.A.; OPALINSKI, M.; SILVA, A.V.F. Emprego de uma mistura de ácidos fumárico, lático, cítrico e ascórbico em dietas iniciais de frangos de corte. **Archives of Veterinary Science**, v. 9, n. 1, p. 31-37, 2004.

58. McDougald, L.R. Coccidiosis. In: SAIF, Y.M.; Barnes, H.J.; FADLY, A.M.; GLISSON, J.R.; McDouglad, L.R.; SWAYNE, D.E. **Diseases of Poultry**. Iowa State University Press, p. 974-991. 2003. CD ROM.
59. MILES, R. D.; BUTCHER, G. D.; HENRY, P. R.; LITTELL, R. C. Effect of antibiotic growth promoters on broiler performance, intestinal growth parameters, and quantitative morphology. **Poultry Science**, v. 85, p. 476-485, 2006.
60. MIN, J. S.; LEE, S. O.; JANG, A.; JO, C.; LEE, M. Control of Microorganisms and Reduction of Biogenic Amines in Chicken Breast and Thigh by Irradiation and Organic Acids. **Poultry Science**, v. 86, p. 2034-2041. 2007.
61. MORAES, J. Coccidiose aviária - atualidades no controle. In: V SIMPÓSIO DE SANIDADE AVÍCOLA da UFSM, 2006. Santa Maria. **Anais...**, Santa Maria: UFSM, 2006, p. 105-112.
62. MORRIS, G.M.; GASSER, R.B. Biotechnological advances in the diagnosis of avian coccidiosis and the analysis of genetic variation in *Eimeria*. **Biotechnology Advances**, v. 24, n. 6, p. 590-603. 2006.
63. OSTERMANN, D.; SANFELICE, A.M.; VIEIRA, S.L.; VIOLA, E.S. Metabolismo e bases conceituais para a ação benéfica de ácidos orgânicos para frangos de corte. **Ave World**, Paulínia. Ano 3, n.15, p. 28-32, 2005.
64. PARTANEN, K. H.; MROZ, Z. Organic acids for performance enhancement in pig diets. **Nutrition Research Reviews**, Wallingford, v. 12, n. 1, p. 117-145, June 1999.
65. PINARD VAN DER LAAN, M.H.; MONVOISIN, J.L.; PERY, P.; HAMET, N.; THOMAS, M. Comparison of outbred lines of chickens for resistance to experimental infection with coccidiosis (*Eimeria tenella*). **Poultry Science**, v. 77, p. 185-191, 1998
66. QIN, Z.R., ARAKAWA, A.; BABA, E.; FUKATA, T.; MIYAMOTO, T.; SASAI, K. *Eimeria tenella* infection induces recrudescence of previous *Salmonella Enteritidis* infection in chickens. **Poultry Science**, v. 74, p. 1786-1792, 1995b.
67. QIN, Z.R., FUKATA, T., BABA, E.; ARAKAWA, A. Effect of *Eimeria tenella* infection on *Salmonella Enteritidis* infection in chickens. **Poultry Science**, v. 74, p. 1-7, 1995a.
68. QUINN, P.J.; MARKEY, B.K.; CARTER, M.E.; DONNELLY, W.J.; LEONARD, F.C. **Microbiologia veterinária e doenças infecciosas**. Porto Alegre: Artmed, 2005. p. 115-130.
69. RAHMANI, H.R.; SPEER, W. Natural Additives Influence the Performance and Humoral Immunity of Broilers. **International Journal of Poultry Science**, v.4, n. 9, p. 713-717, 2005.

70. REVOLLEDO, L.; FERREIRA, A.J.P. Anticoccidianos. In: PALERMO-NETO, J.; SPINOSA, H.S.; GORNIAK, S.L. **Farmacologia aplicada à avicultura**. São Paulo: ROCA. p. 189-200. 2005.
71. REVOLLEDO, R. **Estudo da resposta immune, da colonização e invasão por *Salmonella entérica* subesp *entérica* sorotipo Typhimurium Nal em frangos de corte, tratados com glucano, probióticos e produtos de exclusão competitiva**. 2005. 121f. Tese (Doutorado). Faculdade de medicina veterinária e zootecnia. Universidade de São Paulo. São Paulo.
72. REZENDE, C. S. M.; MESQUITA, A. J.; ANDRADE, M. A.; STRINGHINI, J. H.; CHAVES, L. S.; MINAFRA, C. S.; LAGE, M. E. Ácido acético em rações de frangos de corte experimentalmente contaminadas com *Salmonella Enteritidis* e *Salmonella Typhimurium*. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.9, n.3, p. 516-528, jul/set. 2008.
73. REZENDE, C.S.M. **Ácidos orgânicos em rações experimentalmente contaminadas com *Salmonella Enteritidis* e *Salmonella Typhimurium***. 2006. 94f. Tese (Doutorado). Escola de Veterinária. Universidade Federal de Goiás. Goiânia, GO.
74. RICKE, S.C. Perspectives on the use of organic acids and short chain fatty acids as antimicrobials. **Poultry Science**, Savoy, v.82, p.632-639, 2003.
75. RIZZO, P.V. **Misturas de extratos vegetais como alternativas ao uso de antibióticos melhoradores do desempenho nas dietas de frangos de corte**. 2008. 69f. Dissertação (Mestrado). Escola Superior de agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP.
76. ROCHA, T.M. **Controle de *Salmonella Typhimurium* em frangos de corte utilizando composto com ácido benzóico, fumárico e 2-hidroximetiltiobutanóico**. 2008. 64f. Dissertação (Mestrado). Escola de Veterinária. Universidade Federal de Goiás. Goiânia, GO.
77. ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; DONZELE, J.L., GOMES, P.C.; OLIVEIRA, R.F.; LOPES, D.C.; FERREIRA, A.S.; BARRETO, S.L.T. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigência nutricional**. Viçosa: UFV – Imp. Univ., 2005, 187p.
78. RUNHO, R.C; SAKOMURA, N.K.; KUANA, S.; BANZATTO, D.; JUNQUEIRA, O.M.; STRINGHINNI, J.H. Uso do ácido orgânico (ácido fumárico) nas rações de frango de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 26, n.6, p. 1183-1191, 1997.
79. SAAVEDRA, J. M.; TSCHERMIA, A. Human studies with probiotics and prebiotics: clinical implications. **British Journal Nutrition**, v. 87, p. 241-246. 2002.
80. SALAZAR, P.C.R. **Efeito dos ácidos lático e butírico, isolados e associados, sobre o desempenho, imunidade humoral e morfometria**

**intestinal de frangos de corte.** 2006. 72f. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga.

81. SALAZAR, P.C.R.; ALBUQUERQUE, R.; TAKEARA, P.; TRINDADE NETO, M.A.; ARAÚJO, L.F. Efeito dos ácidos lático 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, 2008.
82. SAMPAIO, I. B. M. **Estatística aplicada à experimentação animal**. Belo Horizonte: Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, 3 ed. 264p. 2007.
83. SANTOS, E.C. **Aditivos Alternativos ao uso de antibiótico na alimentação de frangos de corte**. 2003. 226f. Tese (Doutorado). Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
84. SAS®. 2000. **User's Guide: Statistics**, Version 10<sup>th</sup>. SAS Institute Inc., Cary, NC.
85. SAULLU, J. Saúde intestinal das aves e suas interações. 2007. Disponível em:  
[http://www.nucleoestudo.ufla.br/necta/novo/palestras/saude\\_intestinal\\_da\\_aves\\_e\\_suas\\_iteracoes.pdf](http://www.nucleoestudo.ufla.br/necta/novo/palestras/saude_intestinal_da_aves_e_suas_iteracoes.pdf). Acessado em: 23/01/2009.
86. SCAPINELLO, C.; FARIA, H.G.; FURLAN, A.C.; MICHELAN, A.C.; SANTOLIN, M.L.R. Efeito do uso de oligossacarídeo manose e acidificantes em rações com alto teor de amido, para coelhos em crescimento. **Acta Scientiarum**, v.23, n.4, p. 1039-1043, 2001.
87. SILVA, E.N.; TEIXEIRA, A.S.; FIALHO, E.T.; BERTECHINI, A.G.; SOUZA, P.R.I. Efeitos dos probióticos e antibióticos sobre as vilosidades e pH do trato gastrointestinal de frangos de corte. **Ciência Agrotécnica**, Lavras, v.24 (Edição Especial), p.163-173, dez., 2000.
88. STRYER, L. **Bioquímica**. 3 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1992. 881p.
89. TANNOCK, G. W. Studies of the intestinal microflora: a prerequisite for the development of probiotics. **International Dairy Journal**, Huntington, v.8, n. 5/6, p.527-533, 1998.
90. TEIXEIRA, A. S. **Alimentos e alimentação dos animais**. 4. ed. Lavras: UFLA/FAEPE, 1997. 402 p.
91. TURNER, A. K.; LOVELL, M. A.; HULME, S. D.; ZHANG-BARBER, LI; BARROW, P. A. Identification of *Salmonella typhimurium* Genes Required for Colonization of the Chicken Alimentary Tract and for Virulence in Newly Hatched Chicks. **Infection and immunity**, v. 66, n. 5, maio 1998, p. 2099–2106.

92. VALE, M.M.; MENTEN, J.F.M.; MORAIS, S.C.D.; BRAINER, M.M.A. Mixture of formic and propionic acid as additives in broiler feeds. **Science Agricoly**, v.61, n.4, p. 371-375, 2004.
93. VAN IMMERSEEL, F.; FIEVES, V.; BUCK, J.; PASMANS, F.; MARTEL, A.; HAESEBROUCK, F.; DUCATELLE, R. Microencapsulated short-chain fatty acids in feed modify colonization and invasion early after infection with *Salmonella* Enteritidis in young chickens. **Poultry Science**, v. 83, p.69-74, 2004.
94. VAN IMMERSEEL, F.; RUSSELL, J. B.; FLYTHE, M. D.; GANTOIS, I.; TIMBERMONT, L.; PASMANS, F.; HAESEBROUCK, F. ; DUCATELLE, R. The use of organic acids to combat *Salmonella* in poultry: a mechanistic explanation of the efficacy. **Avian Pathology**, junho,v. 35, n.3, p.182-188. 2006.
95. VETANCO. **Uniwall® - Aditivo conservante**. Vetanco do Brasil Importação e exportação Ltda. Registro no MAPA sob nº. SC-25012 20008. Chapecó - SC. 2007.
96. VIOLA, E.S.; VIEIRA, S.L. Ácidos orgânicos e suas misturas em dietas de suínos. In: II SIMPÓSIO SOBRE MANEJO E NUTRIÇÃO DE AVES E SUÍNOS. **Anais...** Cascavel: CBNA, p. 153-182. 2004.
97. VIOLA, E.S.; VIEIRA, S.L. Suplementação de acidificantes orgânicos e inorgânicos em dietas para frangos de corte: desempenho zootécnico e morfologia intestinal. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, n.4, p. 1097-1104, 2007.
98. VIOLA, E.S.; VIEIRA, S.L.; TORRES, C.A.; FREITAS, D.M.; BERRES, J. desempenho de frangos de corte sob suplementação com ácidos lático, fórmico, acético e fosfórico no alimento ou na água. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, n. 2, p. 296-302. 2008.
99. WELTZIEN, E. M. Effectes of feed form on gut microflora in broilers. **Poultry Industry Council**, Ontario, v.1, n.5, 2003.
100. WILLIAMS, R.B. Fifty years of anticoccidial vaccines for poultry (1952-2002). **Avian diseases**, v.46, p. 775-802. 2002.
101. ZANELATO, E.A.; HUBER, M.; FAVERO, A.; MEURER, R.; JAPP, A.; BORGES, S.A. Ácidos orgânicos como substitutos a antibióticos promotores de crescimento para frangos de corte na fase de crescimento. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**. Suplemento 10. p. 80, 2008b.
102. ZANELATO, E.A.; OLIVEIRA, A.C.C.; FAVERO, A.; OLIVEIRA, R.; HUBER, M.; BORGES, S.A. Utilização de ácidos orgânicos em dietas iniciais para frangos de corte. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**. Suplemento 10. p. 81, 2008a.