



UNIVERSIDADE  
ESTADUAL DE LONDRINA

---

MAURÍCIO DE ALMEIDA

**EFEITO DA UTILIZAÇÃO DE ÁCIDOS ORGÂNICOS SOBRE  
O DESEMPENHO, QUALIDADE DE CARNE NO CONTROLE  
DA INFECÇÃO DE *Salmonella* ENTERITIDIS EM FRANGOS  
DE CORTE**

---

Londrina  
2017

MAURÍCIO DE ALMEIDA

**EFEITO DA UTILIZAÇÃO DE ÁCIDOS ORGÂNICOS SOBRE  
O DESEMPENHO, QUALIDADE DE CARNE NO CONTROLE  
DA INFECÇÃO DE *Salmonella* ENTERITIDIS EM FRANGOS  
DE CORTE**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em  
Ciência Animal da Universidade Estadual de  
Londrina como requisito parcial para a obtenção do  
título de Doutor.

Orientador : Prof. Dr. Alexandre Oba.

Londrina  
2017

### Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

A447ef Almeida, Mauricio de.

Efeito da utilização de ácidos orgânicos sobre o desempenho, qualidade de carne e controle da infecção de Salmonella Enteritidis em frangos de corte / Murício de Almeida. - Londrina, 2017.

62 f.: il.

Orientador: Alexandre Oba.

Tese (Doutorado em Ciência Animal) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, 2017.

Inclui bibliografia.

1. Frango de corte - Alimentação e rações. - Teses. 2. Ácidos orgânicos. - Teses. 3. Carne de ave - Qualidade. - Teses. 4. Salmonella enteritidis. - Teses. I. Oba, Alexandre. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal. III. Título.

CDU 636.5

MAURÍCIO DE ALMEIDA

**EFEITO DA UTILIZAÇÃO DE ÁCIDOS ORGÂNICOS SOBRE O  
DESEMPENHO, QUALIDADE DE CARNE NO CONTROLE DA  
INFECÇÃO DE *Salmonella* ENTERITIDIS EM FRANGOS DE CORTE**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em  
Ciência Animal da Universidade Estadual de  
Londrina como requisito parcial para a obtenção do  
título de Doutor.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Oba  
Universidade Estadual de Londrina - UEL

---

Profa. Dra. Ana Angelita Sampaio Baptista  
Universidade Estadual de Londrina - UEL

---

Prof. Dr. Caio Abércio Silva  
Universidade Estadual de Londrina - UEL

---

Prof. Dr. Pedro Alves de Souza  
Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita  
Filho - UNESP

---

Profa. Dra. Sandra Maria Simonelli  
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Londrina, 01 de Março de 2017.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus pela força para conquista deste título.

Aos meus pais e irmão por sempre estarem ao meu lado.

Aos amigos mais próximos por todos os momentos que passamos juntos, que certamente me fizeram uma pessoa melhor.

Ao meu orientador, professor Dr. Alexandre Oba, pela dedicação, apoio, conhecimento transmitido.

As professoras Dr<sup>a</sup>. Ana Angelita Sampaio Baptista e Dr<sup>a</sup>. Solange de Paula Ramos pela colaboração neste trabalho.

Aos colegas do grupo de pesquisa GENAPET por toda a colaboração e ajuda.

A Universidade Estadual de Londrina por toda a formação profissional que recebi desta instituição.

Ao programa de Pós Graduação em Ciência animal por todo o crescimento profissional que este me proporcionou.

A todos que colaboraram de maneira direta e indireta para realização deste trabalho e conquista deste título.

ALMEIDA, Maurício. **Efeito da utilização de ácidos orgânicos sobre o desempenho, qualidade de carne e controle da infecção de *Salmonella* Enteritidis em frangos de corte.** 2017. 62 f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2017.

## RESUMO

Os ácidos orgânicos são apontados com alternativa ao uso dos antibióticos, além disso, são capazes de minimizar a infecção causada pela *Salmonella* spp. Desta forma, foram realizados três experimentos com o objetivo de verificar o efeito da utilização de ácidos orgânicos sobre o desempenho, qualidade da carne e controle de *Salmonella* Enteritidis em frangos de corte. No experimento de desempenho e no de digestibilidade os tratamentos utilizados foram: ração contendo 10 mg de avilamicina / kg de ração (controle positivo) e diferentes níveis de adição de ácidos orgânicos (0, 0,50, 0,75 e 1,5 g/kg de ração). No experimento de desempenho e no de digestibilidade foram utilizados 1040 e 240 frangos de corte, respectivamente. O delineamento utilizado no experimento de desempenho foi em blocos casualizados, enquanto que no de digestibilidade foi inteiramente casualizado. Os tratamentos utilizados no experimento com desafio com *Salmonella* Enteritidis foram: controle negativo (sem suplementação de ácidos orgânicos e sem inoculação de *Salmonella* Enteritidis), controle positivo (sem suplementação de ácidos orgânicos e com inoculação de *Salmonella* Enteritidis) e os demais tratamentos receberam diferentes níveis de adição de ácidos orgânicos (0,5, 0,75 e 1,5 g/kg de ração) e inoculado com *Salmonella* Enteritidis ( $1,2 \times 10^5$ ). Foram utilizados 90 reprodutores de frangos de corte distribuídos em delineamento inteiramente casualizado. Os resultados mostraram que frangos de corte alimentados com 0 e 0,50 g/kg de ração da mistura de ácidos orgânicos apresentaram menor ganho de peso em relação ao controle positivo. Contudo, frangos alimentados com 0,75 g/kg de ração de ácidos orgânicos apresentaram menor altura de vilosidades do jejuno e os alimentados com 0,50 g/kg de ração de ácidos orgânicos apresentaram menor profundidade de cripta em relação ao controle positivo. Frangos alimentados com 0,75 g/kg de ração de ácidos orgânicos apresentaram maior valor de L e perdas de água por cocção. O coeficiente de digestibilidade da matéria mineral foi menor para o controle positivo em relação aos demais tratamentos. Não foi observado efeito da utilização de ácidos orgânicos na contagem de *Salmonella* Enteritidis nos cecos e no número de aves positivas para o *pool* de órgãos coletados. A utilização de níveis mais elevados de ácidos orgânicos (0,75 ou 1,50 g kg<sup>-1</sup> de ração) pode substituir os antibióticos, uma vez que apresentaram desempenho semelhante ao controle positivo e melhor digestibilidade de minerais, sem alterar a qualidade da carne, contudo não foi capaz de minimizar a infecção causada por *Salmonella* Enteritidis.

**Palavras chaves:** Microrganismos. Vilosidades intestinais. Parâmetros zootécnico.

ALMEIDA, Maurício. **Effect of the use of organic acids on the performance, meat quality and control of Salmonella Enteritidis infection in broiler chickens.** 2017. 63 p. Thesis (Doctoral degree in Animal Science) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina 2017.

## ABSTRACT

Organic acids are indicated with an alternative to the use of antibiotics, in addition, they are able to minimize the infection caused by *Salmonella* spp. Thus, three experiments were carried out to verify the effect of the use of organic acids on the performance, meat quality and control of *Salmonella* Enteritidis in broilers. In the performance and digestibility experiments, the treatments used were: ration containing 10 mg avilamycin / kg of feed (positive control) and different levels of addition of organic acids (0, 0,50, 0,75 and 1,5 g / Kg of feed). In the performance and digestibility experiments, 1040 and 240 broilers were used, respectively. The experimental design was in a randomized block design, while the digestibility was completely randomized. The treatments used in the experiment with challenge with *Salmonella* Enteritidis were: negative control (without organic acid supplementation and without inoculation of *Salmonella* Enteritidis), positive control (without supplementation of organic acids and with inoculation of *Salmonella* Enteritidis) and the other treatments received different levels Of organic acids (0.5, 0.75 and 1.5 g / kg of feed) and inoculated with *Salmonella* Enteritidis ( $1.2 \times 10^5$ ). Ninety breeders of broilers distributed in a completely randomized design were used. The results showed that broilers fed 0 and 0.50 g / kg of ration of the organic acid mixture presented lower weight gain than the positive control. However, chickens fed 0.75 g / kg of organic acid feed showed lower jejunal villus height and those fed with 0.50 g / kg of organic acid feed presented lower crypt depth than the positive control. Chickens fed 0.75 g / kg of organic acid feed presented higher L value and water loss per cooking. The coefficient of digestibility of mineral matter was lower for the positive control in relation to the other treatments. No effect of the use of organic acids was observed on the *Salmonella* Enteritidis count in the cecum and on the number of birds positive for the collected organ pool. The use of higher levels of organic acids (0.75 or 1.50 g kg<sup>-1</sup> of feed) may replace antibiotics, since they presented similar performance to the positive control and better digestibility of minerals, without altering the quality of the meat , However was not able to minimize the infection caused by *Salmonella* Enteritidis.

**Keywords:** Microorganisms. Intestinal villi. Parameters zootechnical.

## SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO .....	8
2.	REVISÃO DE LITERATURA.....	10
2.1	ÁCIDOS ORGÂNICOS.....	10
2.2	AÇÃO DOS ÁCIDOS ORGÂNICOS SOBRE A MORFOLOGIA INTESTINAL .....	11
2.3	EFEITO DOS ÁCIDOS ORGÂNICOS SOBRE A DIGESTIBILIDADE DE NUTRIENTES.....	14
2.4	DESEMPENHO DE FRANGOS DE CORTE SUPLEMENTADOS COM ÁCIDOS ORGÂNICOS .....	15
2.5	MECANISMO DE AÇÃO DOS ÁCIDOS ORGÂNICOS SOBRE MICROORGANISMOS.....	17
2.6	<i>SALMONELLA SPP</i> .....	20
2.6.1	Ação dos ácidos orgânicos sobre a <i>Salmonella spp.</i> ....	22
2.6.2	Mecanismo de ação dos ácidos orgânicos sobre a virulência da <i>Salmonella spp.</i> .....	24
3.	REFERÊNCIAS.....	27
4.	OBJETIVOS .....	35
4.1	OBJETIVO GERAL .....	35
4.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	35
5.	ARTIGO 1. EFEITO DA UTILIZAÇÃO DE ÁCIDOS ORGÂNICOS SOBRE O DESEMPENHO, MORFOLOGIA INTESTINAL E DIGESTIBILIDADE DE NUTRIENTES E QUALIDADE DE CARNE EM FRANGOS DE CORTE.....	36
5.1	INTRODUÇÃO .....	39
5.2	MATERIAL E MÉTODOS.....	39
5.3	RESULTADOS E DISCUSSÕES .....	43
5.4	CONCLUSÃO.....	49

5.5	REFERÊNCIAS.....	49
6.	ARTIGO 2. AÇÃO DE ÁCIDOS ORGÂNICOS NO CONTROLE DA INFEÇÃO POR <i>SALMONELLA</i> ENTERITIDIS EM FRANGOS DE CORTE.....	52
6.1	INTRODUÇÃO .....	55
6.2	MATERIAL E MÉTODOS.....	55
6.3	RESULTADOS E DISCUSSÕES .....	57
6.4	CONCLUSÃO.....	59
6.5	REFERÊNCIAS.....	59
7.	CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	62

## 1. INTRODUÇÃO

O Brasil é o maior exportador de carne de frangos e passou a ser o segundo maior produtor em 2015, totalizando 4,3 e 13,1 milhões de toneladas, respectivamente (ABPA, 2016). Assim, para manter a atual posição e garantir novos mercados é essencial o emprego de medidas que mantenham a eficiência produtiva e qualidade sanitária do produto final.

Para garantir taxas de crescimento e eficiência alimentar satisfatórias a nutrição é essencial e tem sido utilizada para alterar a microbiota intestinal, uma vez que o trato gastrointestinal das aves é densamente colonizado por microrganismos que, de forma estreita e intensa, interagem com o hospedeiro e com a alimentação (PAN;YU, 2014).

Os antimicrobianos promotores de crescimento foram amplamente utilizados para modular a microbiota intestinal. Contudo, com a possibilidade de seleção de microrganismos resistentes e de transferência de genes de resistência a antibióticos destinados aos animais para a microbiota humana, levou a União Europeia a proibir o uso dos antibióticos como aditivo desde 2006 (CASTANON, 2007).

Segundo Nava et al. (2009) para compensar possíveis prejuízos na produção animal, devido a restrições à utilização dos antimicrobianos promotores de crescimento, vários aditivos vêm sendo investigados. Entre eles, os ácidos orgânicos devido a sua ação antimicrobiana, especialmente sobre os microrganismos patogênicos, como a *Salmonella* spp., tornam estes um dos mais promissores aditivos em substituição aos antimicrobianos promotores de crescimento. Diversos trabalhos mostram a eficácia dos ácidos orgânicos no controle da *Salmonella* spp. em frangos de corte (VAN IMMENSEEL et al., 2004; GRILLI et al., 2011).

A *Salmonella* spp., bactéria patogênica, frequentemente apontada como um dos principais agentes envolvidos em surtos registrados de enfermidades transmitidas por alimentos em vários países. Desta forma, medidas de controle deste patógeno são essenciais para produção de frangos de qualidade.

Embora a utilização como aditivo zootécnico seja mais recente, há algum tempo os ácidos orgânicos já são utilizados como aditivos alimentares e conservantes para prevenir a deterioração e estender a vida útil de produtos alimentícios (RICKE, 2003). Além disso, estes também são utilizados e estudados para eliminar bactérias patogênicas sob condições diferentes, por exemplo, descontaminação de carcaças de frangos de corte e preservação de ração (PAUL et al., 2007; WANG et al. 2010; AKYUREK et al., 2011).

Além da ação sobre os microrganismos, os ácidos orgânicos, quando suplementados na dieta de frangos de corte, têm apresentado resultados positivos sobre a morfologia intestinal, com aumento na altura das vilosidades intestinais e diminuição da profundidade de cripta (GARCIA et al., 2007; ADIL et al., 2010; SAMANTA et al. 2010).

A alteração na morfologia intestinal melhora a digestibilidade dos nutrientes da dieta. Além disso, a redução do pH estomacal melhora a atividade da pepsina e assim a digestibilidade das proteínas e a formação de complexo de entre os anions liberado da dissociação dos ácidos orgânicos e minerais facilitam a absorção dos minerais (GARCIA et al., 2007; ABDEL-FATTAH et al., 2008; HOUSHMAND et al., 2011;).

Devido às alterações positivas na morfologia intestinal e ao melhor aproveitamento dos nutrientes da dieta, trabalhos mostram resultados positivos no desempenho zootécnico, com melhor conversão alimentar e maior ganho de peso para frangos de corte alimentados com ácidos orgânicos (ADIL et al., 2010; ROCHA et al., 2010).

Diante do exposto, que os ácidos orgânicos são apontados como possível alternativa para substituir os antimicrobianos promotores de crescimento, estudos são necessários para verificar o efeito da adição destes na produção de frangos de corte e no controle da *Salmonella* spp.

Desta forma, foram realizados três experimentos para verificar o efeito de diferentes níveis de ácidos orgânicos no desempenho zootécnico, morfologia intestinal, digestibilidade de nutrientes, qualidade da carne e controle de *Salmonella* Enteritidis em frangos de corte.

Esta tese esta organizada em três capítulos, no primeiro encontra se a fundamentações teóricas e na sequencia dois artigos científicos. E as considerações finais foram elaboradas a partir dos resultados apresentados nos dois artigos científicos.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 ÁCIDOS ORGÂNICOS

Os ácidos orgânicos são amplamente encontrados na natureza estando presente em frutas e vegetais, além disso, são produzidos por microrganismos. Segundo Mroz (2005) alimentos naturais (frescos, pré-fermentado ou ensilado e ingredientes de origem vegetal ou origem animal) podem conter mais de 100 ácidos carboxílicos e / ou derivados.

Os ácidos orgânicos diferem dos demais ácidos por apresentarem o grupo funcional COOH a qual pode ser ligado por um grupo orgânico ou um átomo de hidrogênio. Os nomes utilizados para descrever este grupo de compostos orgânicos incluem ácidos graxos, ácidos graxos voláteis, lipofílico, fraco, ou ácidos carboxílicos (DIBNER; BUTTIN, 2002).

Ainda quanto a suas características que estes podem ser encontrados na forma sólida ou líquida e classificados quanto à quantidade de grupo funcional carboxila e tamanho da cadeia carbônica (Tabela 1).

Os ácidos orgânicos são utilizados na forma livre ou encapsulados. Os ácidos orgânicos encapsulados podem atingir toda a extensão do trato gastrointestinal, uma vez que são liberados lentamente e de forma contínua. Além disso, o encapsulamento retarda a absorção dos ácidos orgânicos, visto que estes na forma livre são rapidamente absorvidos no esfíncter, proventrículo, moela e no duodeno, não permitindo assim que estes avancem até as porções finais do trato gastrointestinal, ficando assim sua ação limitada a parte superior do trato gastrointestinal (HUME et al., 1993; VAN IMMERSSEEL et al., 2004; HASSAN et al., 2010).

Os sais de ácidos orgânicos (Tabela 1) são considerados uma alternativa aos ácidos orgânicos, isto devido à sua facilidade de manipulação, pouco ou nenhum efeito corrosivo e eficácia contra bactérias patogênicas ao longo de todo gastrointestinal. O forte efeito antimicrobiano desses sais pode ser explicado pela alta concentração de ingrediente ativo dos seus respectivos ácidos (DAZA et al., 2001; HUYGHEBAERT et al., 2011).

**Tabela 1. Propriedades físicos - químicas de alguns ácidos orgânicos e seus sais**

Nome do ácido	Forma física	Constante de dissociação pKa
1. Fórmico	Líquido	3,75
2. Acético	Líquido	4,76
3. Propiônico	Líquido oleoso	4,88
4. Butírico	Líquido oleoso	4,82
5. Láctico	Líquido	3,86
6. Sórbito	Sólido	4,76
7. Fumárico	Sólido	3,02/4,38
8. Málico	Sólido/ Líquido	3,46/5,10
9. Cítrico	Sólido	3,10/4,80/6,40
10. Formiato de cálcio	Sólido	
11. Lactato de cálcio	Sólido	
12. Proprianato de cálcio	Sólido	
13. Diformiato de cálcio	Sólido	
14. Diformiato de potássio	Sólido	
15. Butirato de cálcio	Sólido	
16. Citrato de magnésio	Sólido	
17. Lactato de sódio	Sólido	

Fonte: adaptado de Mroz, (2005). 1 - 6 monocarboxílico; 7 - 8 dicarboxílico; 9 tricarboxílico; 10 - 17 sais orgânicos;

## 2. 2 AÇÃO DOS ÁCIDOS ORGÂNICOS SOBRE A MORFOLOGIA INTESTINAL

Ácidos orgânicos quando suplementados na dieta de frangos de corte tem apresentado resultados positivos sobre a morfologia intestinal, com aumento na altura das vilosidades intestinais (GARCIA et al., 2007; ADIL et al., 2010; SAMANTA et al. 2010). Esses resultados são relevantes, uma vez que segundo Khan e Iqbal (2016) a boa saúde intestinal na indústria avícola é necessária para atingir taxas de crescimento e eficiência alimentar satisfatória.

Garcia et al (2007) ao testar diferentes níveis de ácidos fórmico (5000 e 10000 ppm) na dieta de frangos de corte, verificaram que ambos os níveis de inclusão de ácido fórmico aumentaram a altura das vilosidades e que as aves suplementadas com o maior

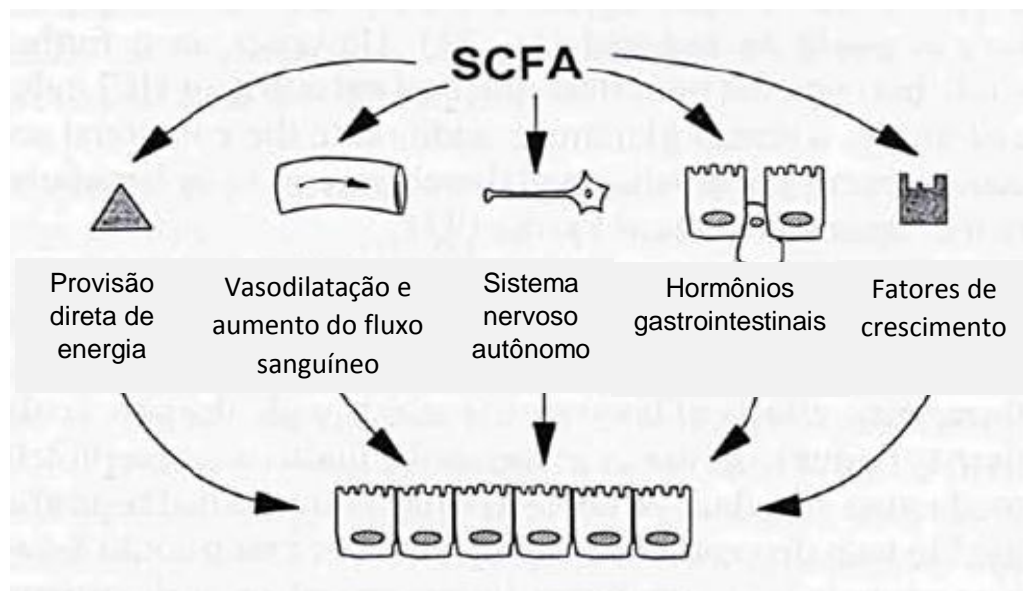
nível do ácido fórmico apresentaram maior profundidade de cripta. Embora tenha sido observado aumento na altura das vilosidades e na profundidade de cripta, não houve alteração na área superficial das vilosidades.

Os antimicrobianos são conhecidos por reduzirem a carga microbiana que, por sua vez, reduz a presença de toxinas, as quais estão associadas com alterações na morfologia intestinal, tais como vilosidades mais curtas e criptas mais profundas. Além disso, os ácidos graxos de cadeia curta são capazes de estimular a proliferação das células de cripta, mantendo e/ou aumentando o volume de tecido saudável (GARCIA et al., 2007).

A morfologia do intestino delgado, incluindo a altura da vilosidade, a profundidade da cripta e sua relação são importantes parâmetros para avaliar a saúde intestinal em frangos de corte (DIZAJI et al., 2013). Assim a diminuição da altura dos vilos e o aumento da profundidade da cripta estão relacionados à baixa saúde intestinal e a diminuição da absorção de nutrientes, enquanto que o aumento na altura dos vilos e da relação entre a altura do vilos e profundidade da cripta estão relacionados à boa saúde intestinal e a boa absorção de nutrientes (LAUDADIO et al., 2012).

Ichikawa et al. (2002) forneceram ácidos graxos de cadeia curta, via oral ou retal, e compararam com ratos que receberam solução salina. Foi observado que houve aumento na proliferação de células da cripta do intestino e segundo estes autores, é improvável que o efeito trófico seja em função da utilização dos ácidos graxos de cadeia curta como fonte de energia, sendo o mais provável que exista um mecanismo indireto que leve ao efeito trófico sobre as células.

Von Engelhardt et al. (1998) descrevem o possível mecanismo envolvido no efeito trófico sobre as células do intestino. Segundo estes o aumento no aporte de energia fará com que o fluxo sanguíneo da mucosa aumente. Além disso, efeito trófico pode ainda envolver o sistema nervoso entérico, hormônios gastrointestinais e fatores de crescimento (Figura 1).



**Figura 1.** Possíveis fatores pelos quais os ácidos graxos de cadeia curta pode mediar a proliferação das células da mucosa intestinal. Fonte: Von Engelhardt et al. (1998)

Samanta, Haldar e Ghosh (2010), avaliaram a eficácia de diferentes níveis de uma mistura de ácidos orgânicos em relação a Bacitracina, observaram que os frangos de corte suplementados com ácidos orgânicos apresentaram maior altura de vilosidades em relação ao antibiótico. Além disso, no duodeno e jejuno, a altura das vilosidades aumentou linearmente conforme o aumento da dose dos ácidos orgânicos ( $P < 0,05$ ), enquanto que no íleo o efeito foi quadrático. Resultado semelhante foi encontrado por Adil et al. (2010) que ao testarem diferentes níveis dos ácidos butírico, fumárico e láctico (2 e 3 %), observaram que a suplementação dos ácidos orgânicos promoveram aumento das vilosidades no duodeno e jejuno, contudo, não houve diferença significativa para vilosidades do íleo.

Ao avaliar a suplementação de uma mistura de ácidos orgânicos na alimentação de frangos de corte, Cengiz et al. (2012) observaram que a inclusão da mistura de ácidos orgânicos aumentou o comprimento das vilosidades do duodeno, jejuno e íleo.

Contudo, Maiorka et al. (2004) testaram diferentes misturas de ácidos orgânicos, com diferentes proporções dos ácidos fumárico, láctico, cítrico e ascórbico na dieta de frangos de corte jovens e observaram que os ácidos orgânicos não alteraram a altura de vilos, profundidade de cripta e relação vilo/cripta. Além destes resultados, os autores verificaram melhora na conversão alimentar e, diante disto, levantaram hipóteses sobre os motivos dos resultados obtidos, uma vez que não foi observado diferença na morfologia intestinal. Uma das hipóteses seria que ácidos orgânicos podem reduzir o pH do trato

gastrointestinal e, desta forma, podem melhorar a atividade enzimática, o que também resultaria em melhor absorção dos nutrientes da dieta e melhor desempenho dos animais.

## **2. 3 EFEITO DOS ÁCIDOS ORGÂNICOS SOBRE A DIGESTIBILIDADE DE NUTRIENTES**

A digestibilidade dos nutrientes é importante para o desenvolvimento das aves, pois, para que os alimentos sejam aproveitados, os nutrientes devem ser quebrados até nutrientes simples, para serem absorvidos.

Estudo realizado por Ghazalah et al. (2011) para avaliar o efeito da suplementação de diferentes níveis do ácido fórmico (0,25, 0,5 e 1 %), ácido fumárico (0,5, 1 e 1,5%), ácido acético (0,25, 0,50 e 0,75%) e ácido cítrico (1, 2 e 3%) sobre a digestibilidade de nutrientes, mostraram que ácido fórmico, fumárico e cítrico melhoraram o coeficiente de digestibilidade da proteína bruta. Já os ácidos fumárico, acético e cítrico melhoraram o coeficiente de digestibilidade do extrato etéreo e aumentaram a energia metabolizável.

Pirgozliev et al. (2008) também observaram aumento na energia metabolizável para frangos de corte suplementados com ácido fumárico e sórbico. Além disso, os resultados mostraram melhora no coeficiente de metabolização da matéria seca para os frangos de corte suplementados com ácido sórbico. Da mesma forma, houve redução na excreção do ácido siálico para os frangos de corte alimentados com os ácidos orgânicos. Isto indica que houve redução das perdas endógenas, uma vez que o ácido siálico está associado à mucina gastrointestinal e, por isso, tem sido utilizado como indicador de perdas endógenas. Ainda segundo os autores, o aumento da concentração de ácido siálico está frequentemente associado a problemas de saúde, infecção bacteriana e certas condições patológicas.

Houshmand et al. (2011) ao testar diferentes aditivos observaram melhora no coeficiente de digestibilidade da proteína bruta nos frangos de corte suplementados com uma mistura de ácidos orgânicos (fórmico, cítrico, málico, láctico, tartárico e ortofosfórico) e prebióticos em relação ao controle negativo. Para os autores a redução do pH gástrico pode levar ao aumento da atividade da pepsina. Além disso, os peptídeos produzidos pela proteólise da pepsina estimulam a liberação de hormônios, tais como gastrina e colecistoquinina, hormônios estes relacionados à digestão e absorção de proteínas.

Resultado semelhante foram encontrados por Garcia et al. (2007) que observaram melhora no coeficiente de digestibilidade da proteína bruta e matéria seca para os frangos

de corte suplementados com diferentes níveis de ácido fórmico (5000 e 10000 ppm), extrato de planta ou avilamicina em relação ao controle negativo que não recebeu aditivo.

Estudos mostram que a suplementação de ácidos orgânicos aumentam os níveis séricos de cálcio e fósforo e a digestibilidade dos minerais, devido à formação de complexo entre os ânions liberados da dissociação dos ácidos orgânicos e os minerais. Abdel-Fattah et al. (2008) observaram que a suplementação dos ácidos orgânicos (acético, cítrico ou láctico) aumentou os níveis sérico de cálcio e fósforo para frangos suplementado com ácido orgânico. Resultado semelhante foi encontrado por Adil et al. (2010) que observaram aumento no níveis sérico de cálcio e fósforo para frangos de corte alimentados com diferentes níveis de ácidos orgânicos (butírico, fumárico e láctico).

Maiorka et al. (2004), com o objetivo de avaliar o efeito da mistura de ácidos orgânicos sobre a utilização de lipídios em frangos de corte, conduziram experimento no qual os frangos de corte jovens foram distribuídos em quatro tratamentos em esquema fatorial 2 x 2 (2900 e 3900 kcal/EM, com e sem a mistura de ácido orgânicos). Os resultados mostraram que não foi observada interação entre o nível de energia e a suplementação com a mistura de ácidos orgânicos na dieta. Assim, os resultados demonstraram que os ácidos orgânicos não afetam a utilização dos lipídios. Resultado semelhante foi encontrado por Campos et al. (2004) que, ao avaliar o efeito da adição do ácido fumárico em rações de frangos de corte com baixa e alta energia e também não encontraram diferença significativa.

## **2.4 DESEMPENHO DE FRANGOS DE CORTE SUPLEMENTADOS COM ÁCIDOS ORGÂNICOS**

A grande maioria dos trabalhos realizados com frangos de corte, que receberam dietas com suplementação de ácidos orgânicos, apresentam melhora no desempenho. Contudo, existem trabalhos que apresentaram efeitos negativos. Segundo Viola et al. (2008), os resultados contraditórios obtidos com a suplementação de ácidos orgânicos nas dietas de frangos de corte possivelmente ocorrem em razão das diferenças no seu modo de ação, da condição ambiental, da dose utilizada e das respostas avaliadas.

Adil et al. (2011) avaliaram o efeito da inclusão de diferentes níveis de ácidos orgânicos (butírico, fumárico ou láctico) sobre o desempenho e as características de carcaça de frangos de corte e observaram que os frangos alimentados com dietas suplementadas com ácidos orgânicos apresentaram maior ganho de peso e melhor

conversão alimentar. Contudo, não observaram efeito no rendimento de carcaça ou dos cortes.

Maiorka et al. (2004), ao suplementar frangos de corte com uma mistura de ácidos fumárico, láctico, cítrico e ascórbico na dieta de frangos de corte jovens observaram melhora na conversão alimentar no período de 1 a 7 dias de idade, quando comparado ao tratamento controle negativo. No mesmo estudo, só que em os autores também observaram melhora na conversão alimentar no período de 1 a 21 dias de idade, para os tratamentos que receberam a mistura de ácidos orgânicos ou antibiótico mais ácido orgânico quando comparado ao tratamento que recebeu apenas o antibiótico.

Rocha et al. (2010) conduziram experimento para avaliar o efeito do uso de prebióticos, ácidos orgânicos e probióticos em dietas de frangos de corte, com 8 a 21 e 22 a 43 dias de idade, sobre o desempenho e o rendimento de cortes. Os autores não observaram efeito dos tratamentos sobre as variáveis de desempenho na fase inicial, contudo, na fase de crescimento, os frangos de corte que receberam prebiótico mais ácidos orgânicos apresentaram melhor conversão alimentar quando comparado aos que receberam apenas prebiótico.

Em estudo conduzido por Adil et al. (2010), os resultados mostraram que os frangos de corte alimentados com dietas contendo ácidos orgânicos aumentaram o ganho de peso e melhoraram a conversão alimentar, contudo, não alterou consumo de ração. Resultado semelhante foi encontrado por Chowdhury et al. (2009) que observaram maior ganho de peso para frangos de corte suplementados com ácido orgânico em relação ao controle negativo e ao tratamento que recebeu avilamicina. Além disso, os frangos suplementados com ácido cítrico apresentaram melhor conversão alimentar em relação ao tratamento controle e ao tratamento suplementado com ácido cítrico e antibiótico. Portanto, o ácido cítrico pode ser um aditivo útil para substituir os antibióticos, tais como avilamicina, considerando desempenho e estado de saúde de frangos de corte.

Já Atapattu e Nelligaswatta (2005), não observaram efeito no ganho de peso, conversão alimentar ou no consumo de ração ao trabalhar com diferentes níveis de ácido cítrico.

Viola et al. (2008) conduziram trabalho para avaliar os efeitos da suplementação de ácidos orgânicos nas dietas e de ácidos orgânicos e ácido ortofosfórico na água de bebida sobre o desempenho de frangos de corte. As misturas de ácidos orgânicos utilizadas foram: mistura A: ácidos láctico (52%), fórmico (1%) e acético (2%); mistura B: ácidos láctico (76%), fórmico (2%) e acético (4%); mistura C: ácidos láctico (50%), fórmico

(8%) e acético (7%); mistura D: ácido fórmico (85%). A mistura E continha 40% de ácido láctico, 5% de ácido acético e 5% de ácido ortofosfórico e foi adicionada à água de bebida. Os resultados mostraram que os frangos alimentados com a mistura C e D apresentaram maior ganho de peso em relação ao tratamento controle, que não recebeu aditivo. Além disso, o consumo de ração foi menor para a mistura B, enquanto o consumo de água foi menor nas aves da mistura E fornecida na água.

## **2. 5 MECANISMO DE AÇÃO DOS ÁCIDOS ORGÂNICOS SOBRE MICRORGANISMOS**

A principal forma de ação dos ácidos orgânicos é sobre a microbiota do trato gastrointestinal, eliminando as bactérias patogênicas e favorecendo o desenvolvimento das bactérias benéficas (NAVA et al., 2009;).

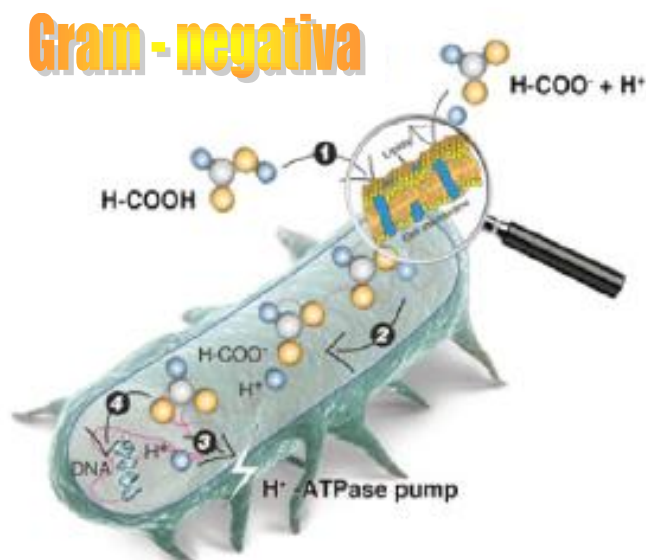
O mecanismo de toxicidade dos ácidos orgânicos (Figura 2) é multifatorial e inclui: a capacidade do ácido não dissociado difundir se livremente através bicamadas lipídicas e liberar íons no citoplasma, baixando o pH citoplasmático; a intercalação da forma não dissociado do ácido na bicamada lipídica e do baixo pH externo; e as consequências da acumulação dos ânions (ROE et al. 2002).

Na sua forma não dissociada os ácidos orgânicos são capazes de difundir se passivamente através da membrana plasmática bacteriana. Uma vez dentro da célula, onde o pH é neutro, as moléculas de ácido irão dissociar se, reduzindo assim o pH do meio. Na tentativa de neutralizar o meio, a parede celular, por meio da bomba ATPase, vai tentar se livrar dos íons  $H^+$  liberados pelos ácidos. Este é um processo que consome energia e vai esgotar o metabolismo bacteriano, levando a célula bacteriana à morte. Além disso, os ânions que são acumulados no interior das células, devido à tentativa em diminuir a acidez do citoplasma, inibem importantes enzimas microbianas responsáveis por processos bioquímicos essenciais para a sobrevivência da célula bacteriana (CARPENTER; BORADENT, 2009; SCHUTTE, 2011).

Segundo Ricke (2003) os ácido orgânicos, na grande parte, são ácidos de natureza fraca, assim o pH é considerado um fator determinante para sua eficácia, pois afeta a concentração do ácido na forma não dissociado.

Dibner e Buttin (2002) enfatizam que a ação antimicrobiana dos ácidos orgânicos é diferente da ação dos ácidos inorgânicos, sendo esta específica e dependente do pH. Ainda segundo Partanen e Mroz (1999), a eficácia dos ácidos orgânicos é dependente do

seu valor pKa, sendo que este é definido como sendo o pH onde 50% do ácido na forma dissociada.



**Figura 2.** Modo de ação dos ácidos orgânicos sobre as bactérias gram – negativa. Fonte: Addcon et al. (2014)

Estudos mostram que em pH baixo os ácidos orgânicos são mais eficientes, uma vez que estão em sua maioria na forma não dissociada (SKRIVANOVÁ et al., 2005; SKŘIVANOVÁ e MAROUNEK, 2007).

Outro ponto relevante destacado por Partanen e Mroz (1999) é que os ácidos orgânicos com valores mais elevados de pKa são mais eficientes como conservantes do que como antimicrobiano, e geralmente, com o aumento do comprimento da cadeia e do grau de insaturação melhora a atividade antimicrobiana.

Skrivanová e Marounek (2007) determinaram *in vitro* a atividade antimicrobiana de ácidos graxos de cadeia média: capróico, caprílico, cáprico, láurico, mirístico, oleico e os ácido cítrico, láctico e fumárico contra a estirpe *Escherichia coli* enteropatogénica a diferentes pH. Os resultados mostraram que, na região de pH ácido ( $2,48 \pm 0,09$ ), houve redução do número de células viáveis de *Escherichia coli* para todos os ácidos testados. Os resultados ainda apontaram que, no pH quase neutro ( $6,47 \pm 0,13$ ), os ácidos capróico e caprílico reduziram a concentração de células viáveis de *Escherichia coli*. Já em pH mais baixo ( $5,36 \pm 0,12$ ), somente o ácido caprílico diminuiu a concentração de células viáveis. Resultado semelhante foi observado para o ácido cítrico com redução no número de células viáveis para o pH quase neutro e levemente ácido. Já para o ácidos mirístico e

oleico o efeito bactericida ocorreu somente em pH abaixo de 6. Diferindo dos demais resultados não foi observado efeito bactericida para os ácidos láctico e fumárico para os pH quase neutro e levemente ácido. Segundo os autores, os efeitos positivos encontrados na literatura para os ácidos láctico e fumárico estão relacionados à acidificação da digesta, aumento da secreção pancreática e do efeito trófico sobre a mucosa.

Resultados semelhantes também foram encontrados por Skrivanova et al. (2005) que ao testar a suscetibilidade do *Clostridium perfringens* a diferentes ácidos orgânicos, submetidos a meios com diferentes pH, observaram melhor atividade antimicrobiana para meios com pH ácidos. Além disso, os autores encontraram que o ácido láurico manteve a atividade antimicrobiana no meio com pH superior a 6, tendo a microscopia eletrônica revelado que as células tratadas com o ácido láurico, sofreram separação das membranas internas e externas e desorganização citoplasmática.

Nava et al. (2009) observaram alteração na estrutura microbiana e na densidade das populações bacterianas do íleo ao suplementar frangos de corte com uma mistura de ácidos orgânicos. Os resultados mostraram que houve redução no número total de bactérias e aumento na proporção do número de *Lactobacillus spp.*. Segundo os autores, estas bactérias são mais resistentes ao pH baixo, o que explicaria assim o seu aumento.

Resultados semelhantes foram verificados por Akyurek et al. (2011) que observaram aumento na contagens de bactérias ácidas lácticas, no conteúdo do íleo, para frangos de corte suplementado com uma mistura de ácidos orgânicos. Além disso, o houve diminuição no número de contagem de *Escherichia coli* e de leveduras.

Ao suplementar a dieta de frangos de corte com diferentes níveis de ácido benzóico (0, 2,5, 5 e 7,5 g/kg da ração), Józefiak et al. (2007) observaram aumento no número de bactérias lácticas e redução no número de coliformes, no conteúdo cecal, para as aves alimentadas com maior nível do ácido benzóico.

Wang et al. (2010) determinaram os efeitos da suplementação dietética com ácido fenilacético sobre a microbiota intestinal e observaram redução no número de colônias de *Escherichia coli* no intestino grosso de frangos de corte suplementadas com o maior nível de ácido fenilacético e avilamicina, quando comparado ao controle negativo e aos frangos suplementados com o menor nível do ácido fenilacético.

Ao suplementar a dieta de frangos de corte com sais de ácidos orgânicos formiato de amônio ou propionato de cálcio, Paul et al. (2007) observaram redução no número de coliformes para frangos de corte suplementados com os sais de ácidos orgânicos,

enquanto que a contagem de *Clostridium* spp. não foi afetada. Já a suplementação com formato de amônio reduziu a contagem de *Escherichia coli*.

Já Akyurek e Yel (2011) observaram que a suplementação com ácido orgânico tem efeito positivo na microbiologia do íleo. Os resultados demonstraram redução na contagem de *Escherichia coli* e aumento na contagem de *Lactobacillus* e levedura para frangos de corte suplementados com ácido orgânicos.

## **2. 6 SALMONELLA SPP.**

O Brasil é atualmente o maior exportador de carne de frangos do mundo e para a manutenção desta posição são exigidas medidas de prevenção e controle de agentes de enfermidade infecciosas.

Dentre as bactérias patogênicas a *Salmonella* spp. é frequentemente apontada como um dos principais agentes envolvidos em surtos registrados em vários países. Infecções causadas por *Salmonella* spp. são transmitidos por alimentos de origem animal e vegetal (JACKSON et al., 2013). Contudo, alimentos de origem animal representam papel fundamental na epidemiologia da salmonelose humana (CARVALHO; CORTEZ, 2005).

A importância deste microrganismo para a avicultura deve-se a sua prevalência, com distribuição mundial nos lotes de frango de corte e galinhas poedeiras, bem como suas implicações na saúde pública. Segundo Moreira et al. (2008), a *Salmonella* spp. é frequentemente isolada em alimentos de origem avícola, sendo uma das principais causas de doenças transmitidas por alimentos no Brasil, bem como representa risco à segurança alimentar no âmbito mundial.

Esse risco fica claro com os resultados encontrados por Carvalho e Cortez (2005), que ao pesquisar a ocorrência de *Salmonella* spp. em carne de frango e derivados procedentes da região Nordeste do Estado de São Paulo, observaram que 20% das amostras analisadas encontravam-se impróprias para o consumo humano, pois estavam contaminadas por *Salmonella* spp.

Resultados semelhantes foram encontrados por Moreira et al. (2008) que ao conduzirem um estudo que investigou a ocorrência de *Salmonella* sp. em carcaças de frangos abatidos e comercializados em municípios do estado de Goiás, verificando que 14,32% de amostras foram positivas para *Salmonella*. Para os autores os resultados

obtidos indicam risco à saúde coletiva e comprometimento da segurança alimentar dos produtos e subprodutos de frangos.

Dentre os sorovares de *Salmonella* isolados de casos de infecção humana, no Brasil, destaca-se os Typhimurium e Enteritidis (LOUREIRO et al., 2010; TONDO, 2014).

Capalonga (2014) caracterizou isolados de *Salmonella* envolvidas em salmoneloses ocorridas no Rio grande do Sul, no período de 2007 a 2013 e verificaram que dos 163 isolados investigados, (84,7%) foram *Salmonella* Enteritidis, enquanto os outros isolados foram *Salmonella* Schwarzengrund (5,5 %), *Salmonella* Typhimurium (3,7%), *Salmonella* Infantis (0,6 %), *Salmonella* Agona (0,6 %), *Salmonella* Derby (0,6 %), *Salmonella* London (0,6 %), *Salmonella* Give (0,6 %), *Salmonella* Panama (0,6 %) e *Salmonella* enterica (2,5 %).

Já Loureiro et al. (2010) verificaram que no estado do Pará os casos de infecção por *Salmonella*, ocorridos entre 1991 a 2008, foram identificados 47 sorovares de *Salmonella*, destacando-se Typhimurium (58,9%), Enteritidis (5,4%) e Saintpaul (2,5%).

Em estudo realizado no estado do Paraná Kottwitz et al (2010) com o objetivo de conhecer o perfil epidemiológico dos surtos de salmonelose notificados entre janeiro de 1999 e dezembro de 2008, identificaram que a maioria dos casos foram causados por *Salmonella* Enteritidis, sendo encontrado em 87,8% das cepas isoladas de pacientes.

Os principais alimentos envolvidos nos surtos de salmonelose no Brasil são de origem animal. No Rio grande do Sul a maionese caseira (17,39%), seguido dos produtos de confeitaria (15,94 %) e carnes (12,32 %) foram os principais alimentos envolvidos em casos de salmonelose. Resultados semelhantes foram encontrado no estado do Paraná por Kottwitz et al (2010) onde alimentos à base de ovos, carnes e derivados e produtos classificados como alimentos variados foram, respectivamente, associados a 45,0; 34,8 e 20,2% dos surtos.

Jackson et al. (2013) analisaram dados de surtos de salmonelose ocorridos nos Estados Unidos durante o período de 1998 - 2008 para determinar as associações entre produtos alimentares e sorovares de *Salmonella*. O estudo foi realizado para determinar a relação entre o tipo de alimento e o sorotipo de *Salmonella*, a fim de ajudar no controle de futuras toxinfecções. Os resultados mostraram que mais de 80% dos surtos foram causados por sorovares Enteritidis, Heidelberg, e Hadar sendo atribuída a causa destas toxinfecções aos ovos ou carne de aves, enquanto que menos de 20% de surtos foram causados por sorovares Javiana, Litchfield, Mbandaka, Muenchen, Poona, e Senftenberg,

os quais foram atribuídos para commodities de plantas. Já os Sorovares Typhimurium e Newport foram associados a uma ampla variedade de produtos alimentares.

Majowicz et al. (2010) estimam que por ano mais de 90 milhões de casos de gastroenterite são causadas por *Salmonella* spp. Os custos estimados pela alta incidência da salmonelose em países como os Estados Unidos variam entre 1,3 a 4,0 bilhões de dólares por ano, em decorrência de despesas médicas, ausência ao trabalho e quebras na produtividade (TAITT et al., 2004).

Prieto et al. (2009), com o objetivo de descrever o impacto clínico e econômico das internações hospitalares relacionadas com infecções causadas por *Salmonella* spp. na população da Espanha ao longo de 10 anos (1997 - 2006), analisaram dados fornecidos pelo Sistema Nacional de Epidemiologia de Vigilância (*Conjunto Mínimo Básico de Dados*; CMBD). Os dados incluíam informações sobre taxas relacionadas a infecções hospitalares causadas por *Salmonella* spp. tais como incidência, dados demográficos do paciente, tempo de internação, mortalidade, taxas de letalidade e custos associados. Os resultados mostraram que durante o período estudado, 65.100 infecções por *Salmonella* spp. foram registradas, indicando uma taxa de incidência anual de 16,18 casos / 100.000 pessoas / ano. O tempo médio de permanência hospitalar para os pacientes com infecção foi de 7,6 dias e a idade média dos pacientes era de 31 anos. A taxa de mortalidade foi de 0,23 / 100.000 pessoas, e dos casos fatais a taxa foi de 1,40%. A taxa de incidência foi significativamente maior nos menores que 14 e maiores de 65 anos. As taxas de mortalidade e de letalidade aumentaram significativamente com a idade, chegando a 2,05 mortes por 100.000 pessoas ou 7,53% em pessoas com mais de 85 anos de idade. O custo total da infecção causada por *Salmonella* spp. foi de 124 milhões de euros no período do estudo.

Assim, esses dados refletem o impacto econômico desta enfermidade e a importância das medidas preventivas para se minimizar e evitar os riscos de infecção humana por *Salmonella* spp.

### **2. 6. 1 Ação dos ácidos orgânicos sobre a *Salmonella* spp.**

Os ácidos orgânicos atuam sobre microbiota intestinal, especialmente sobre as bactérias patogênicas, dentre elas a *Salmonella*. Grilli et al. (2011) conduziram dois experimentos para avaliar a eficácia do ácido sórbico microencapsulado na redução da prevalência de *Salmonella* entérica sorovar Hadar e Enteritidis no ceco de frangos de

corte experimentalmente infectados. Os resultados mostraram que, na fase inicial de infecção por *Salmonella*, a prevalência foi alta em ambos os estudos e não foi observado efeito da utilização do ácido sórbico microencapsulado. Contudo, na fase final, houve redução da prevalência de *Salmonella* no conteúdo do cecal para frangos de corte suplementado com ácido sórbico no primeiro experimento, enquanto que no segundo experimento só ocorreu redução para os níveis 0,2 e 0,5%.

Com o objetivo de avaliar a eficácia de ácidos orgânicos de cadeia curta contra a *Salmonella* Enteritidis, Van Immerseel et al. (2004) observaram que a adição de ácido acético e ácido fórmico aumentou a colonização do ceco e órgãos internos. Enquanto que as aves tratadas com ácido propiônico houve redução na colonização no ceco.

Menconi et al (2013) avaliaram a eficácia de duas mistura de ácidos orgânicos, administrada via água ou ração, *in vitro* e *in vivo* sobre a *Salmonella* Typhimurium. Os resultados mostraram que as misturas de ácidos apresentaram melhor atividade *in vitro* para reduzir *Salmonella* quando comparado com o controle negativo. Já que *in vivo*, a mistura administrada via ração no nível mais alto (0,062%) e a administrada via água reduziram significativamente o número total de amostras de cecos positivos para *Salmonella* quando comparado ao controle negativo.

Borsoi et al. (2011) conduziram experimento no qual frangos de corte foram distribuídos em quatro tratamentos: controle negativo, controle positivo (inoculado por via oral a 1 dia de idade com  $10^5$  UFC / mL de *Salmonella* Enteritidis) e os outros dois tratamentos receberam 0,5 e 1% de uma mistura de ácidos orgânicos e óleos essenciais que também foram inoculados oralmente a 1 dia de idade com  $10^5$  UFC / mL de *Salmonella* Enteritidis. Os resultados mostraram que os frangos alimentados com ácidos orgânicos e óleos essenciais (0,5 e 1 %), reduziram a excreção fecal de *Salmonella* Enteritidis aos 6 e 20 dias após a inoculação. Para os autores do estudo os resultados demonstram que os ácidos orgânicos e óleos essenciais podem ser considerados importantes ferramentas no programa de controle da *Salmonella*.

Ao avaliarem três concentrações de ácido acético na ração de frangos de corte, Saleen et al. (2016) observaram que a suplementação com ácido acético (1%) ajudou a reduzir o número e a gravidade alterações histopatológicas causadas por *Salmonella* Pullorum. As contagens bacterianas em ceco foram reduzidas com o aumento das concentrações de ácido acético. No entanto, a maior concentração de ácido acético (1,5%) apresentou efeitos adversos, com diminuição do crescimento das aves e aumento da intensidade da diarreia. Entre as três concentrações testadas, a concentração de 1 %

de ácido acético mostrou efeitos parcialmente protetores, melhorando o crescimento, com menores taxas de conversão alimentar e diminuindo as alterações histopatológicas.

Pickler et al. (2012) conduziram dois experimentos para avaliar a eficiência de ácidos orgânicos frente a *Salmonella* Enteritidis e Minnesota em frangos. No primeiro experimento foram utilizados ácidos orgânicos na ração e na água, com redução de *Salmonella* no papo e no ceco 7 dias pós inoculação com *Salmonella* Enteritidis. Semelhante ao primeiro experimento, os ácidos orgânicos na ração e na água reduziram a excreção de *Salmonella* Minnesota em papo de frangos de corte desafiados, 7 dias após inoculação. Os resultados também mostraram que o uso de ácidos orgânicos na ração e na água foi mais eficiente em reduzir *Salmonella* Enteritidis que *Salmonella* Minnesota.

## **2. 6. 2 Mecanismo de ação dos ácidos orgânicos sobre a virulência da *Salmonella* spp.**

Segundo Van Immerseel et al. (2003) o ceco é o local predominante para colonização de *Salmonella* spp, nele ocorrem fermentações que produzem ácidos graxos de cadeia curta. Desta forma, durante todo seu ciclo de vida, a *Salmonella* spp está em contato com ácidos graxos de cadeia curta, os quais desempenham um papel importante na regulação dos genes de invasão.

Esses genes que regulam a invasão da *Salmonella* nas células hospedeiras estão localizados nas ilhas de patogenicidade. Essas constituem segmentos de DNA inseridos no cromossomo bacteriano, que atribuem uma variedade de características de virulência aos microrganismos que as possuem. Nas Salmonelas, muitos dos fatores de virulência são codificados por genes presentes nas ilhas de patogenicidade, as quais são referidas como ilhas de patogenicidade da *Salmonella* spp. (SPI) (VIEIRA, 2009; FORTES et al., 2012).

Assim, o estudo destes genes é importante à medida que possibilita a compreensão do potencial de determinados microrganismos em causar infecção, bem como elaborar estratégias que permitam seu controle.

Durant, Corrier e Ricke (2000) observaram que ácidos graxos de cadeia curta induziram a expressão dos genes *hilA* e *invF* da *Salmonella* Typhimurium. Neste trabalho os autores verificaram que todos ácidos graxos de cadeia curta (acético, butírico e propiônico) induziram a expressão de *hilA* e *invF* da *Salmonella* Typhimurium em pH 6,

enquanto que a pH 7 apenas acético induziu a expressão dos genes *hilA* e *invF*. Assim, segundo os autores a forma de indução, dependente do pH, sugere que a entrada de ácidos graxos de cadeia curta na célula foi necessária para a indução. Desta forma, acredita-se que os ácidos graxos de cadeia curta podem servir como um sinal ambiental que desencadeia a expressão de genes de invasão no trato gastrointestinal.

Resultados semelhantes também foram verificados por Van Immerseel et al. (2003), com aumento da invasão da *Salmonella* Enteritidis para células do ceco expostas ao ácido acético. Além disso, foi observado diminuição da invasão para as aves alimentadas com ácido butírico ou ácido propiônico. Van Immerseel et al. (2004) também observaram aumento na invasão de células epiteliais do ceco expostas ao ácido acético ou ao fórmico, enquanto que as expostas ao ácido butírico diminuíram a invasão das bactérias nas células epiteliais do ceco de frango.

Yang et al. (2014), em estudos *in vitro* e *in vivo*, observaram redução nas expressões do gene de virulência SPI-1 da *Salmonella* Typhimurium para frangos de corte que receberam como tratamento o inóculo contendo o probiótico (bactérias produtoras de ácido láctico). Segundo os autores, trabalhos *in vitro* na literatura têm demonstrado que ácido láctico, propiônico e butírico são capazes de reduzir a expressão dos genes de virulência da *Salmonella*, tais como *hilA*, *hilD*, *invF* e *SipC*, enquanto que o acético e o fórmico induziram a expressão *in vitro* dos genes SPI-1.

Segundo Silva, Santos e Paes (2015) a tolerância ao ácido é um importante fator de virulência relacionado à sobrevivência ao baixo pH. A *Salmonella* spp. é uma bactéria capaz de proliferar e sobreviver em diversos nichos ambientais, incluindo a maioria dos ecossistemas ambientais, sistemas de produção e processamento de alimentos e tratos intestinais dos animais hospedeiros. Este organismo também tem a capacidade de detectar as condições de estresse como sinais para induzir alterações dramáticas na expressão gênica e síntese de proteínas (KWON; RICKE, 1998).

Uma vez presente no meio ambiente em que o estresse não é letal (pH > 4), a *Salmonella* induzira a alterações fisiológicas que ajudaram a tolerar pH extremamente baixo (pH 3). Estas alterações fisiológicas são definidas como tolerância ácida e envolve a produção de 51 proteínas do choque ácido que contribuíram para sobrevivência no pH ácido (HAAL; FOSTER 1996; BANG et al., 2002).

Essas alterações aumentam as chances de sobrevivência quando presentes em pH extremamente baixo, Foster e Hall (1990) observaram que a adaptação da *Salmonella*

a pH moderadamente ácido antes de um desafio a pH mais ácido, aumenta a sobrevivência ao longo de um período de 2 horas a pH 3 em até 1000 vezes.

Os mecanismos envolvidos no desenvolvimento da tolerância ácida bacteriano ainda não estão completamente compreendidos, embora seja geralmente reconhecido que estão envolvidos vários genes e proteínas, tais como RpoS e proteínas de choque ácido alternativas. Além disso, o desenvolvimento da tolerância ácida em *Salmonella* é um fenômeno complexo e é afetado pela interação de diferentes fatores ambientais que prevalecem durante a adaptação ácida, sendo ainda influenciado pelo estágio de crescimento, temperatura de crescimento, modo de acidificação ambiental e a presença de certos aminoácidos (ÁLVAREZ-ORDÓÑEZ et al., 2009; SPECTOR; KENYON, 2012).

Por estes motivos, a interação de todos esses fatores, bem como fatores que contribuem para a tolerância ácida dos microrganismos podem explicar os resultados aparentemente contraditórios descritos na literatura (ÁLVAREZ-ORDÓÑEZ et al., 2009).

Outro ponto importante é que segundo Audia, Webb e Foster (2001) a indução a tolerância ácida pode induzir a tolerância a outros fatores de estresse como a temperatura, oxidativo e osmolaridade.

Os resultados encontrados por Kwon e Ricke (1998) mostram que os ácidos graxos de cadeia curta presentes no trato gastrointestinal do hospedeiro pode contribuir para o aumento da virulência de *Salmonella typhimurium* e da tolerância ácida, visto que estes observaram que a indução a tolerância ácida foi aumentada após exposição a ácidos graxos de cadeia curta na *Salmonella Typhimurium*. Além disso, esta foi maior quando a *Salmonella Typhimurium* foi exposta por um tempo prolongado (4 horas) aos ácidos graxos de cadeia curta em meio anaeróbico e com pH moderadamente ácido (pH 5).

Álvarez-Ordóñez et al. (2010) a fim de esclarecer as possíveis consequências da acidificação da carne durante os tratamentos de descontaminação sobre a resistência ácida da *Salmonella Typhimurium* observaram resposta de tolerância ácida e a ordem dos ácidos na indução foi ácido cítrico > acético > málico > clorídrico > ascórbico. Os resultados obtidos são preocupantes, pois demonstraram o aumento da resistência ácida de células adaptadas a ácidos, o que pode permitir a sobrevivência de *Salmonella Typhimurium* no ambiente ácido do estômago.

As diferenças na tolerância ácida bacteriano em função do ácido orgânico utilizado podem estar ligadas à manutenção do pH interno (pHi) da célula. Certos ácidos orgânicos podem entrar na célula mais facilmente do que outros e, portanto, alterar o pHi da célula mais rapidamente. Por exemplo, o ácido acético, devido ao seu baixo peso molecular e à

sua grande lipossolubilidade, pode penetrar facilmente nas membranas bacterianas, enquanto que os ácidos láctico e cítrico difundem lentamente. Assim, as diferenças na tolerância ácida bacteriana em função do ácido utilizado podem estar associadas com a capacidade diferente mostrada pelos ácidos para alterar o pH interno das células (ÁLVAREZ-ORDÓÑEZ et al., 2009; ÁLVAREZ-ORDÓÑEZ et al., 2010).

Nas aves, o primeiro órgão a ser alcançado pela *Salmonella* é o papo, que em média possui pH entre 4 a 5, devido a fermentação bacteriana que produz ácido láctico. Se ocorrer adaptação a esse pH, a *Salmonella* pode sobreviver e adaptar se a um pH mais ácido e, portanto, resistir ao efeito antibacteriano do estômago (ANDINO e HANNING, 2015).

Pickler et al. (2014) conduziram estudo para testar diferentes misturas de ácidos orgânicos e observaram que todos os ácidos orgânicos testados reduziram a *Salmonella* Minnesota no papo aos 7 dias após inoculação, mas nenhum reduziu nas 48 h após inoculação nos suabes de cloaca e ceco das aves desafiadas aos 7 dias após inoculação. Segundo os autores as doses dos ácidos orgânicos recomendadas pelos fabricantes e utilizados *in vivo*, estão abaixo daquelas recomendadas pela concentração inibitória mínima, o que pode ter ocasionado o insucesso do tratamento podendo também induzir a tolerância da *Salmonella* aos ácidos orgânicos.

### 3. REFERÊNCIAS

ABDEL-FATTAH, S.A.; EL-SANHOURY, M.H.; EL-MEDNAY, N.M.; ABDEL-AZEEM, F. Thyroid Activity, Some Blood Constituents, Organs Morphology and Performance of Broiler Chicks Fed Supplemental Organic Acids. **International Journal of Poultry Science**, v. 7, n. 3, p. 215 - 222, 2008.

ABPA. Relatório Anual 2016. Disponível em: <<http://abpa-br.com.br/>>. Acesso em: 28/11/2016.

ADIL, S.; BANDAY, T.; AHMAD BHAT, G.; SALAHUDDIN, M.; RAQUIB, M.; SHANAZ, S. Response of broiler chicken to dietary supplementation of organic acids. **Journal of Central European Agriculture**, v. 12, n. 3, p. 498 – 508, 2011.

ADIL, S.; BANDAY, T.; AHMAD BHAT, G.; MIR, M. S.; REHMAN, M. Effect of Dietary Supplementation of Organic Acids on Performance, Intestinal Histomorphology, and Serum Biochemistry of Broiler Chicken. **Veterinary Medicine International**, v. 2010, p. 1 - 7, 2010.

AKYUREK, H.; OZDUVEN, M. L.; OKUR, A. A.; KOC, F.; SAMLI, H. E. The effects of supplementing an organic acid blend and/or microbial phytase to a corn-soybean based

diet fed to broiler chickens. **African Journal of Agricultural Research**, v. 6, n. 3, p. 642 - 649, 2011.

AKYUREK, H.; YEL, A. Influence of dietary thymol and carvacrol preparation and/or an organic acid blend on growth performance, digestive organs and intestinal microbiota of broiler chickens. **African Journal of Microbiology Research**, v. 5, n. 7, p. 979 - 984, 2011.

ÁLVAREZ-ORDÓÑEZ, A.; FERNÁNDEZ, A.; BERNARDO, A.; LÓPEZ, M. Comparison of acids on the induction of an Acid Tolerance Response in *Salmonella typhimurium*, consequences for food safety. **Meat Science**, v. 81, n. 1, p. 65 – 70, 2009.

ALVAREZ-ORDÓÑEZ, A.; FERNÁNDEZ, A.; BERNARDO, A.; LÓPEZ, M. Acid tolerance in *Salmonella typhimurium* induced by culturing in the presence of organic acids at different growth temperatures. **Food Microbiology**, v. 27, n. 1, p. 44 – 49, 2010

ANDINO, A.; HANNING, I. *Salmonella enterica*: Survival, Colonization, and Virulence Differences among Serovars. **The Scientific World Journal**, v. 2015, p. 1 – 16, 2015.

ATAPATTU, N. S. B. M. AND NELLIGASWATTA, C. J. Effect of citric acid on the performance and utilization of phosphorous and crude protein in broiler chickens fed rice by products based diets. **International Journal of Poultry Science**, v. 4, n. 12, p. 990 – 993, 2005.

AUDIA, J. P.; WEBB, C. C.; FOSTER, J. W. Breaking through the acid barrier: An orchestrated response to proton stress by enteric bacteria. **International Journal of Medical Microbiology**, v. 291, n. 2, p. 96 – 106, 2001.

BAIK, H. S.; BEARSON, S; DUNBAR, S; FOSTER, J. W. The acid tolerance response of *Salmonella typhimurium* provides protection against organic acids. **Microbiology**, v. 142, n. , p. 3195 – 3200, 1996.

BANG, L. S., AUDIA, J. P.; PARK, Y. K.; FOSTER, J. W. Autoinduction of the *ompR* response regulator by acid shock and control of the *Salmonella enterica* acid tolerance response. **Molecular Microbiology**, v. 44, n. 5, p. 1235 – 1250, 2002.

BORSOI, A.; SANTOS L. R.; DINIZ, G. S.; SALLE, C. T. P.; MORAES, H. L. S.; NASCIMENTO, V. P. *Salmonella* Fecal Excretion Control in Broiler Chickens by Organic Acids and Essential Oils Blend Feed Added. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 13, n. 1, p. 65 – 69, 2011.

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 frangos de corte com baixa energia metabolizável. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, v. 26, n. 1, p. 35-39, 2004.

CAPALONGA, R. **Estudo das características fenotípicas e genotípicas das *Salmonella Enteritidis* envolvidas em surtos alimentares no estado do Rio Grande do Sul no período de 2007 a 2013**. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2014.

CARPENTER, C.E.; BROADBENT, J.R. External Concentration of Organic Acid Anions and pH: Key Independent Variables for Studying How Organic Acids Inhibit Growth of Bacteria in Mildly Acidic Foods. **Journal of food science**, v. 74, n. 1, p. 12 – 15, 2009.

CARVALHO, A. C. F. B.; CORTEZ, A. L. L. Salmonella spp. em carcaças, carne mecanicamente separada, lingüiças e cortes comerciais de frango. **Ciência Rural**, v.35, n.6, p.1465 - 1468, 2005.

CASTANON, J. I. R. History of the Use of Antibiotic as Growth Promoters in European Poultry Feeds. **Poultry Science**, v. 86, n. 11, p. 2289 – 2482, 2007.

CHAVEERACH, P.; KEUZENKAMP, D. A.; URLINGS, H. A. P.; LIPMAN, L. J. A.; VAN KNAPEN, F. In Vitro Study on the Effect of Organic Acids on Campylobacter jejuni/coli Populations in Mixtures of Water and Feed. **Poultry Science**, v. 81, n. 5, p. 621 – 628, 2002.

CENGIZ, O.; KOKSAL, B.H.; TATLI, O.; SEVIM, O.; AVCI, H.; EPIKMEN, T.; BEYAZ, D.; BUYUKYORUK, S.; BOYACIOGLU, M.; UNER, A.; ONOL, A.G. Influence of dietary organic acid blend supplementation and interaction with delayed feed access after hatch on broiler growth performance and intestinal health. **Veterinarni Medicina**, v. 57, n. 10, p. 515 – 528, 2012.

CHOWDHURY, R.; ISLAM, K. M. S.; KHAN, M. J.; KARIM, M. R.; HAQUE, M. N.; KHATUN, M.; PESTI, G. M. Effect of citric acid, avilamycin, and their combination on the performance, tibia ash, and immune status of broilers. **Poultry Science**, v. 88, n. 5, p. 1616 – 1622, 2009.

DAZA, A., OVEJERO, I. AND FLOX, J. R. Effect of potassium diformate on performance and health status of weaning piglets. **Anaporc Científico**, v. 1, n. 1, p. 15 – 25, 2001.

DENG PAN, D.; YU, Z. Intestinal microbiome of poultry and its interaction with host and diet. **Gut microbes**, v. 5, n. 1, p. 108 – 119, 2014.

DIBNER, J. J., AND P. BUTTIN. Use of organic acid as a model to study the impact of gut microflora on nutrition and metabolism. **The Journal of Applied Poultry Research**, v. 11, n. 4, p. 453 – 463, 2002.

DIBNER, J. J.; RICHARDS, J. D. Antibiotic Growth Promoters in Agriculture: History and Mode of Action. **Poultry Science**, v. 84, n. 4, p. 634 – 643, 2005.

DIZAJI, B. R.; ZAKERI, A.; GOLBZFARSAD, A.; FARAMARZY, S.; RANJBARI, O. Influences of different growth promoters on intestinal morphology of broiler chickens **European Journal of Experimental Biology**, v. 3, n. 2, p. 32 - 37, 2013.

DURANT, J. A., D. E. CORRIER, AND S. C. RICKE. Short-chain volatile fatty acids modulate the expression of the hilA and invF genes of *Salmonella* Typhimurium. **Journal Food Protection**, v. 63, p. 573 – 578, 2000.

FORTES, T. P.; FAGUNDES, M. Q.; VASCONCELLOS, F. A.; TIMM, C. D.; SILVA, F. D. Ilhas de patogenicidade de *Salmonella enterica*: uma revisão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 71, n. 2, 2012.

GARCIA, V.; CATALA-GREGORI, P.; HERNANDEZ, F.; MEGIAS, M. D.; MADRID, J. Effect of Formic Acid and Plant Extracts on Growth, Nutrient Digestibility, Intestine Mucosa Morphology, and Meat Yield of Broilers. **The Journal of Applied Poultry Research**, v. 16, n. 4, p. 555 – 562, 2007.

GHAZALAH, A. A.; ATTA, A. M.; ELKLOUB, K.; MOUSTAFA, M. EL.; SHATA, R. F. H. Effect of dietary supplementation of organic acids on performance nutrients digestibility and health of broiler chicks. **International Journal of Poultry Science**, v. 10, n. 3, p. 176 – 184, 2011.

GREENACRE, E. J.; BROCKLEHURST, T. F.; WASPE, C. R.; WILSON, D. R.; WILSON, P. D. G. *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium and *Listeria monocytogenes* Acid Tolerance Response Induced by Organic Acids at 20°C: Optimization and Modeling. **Applied and environmental microbiology**, v. 69, n. 7, 2003.

GRILLI, E.; TUGNOLI, B.; FORMIGONI, A.; MASSI, P.; FANTINATI, P.; TOSI, G.; PIVA, A. Microencapsulated sorbic acid and nature-identical compounds reduced *Salmonella* Hadar and *Salmonella* Enteritidis colonization in experimentally infected chickens. **Poultry Science**, v. 90, n. 8, p. 1676 – 1682, 2011.

HALL, H. K.; FOSTER, J. W. The role of fur in the acid tolerance response of *Salmonella* typhimurium is physiologically and genetically separable from its role in iron acquisition. **J Bacteriol**, v. 178, n. 19, p. 5863 – 5691, (1996).

HOUSHMAND, M.; AZHAR, K.; ZULKIFLI, I.; BEJO, M. H.; KAMYAB, A. Effects of nonantibiotic feed additives on performance, nutrient retention, gut pH, and intestinal morphology of broilers fed different levels of energy. **The Journal of Applied Poultry Research**, v. 20, n. 2, p. 121 – 128, 2011.

HUYGHEBAERT, G.; RICHARD, D., VAN IMMERSSEEL, F.. An update on alternatives to antimicrobial growth promoters for broilers. **Veterinary Journal**, v. 187, n. 2, p. 182 – 188, 2011.

ICHIKAWA, H.; SHINEHA, R.; SATOMI, S.; SAKATA, T. Gastric or Rectal Instillation of Short-Chain Fatty Acids Stimulates Epithelial Cell Proliferation of Small and Large Intestine in Rats. **Digestive Diseases and Sciences**, v. 47, n. 5, 2002.

JACKSON, B. R.; GRIFFIN, P. M.; COLE, D.; WALSH, K. A.; CHAI, S. J. Outbreak-associated *Salmonella enterica* Serotypes and Food Commodities, United States, 1998–2008. **Emerging Infectious Diseases**, v. 19, n. 8, 2013.

JOZEFIAK, D.; KACZMAREK, S.; BOCHENEK, M.; RUTKOWSKI, A. A note on effect of benzoic acid supplementation on the performance and microbiota population of broiler chickens. **Journal of Animal and Feed Sciences**, v. 16, n. 2, p. 252 – 256, 2007.

FOSTER, J. W.; HALL, H. K. Adaptive acidification tolerance response of *Salmonella* Typhimurim. **Journal of Bacteriology**, v. 172, n. 2, p. 771 – 778, 1990.

KHANA, S. H.; IQBAL, J. Recent advances in the role of organic acids in poultry nutrition. **Journal of applied animal research**, v. 44, n. 1, p. 359 – 369, 2016.

KWON, Y. M.; RICKE, S. C. Induction of Acid Resistance of *Salmonella typhimurium* by Exposure to Short-Chain Fatty Acids. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 64, n. 9, p. 3458 – 3463, 1998.

KOTTWITZ, L. B. M., OLIVEIRA, T. C. R. M., ALCOCER, I., FARAH, S. M. S. S., ABRAHÃO, W. S. M., AND RODRIGUES, D. P. Epidemiologic data of salmonellosis outbreaks occurred between 1999 and 2008 in Paraná State, Brazil. *Acta Scientiarum*. v. 32, n. 1, p. 9 – 15, 2010.

KOUTSOUMANIS, K.P.; SOFOS, J.N. Comparative acid stress response of *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella Typhimurium* after habituation at different pH conditions. **Letters in Applied Microbiology**, v. 38, n. 4, p. 321 – 326, 2004.

LAUDADIO, V.; PASSANTINO, L.; PERILLO, G.; LOPRESTI, G.; PASSANTINO, A.; KHAN, R. U.; TUFARELLI, V. Productive performance and histological features of intestinal mucosa of broiler chickens fed different dietary protein levels. **Poultry Science**, v. 91, n. 1, p 265 – 270, 2012.

LOUREIRO E.C.B., MARQUES N.D.B., RAMOS F.L.P., REIS E.M.F., RODRIGUES D.P. & HOFER E. 2010. *Salmonella* serovars of human origin identified in Pará State, Brazil from 1991 to 2008. **Revta Pan-Amaz. Saude**, v. 1, n. 1, p. 93 – 100, 2010.

LÜCKSTÄDT, C.; MELLOR, S. The use of organic acids in animal nutrition, with special focus on dietary potassium diformate under European and Austral-Asian. conditions. **Recent Advances in Animal Nutrition**, v. 18 p. 123 – 130, 2011.

MAIORKA, A.; SANTIN, A.M.E.; BORGES, S.A.; OPALINSKI, M.; SILVA, A.V.F. Emprego de uma mistura de ácidos fumárico, láctico, cítrico e ascórbico em dieta iniciais de frangos de corte. **Archives of Veterinary Science**, v. 9, n. 1, p. 31 - 37, 2004.

MAJOWICZ, S. E.; MUSTO, J.; SCALLAN, E.; ANGULO, F. J.; KIRK, M.; SARAH J. O'BRIEN, S. J.; TIMOTHY F. JONES, T. F.; FAZIL, A.; HOEKSTRA, R. V. The International Collaboration on Enteric Disease 'Burden of Illness' Studies The Global Burden of Nontyphoidal *Salmonella* Gastroenteritis. **Clinical Infectious Diseases**, v. 50, n. 6, p. 882 – 889, 2010.

MENCONI, A.; REGINATTO, A.R.; LONDERO, A.; PUMFORD, N.R.; MORGAN, M.; HARGIS, B.M.; TELLEZ, G. Effect of Organic Acids on *Salmonella Typhimurium* Infection in Broiler Chickens. **International Journal of Poultry Science**, v. 12, n. 2, p. 72 - 75, 2013.

MOREIRA, G. N.; REZENDE, C. S. M.; CARVALHO, R. N.; MESQUITA, S. Q. P.; OLIVEIRA, A. N.; ARRUDA, M. L. T. Ocorrência de *Salmonella* sp. em carcaças de frangos abatidos e comercializados em municípios do estado de Goiás. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 67, n. 2, p. 126 - 130, 2008.

MROZ, Z. Organic Acids as Potential Alternatives to Antibiotic Growth Promoters for Pigs. **Advances in Pork Production**, v. 16, p. 169 – 182, 2005.

NAVA, G. M., ATTENE-RAMOS, M. S.; GASKINS, R.; RICHARDS, J. D. Molecular analysis of microbial community structure in the chicken ileum following organic acid supplementation. **Veterinary Microbiology**, 2009 Jun 12; v. 137, n. 12, p. 345 – 353, jul. 2009.

PAN, D.; YU, Z. Intestinal microbiome of poultry and its interaction with host and diet. **Gut Microbes**, v. 5, n. 1, p. 108 – 119, 2014.

PARTANEN K.H., MROZ Z.: Organic acids for performance enhancement in pig diets. *Nutrition Research Reviews*, v. 12, p. 117 – 145, 1999.

PAUL, S. K.; HALDER, G.; MONDAL, M. K.; SAMANTA, G. Effect of organic acid salt on the performance and gut health of broiler chicken. **The Journal of Poultry Science**, v. 44, n. 4, p. 389 – 395, 2007.

PICKLER, L.; HAYASHI, R. M.; LOURENÇO, M. C.; MIGLINO, L. B.; CARON, L. F.; BEIRÃO, B. C. B.; SILVA, A. V. F.; SANTIN, E. Avaliação microbiológica, histológica e imunológica de frangos de corte desafiados com *Salmonella* Enteritidis e Minnesota e tratados com ácidos orgânicos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, n. 1, p. 27 - 36, 2012.

PICKLER, L.; MUNIZ, E. C.; KURITZA, L. N.; LOURENÇO, M. C.; SANTIN, E. Resposta imunológica e uso de ácidos orgânicos em frangos desafiados com *Salmonella* Minnesota. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 42, p. 1 – 9, 2014.

PIRGOZLIEV, V.; MURPHY, T. C.; OWENS, B.; GEORGE, J.; MCCANN, M. E. E. Fumaric and sorbic acid as additives in broiler feed. **Research in Veterinary Science**, v. 84, n. 3, p. 387– 394, 2008.

PRIETO, R. G.; ALEJANDRE, C. G.; MECA, A. A.; BARRERA, V. H.; MIGUEL, A. G. Epidemiology of hospital-treated *Salmonella* infection; Data from a national cohort over a ten-year period. **Journal of Infection**, v. 58, n. 3, p. 175 – 181, 2009.

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, 2008.

RICKE, S. C. Perspectives on the Use of Organic Acids and Short Chain Fatty Acids as Antimicrobials. **Poultry Science**, v. 82, n. 4, p. 632 – 639, 2003.

ROCHA, A. P.; ABREU, R. D.; COSTA, M. C. M. M.; OLIVEIRA, G. J. C.; ALBINATI, R. C. B.; PAZ, A. S.; QUEIROZ, L. G.; PEDREIRA, T. M. Prebióticos, ácidos orgânicos e probióticos em rações para frangos de corte. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 11, n. 3, p. 793 – 801, 2010.

ROE, A. J.; O'BYRNE, C.; MCLAGGAN, D.; BOOTH, I. R. **Microbiology**, v. 148, p. 2215 – 2222, 2002.

SALEEM, G.; RAMZAAN, R.; KHATTAK, F.; AKHTAR, R. Effects of acetic acid supplementation in broiler chickens orally challenged with *Salmonella Pullorum*. **Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences**, v. 40, p. 434 - 443, 2016.

SAMANTA, S.; HALDAR, S.; GHOSH, T. K. Comparative Efficacy of an Organic Acid Blend and Bacitracin Methylene Disalicylate as Growth Promoters in Broiler Chickens: Effects on Performance, Gut Histology, and Small Intestinal Milieu. **Veterinary Medicine International**, v. 2010, p. 1 - 8, 2010.

SCHUTTE, J. B. Nutritive and antimicrobial effects of organic acids in pigs. **Revista Computadorizada de Producción Porcina**, v. 18 n. 2, 2011.

SILVA, S. Q.; SANTOS, M. T.; PAES, S. A. Efeito de ácido sobre o crescimento e sobrevivência de *Salmonella enterica* Enteritidis isolada de carcaça de suíno. **Nucleus Animalium**, v. 7, n. 1, p. 59 – 70, 2015.

SKRIVANOVÁ, E.; MAROUNEK, M. Influence of pH on Antimicrobial Activity of Organic Acids against Rabbit Enteropathogenic Strain of *Escherichia coli*. **Folia Microbiologica**, v. 52, p. 70 – 72, 2007.

SKRIVANOVÁ, E.; MAROUNEK, M.; DLOUHÁ, G.; KANKA, V. Susceptibility of *Clostridium perfringens* to C2–C18 fatty acids. **Letters in Applied Microbiology**, v. 41, p. 77 – 81, 2005.

SPECTOR, M. P.; KENYON, W. Resistance and survival strategies of *Salmonella enterica* to environmental stresses. **Food Research International**, v. 45, n. 2, p. 455 – 481, 2012.

TAITT, C. R.; SHUBIN, Y.S. e ANGEL, R. Detection of *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium by using a Rapid, Array-Based Immunosensor. **Applied and Environmental Microbiology**, v.70, n.1, p.152-158, 2004.

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

VAN IMMERSEEL, F., V. FIEVEZ, J. DE BUCK, F. PASMANS, A. MARTEL, F. HAESBROUCK, AND R. DUCATELLE. Microencapsulated short-chain fatty acids in feed modify colonization and invasion early after infection with *Salmonella* Enteritidis in young chickens. **Poultry Science**, v. 83, n.1, p. 69 – 74, 2004.

VIEIRA, M. A. M. Ilhas de patogenicidade. **O Mundo da Saúde**, v. 33, n. 4, p. 406 – 414, 2009.

VIOLA, E. S.; VIEIRA, S. L.; TORRES, C. A.; FREITAS, D. M.; BERRES, J. Desempenho de frangos de corte sob suplementação com ácidos láctico, fórmico, acético e fosfórico no alimento ou na água. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, n.2, p. 296 - 302, 2008.

VON ENGELHARDT, W.; BARTELS, J.; KIRSCHBERGER, S.; MEYER ZU DÜTTINGDORF, H.D.; BUSCHE, R. Role of short – chain fatty acids in the gut. **The Veterinary Quarterly**, v. 20, n. 3, p. 52 – 58, 1998.

WANG , J. P.; LEE, J. H.; YOO, CHO, J. H.; KIM, H. J.; KIM, I. H. Effects of phenyllactic acid on growth performance, intestinal microbiota, relative organ weight, blood characteristics, and meat quality of broiler chicks. **Poultry Science**, v. 89, n. 7, p. 1549 – 1555, 2010.

YANG, X.; BRISBIN, J.; YU, H.; WANG, Q.; YIN, F.; ZHANG, Y.; SABOUR, P.; SHARIF, S.; GONG, J. Selected Lactic Acid-Producing Bacterial Isolates with the Capacity to Reduce Salmonella Translocation and Virulence Gene Expression in Chickens. **Plos one**, v. 9, n.4, p. 1 – 10, 2014.

## 4. OBJETIVOS

### 4.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o efeito da suplementação de diferentes níveis de uma mistura de ácidos orgânicos na ração de frangos de corte sobre o desempenho, qualidade da carne, digestibilidade de nutrientes, microbiologia intestinal e controle da *Salmonella* Enteritidis.

### 4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Avaliar o efeito da suplementação de diferentes níveis de ácidos orgânicos na ração de frangos de corte sobre o desempenho zootécnico.

Avaliar o efeito da suplementação de diferentes níveis de ácidos orgânicos na ração de frangos de corte sobre o rendimento de carcaça e cortes e qualidade da carne.

Determinar a digestibilidade dos nutrientes de frangos de corte suplementados com diferentes níveis de ácidos orgânicos.

Determinar o efeito da suplementação de diferentes níveis de ácidos orgânicos na ração de frangos de corte sobre a população de bactérias ácido láctica.

Quantificar no número de UFC/mL de *Salmonella* Enteritidis após infecção experimental.

**5. ARTIGO 1. EFEITO DA UTILIZAÇÃO DE ÁCIDOS ORGÂNICOS SOBRE O DESEMPENHO, MORFOLOGIA INTESTINAL E DIGESTIBILIDADE DE NUTRIENTES E QUALIDADE DE CARNE EM FRANGOS DE CORTE.**

**Artigo redigido de acordo com as normas da revista Semina: Ciências Agrárias**

## **Efeito da utilização de ácidos orgânicos sobre o desempenho, morfologia intestinal, digestibilidade de nutrientes e qualidade de carne em frangos de corte.**

### **RESUMO**

Foram realizados dois experimentos com objetivo de avaliar o efeito da utilização de ácidos orgânicos sobre o desempenho, morfologia intestinal e digestibilidade de nutrientes de frangos de corte. Em ambos os experimentos os tratamentos utilizados foram: ração contendo 10 mg de avilamicina  $\text{kg}^{-1}$  de ração (controle positivo) e diferentes níveis de suplementação de uma mistura de ácidos orgânicos (0, 0,50, 0,75 e 1,5 g de ácidos orgânicos  $\text{kg}^{-1}$  de ração). No primeiro experimento foram utilizados 1040 frangos de corte distribuídos em um delineamento em blocos ao acaso, com 8 repetições de 26 aves cada. No segundo experimento foram utilizados 240 frangos de corte distribuídos em um delineamento inteiramente ao acaso, com 4 repetições de 12 aves. Os resultados mostram que os diferentes níveis de ácidos orgânicos não influenciou o consumo de ração, conversão alimentar e viabilidade criatória, enquanto que frangos de corte alimentados com 0 e 0,50 g  $\text{kg}^{-1}$  de ração de ácidos orgânicos apresentaram menor ganho de peso em relação ao controle positivo. Não foi observada diferença significativa para peso e comprimento relativo do intestino delgado, proventrículo, moela, fígado e número de bactérias ácidos lácticas. Contudo, frangos alimentados com 0,75 g  $\text{kg}^{-1}$  de ração de ácidos orgânicos apresentaram menor altura de vilosidades do jejuno e os alimentados com 0,50 g  $\text{kg}^{-1}$  de ração de ácidos orgânicos apresentaram menor profundidade de cripta em relação ao controle positivo. Também não foi observado efeito sobre o rendimento de carcaça e cortes. Entretanto, frangos alimentados com 0,75 g  $\text{kg}^{-1}$  de ração de ácidos orgânicos apresentaram maior valor de L e perdas de água por cocção. Somente houve diferença no coeficiente de digestibilidade da matéria mineral, que foi menor para no controle positivo em relação aos demais tratamentos. A utilização de níveis mais elevados de ácidos orgânicos pode substituir os antibióticos, uma vez que apresentaram desempenho semelhante ao controle positivo e melhor digestibilidade de minerais, sem alterar as características de carcaça e carne das aves.

**Palavras chaves:** criptas, microrganismos, minerais, vilosidades intestinais.

**Effect of the use of organic acids on performance, intestinal morphology, nutrient digestibility and meat quality in broilers.**

**ABSTRACT**

Two experiments were carried out to evaluate the effect of organic acids on performance, intestinal morphology and nutrient digestibility of broilers. In both experiments the treatments used were: ration containing 10 mg of avilamycin / kg of feed (positive control) and different levels of supplementation of a mixture of organic acids (0, 0,50, 0,75 and 1,5 g of Organic acids / kg of feed). In the first experiment, 1040 broilers were distributed in a randomized complete block design, with 8 replicates of 26 birds each. In the second experiment, 240 broilers distributed in a completely randomized design with 4 replicates of 12 birds were used. The results showed that the different levels of organic acids did not influence feed intake, feed conversion and viability, while broilers fed 0 and 0.50 g / kg of organic acid feed showed lower weight gain to positive control. No significant difference was observed in relative weight and length of the small intestine, proventriculus, gizzard, liver and number of lactic acid bacteria. However, chickens fed 0.75 g / kg of organic acid feed showed lower jejuna villus height and those fed with 0.50 g / kg of organic acid feed presented lower crypt depth than the positive control. No effect on carcass yield and cuts was also observed. However, broilers fed 0.75 g / kg of organic acid feed had a higher L value and water losses due to cooking. There was only difference in the digestibility coefficient of the mineral matter, which was lower for the positive control in relation to the other treatments. The use of higher levels of organic acids may replace antibiotics, since they presented similar performance to the positive control and better digestibility of minerals, without changing the carcass and meat characteristics of the birds.

**Key words:** Crypts, intestinal villi, microorganisms, minerals.

## 5.1 INTRODUÇÃO

O trato gastrointestinal das aves é densamente povoado por microrganismos que, de forma estreita e intensa, interagem com o hospedeiro e com a alimentação ingerida. Desta forma, diferentes intervenções dietéticas têm sido utilizadas para alterar a microbiota intestinal e promover a melhora no desempenho zootécnico e reduzir o risco de infecções por patógenos (PAN; YU, 2014).

Os antibióticos foram amplamente utilizados a fim de alterar a microbiota intestinal, uma vez que estes agem sobre os microrganismos e assim melhoram o desempenho animal (DIBNER; RICHARDS, 2005). Contudo, com a possibilidade de seleção de microrganismos resistentes e de transferência de genes de resistência a antibióticos destinados aos animais para a microbiota humana, levou a União Europeia a proibir o uso dos antibióticos como promotores de crescimento desde 2006 (CASTANON, 2007).

Desta forma, para compensar possíveis prejuízos na produção animal, devido a restrições à utilização dos antibióticos como promotor de crescimento, vários aditivos vêm sendo investigado. Entre as opções, os ácidos orgânicos mostram como um dos mais promissores, uma vez que seu principal modo de ação é sobre os microrganismos, sendo assim, semelhante aos antibióticos (DIBNER; BUTTIN, 2002; NAVA et al., 2009).

Além de sua ação sobre os microrganismos, os ácidos orgânicos quando suplementados na dieta de frangos de corte tem apresentado resultados positivos sobre a morfologia intestinal, com aumento na altura das vilosidades intestinais e diminuição da profundidade de cripta (GARCIA et al., 2007; ADIL et al., 2010; SAMANTA et al. 2010).

Resultados positivos também são observados na digestibilidade de proteínas e minerais. Isso ocorre devido a redução do pH estomacal que melhora a atividade da pepsina e assim a digestibilidade das proteínas e a formação de complexo entre os ânions, liberados da dissociação dos ácidos orgânicos, e minerais que facilitam a sua absorção (GARCIA et al., 2007; ABDEL-FATTAH et al., 2008; HOUSHMAND et al., 2011;).

Devido às alterações positivas na morfologia intestinal e ao melhor aproveitamento dos nutrientes da dieta, estudos mostram resultados positivos no desempenho zootécnico, com melhor conversão alimentar e maior ganho de peso para frangos de corte alimentados com ácidos orgânicos (ADIL et al., 2010; ROCHA et al., 2010). Desta forma, este trabalho tem por objetivo avaliar o efeito da adição de diferentes níveis de ácidos orgânicos sobre o desempenho, morfologia intestinal, população de bactérias lácticas, digestibilidade de nutrientes e qualidade da carne em frangos de corte.

## 5.2 MATERIAL E MÉTODOS

Foram conduzidos dois experimentos na unidade experimental de avicultura da Universidade de Londrina. O primeiro consistiu em um ensaio de desempenho e o segundo em um ensaio de digestibilidade. A mistura de ácidos orgânicos testada era composta por formiato de cálcio, propionato de cálcio, sorbato de

potássio e ácido fumárico. Em ambos os experimentos, os tratamentos experimentais (Tabela 1) consistiam em rações formuladas de acordo com as recomendações mínimas estabelecidas por Rostagno et al. (2011), diferindo apenas quanto o aditivo utilizado. A Composição percentual calculada da ração utilizada no segundo experimento está apresentada na Tabela 2.

**Tabela 1.** Tratamentos utilizados nos ensaio de desempenho e digestibilidade de nutrientes.

Tratamentos	Descrição dos tratamentos
T1	Controle positivo (10 mg de avilamicina kg <sup>-1</sup> de ração)
T2	0
T3	0,50 g de ácidos orgânicos kg <sup>-1</sup> de ração
T4	0,75 g de ácidos orgânicos kg <sup>-1</sup> de ração
T5	1,50 g de ácidos orgânicos kg <sup>-1</sup> de ração

Fonte: autor

**Tabela 2.** Composição percentual calculada da ração utilizada no experimento de digestibilidade de nutrientes.

Ingrediente	Valor %
Milho grão	62,490
Farelo de soja 45%	30,570
Óleo de soja	3,277
Fosfato bicálcico	1,329
Calcário	0,811
Sal comum	0,404
Premix <sup>1</sup>	0,400
L – Lisina	0,298
DL – Metionina	0,286
L – Treonina	0,092
<b>Total</b>	<b>99,570</b>
<b>Exigências atendidas</b>	
Energia metabolizável (Mcal/kg)	3,150
Proteína bruta (%)	19,800
Cálcio (%)	0,758
Fósforo disponível (%)	0,354
Lisina digestível (%)	1,131
Metionina digestível (%)	0,560
Metionina – cisteína digestível (%)	0,826
Treonina digestível (%)	0,735

Fonte: autor; Suplemento mineral vitamínico: Vitamina A 1.000.000UI/kg; Vitamina D3 200.000UI/kg; Vitamina E 3.500UI/kg; Vitamina B1 150mg/kg; Vitamina B2 500mg/kg; vitamina B6 250mg/kg; vitamina B12 1.250mcg/kg; Vitamina K3 180mg/kg; Pantotenato de Cálcio 1.200 mg/kg; Niacina 3.500mg/kg; Ácido fólico 70 mg/kg; Biotina 7mg/kg; Metionina 300g/kg; Colina 45g/kg; B.H.T 1.000mg/kg; Zinco 14g/kg; Ferro 12g/kg; Manganês 15g/kg; Cobre 2.700mg/kg; Iodo 250mg/kg; Cobalto 50mg/kg; Selênio 72mg/kg; Veículo Q.S.P 1.000g/kg.

## Experimento I

Foram utilizados 1040 frangos de corte com um dia de idade da linhagem comercial Cobb, distribuídos em delineamento em blocos casualizado com oito repetições por tratamento, contendo 26 aves por parcela experimental.

O manejo adotado neste experimento foi o empregado tradicionalmente em granjas comerciais, com água e ração *ad libitum*. Ao final de cada fase de criação (7, 21, 35 e 42 dias de idade), cada parcela experimental foi quantificada, para determinação do consumo de ração, ganho de peso, conversão alimentar e viabilidade criatória.

Aos 21 dias de idade uma ave por repetição foi sacrificada por deslocamento cervical, para coleta do intestino delgado (duodeno, jejuno e íleo) e dos cecos com a finalidade de realizar análise histológica e determinar o número de bactérias ácidos lácticas, respectivamente.

Os fragmentos do intestino delgado coletados foram fixados em formol tamponado 10 % por 24 horas. Após este período o formol foi removido e os fragmentos foram colocados em álcool 70 % para posterior análise.

Para obtenção das lâminas histológicas as amostras foram desidratadas em soluções de álcool etílico 70%, 90% e álcool absoluto. Em seguida, foram diafanizadas em xilol e incluídas em parafina histológica. Cinco cortes seriados de cinco micrômetros (5 $\mu$ m) foram obtidos a cada 100 micrômetros de distância em micrótomo.

Os cortes foram corados em hematoxilina e eosina e analisados em microscópio óptico. As imagens histológicas foram obtidas em sistema de captura de imagens Moticam 2.0 e no software Motic Image Plus, em objetiva 5x. As imagens foram digitalizadas e avaliadas por um único observador e cego para a alocação dos grupos experimentais. Nos cortes histológicos foram avaliadas três regiões diferentes de cada corte para mensuração de altura de vilosidade e profundidade de cripta.

Já as amostras coletadas dos cecos foram acondicionadas em sacos plásticos estéreis. Posteriormente foram maceradas e diluídas com PBS (pH 7,2) na proporção 1:10. Em seguida, foram realizadas as demais diluições seriadas, as quais foram plaqueadas em Agar (MRS). A leitura das placas, para a determinação do número de bactérias ácidos lácticas, foi feita após incubação a 37°C por 24 horas, sob condições de anaerobiose.

Aos 42 dias de idade foram separadas três aves que apresentava o peso médio da parcela experimental, as quais, após jejum alimentar de 8 horas, foram abatidas para determinação do rendimento de carcaça e de cortes e da qualidade da carne.

As aves foram abatidas conforme prática comercial, com pendura, insensibilização por eletronarcolese, sangria, escaldagem, depenagem, evisceradas. As aves foram insensibilizadas, por aparelho da marca Fluxo, modelo FX 2.0. m, com frequência de 200 Hz e voltagem de 100 mA .

O rendimento de carcaça foi calculado de acordo com o peso vivo da ave antes do abate. O rendimento dos cortes comerciais (pernas, peito, asas e dorso) foi calculado com base no peso da carcaça (eviscerada, sem cabeça+pescoço e pés).

Amostras do músculo *pectoralis major* foram coletadas, identificadas em sacos plásticos, colocadas em água com gelo e encaminhadas ao laboratório, onde foram armazenadas a 4°C por 24 horas para a realização das análises.

A mensuração do pH das amostras de carne dos peitos foi realizada através da inserção de eletrodo na parte cranial do músculo *pectoralis major*, usando potenciômetro de contato (Testo 205), conforme o relatado por Olivo et al. (2001).

A mensuração da cor foi realizada em três pontos da face ventral do *pectoralis major* 24 horas *post mortem* (Olivo et al. 2001). Para esta análise foi utilizado o colorímetro Komica Minolta CR10 e os resultados foram expressos em L\* (luminosidade), a\*(componente vermelho – verde) e b\* (componente amarelo – azul) do sistema CIELAB.

A mensuração da capacidade de retenção de água foi realizada 24 horas *post mortem* no músculo *pectoralis major* de acordo com o método descrito por Hamm et al. (1960).

A perda de água por cocção foi determinada conforme metodologia descrita por Cason et al. (1997), onde amostras de carne do peito foram pesadas e embaladas, sendo em seguida transferidas para banho Maria a 85°C por 30 minutos.

Para avaliação da maciez foi utilizado o equipamento Texture Analyzer TA-XT2i, acoplado a sonda Warner-Bratzler. Foram utilizadas as amostras de carne de peito cozidas da determinação das perdas por cocção, onde estas foram cortadas em tiras de aproximadamente 1,5 cm de largura, sendo colocada com as fibras orientadas no sentido perpendicular a lâmina Warner-Bratzler, determinando-se a força máxima necessária para efetuar seu corte.

## Experimento II

Foram utilizadas 240 frangos de corte machos da linhagem comercial Cobb com 18 dias de idade. Para início do experimento as aves foram pesadas, homogeneizadas e distribuídas em um delineamento inteiramente casualizado com seis tratamentos e quatro repetições de doze aves por unidade experimental. As aves foram alojadas em gaiolas metabólicas que dispunham de bebedouro tipo nipple e comedouro tipo calha.

O período experimental constituiu-se de oito dias, sendo três para adaptação das aves às rações experimentais e cinco para coleta das excretas. A digestibilidade dos nutrientes foi determinada utilizando-se o método de coleta total de excretas, conforme metodologia descrita por Albino et al. (1982).

Para identificar as excretas provenientes das rações em estudo, adicionou-se 1% de óxido de ferro nas rações no primeiro e no último dia de coleta. As excretas foram coletadas duas vezes ao dia, no início da

manhã e no final da tarde. Uma vez coletadas, foram acondicionadas em sacos plásticos, identificadas por repetição e congeladas.

Após descongelamento à temperatura ambiente, as excretas de cada repetição foram homogeneizadas para a retirada de uma amostra, que foi seca em estufa de ventilação forçada a 65°C, por 72 horas, a fim de promover a pré-secagem e determinar peso da amostra seca ao ar. Em seguida, as amostras foram processadas em moinho tipo faca, com peneira de 1 mm e encaminhadas ao laboratório para realização das análises de matéria seca, proteína, extrato etéreo e cinzas conforme metodologia descrita por Mizubuti (2009).

#### Análises estatísticas

Os dados referentes aos diferentes níveis de ácidos orgânicos foram submetidos à análise de variância e regressão a 5 %, utilizando-se o programa computacional R. Além disso, foi realizado o teste de Dunnett a 5 % para comparar as aves que receberam dieta com antibiótico com os demais tratamentos.

### 5.3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os resultados mostram que não houve diferença significativa para o consumo de ração, conversão alimentar e viabilidade para todos os períodos analisados (Tabela 3). Até os 21 dias de idade também não houve diferença significativa para o ganho de peso, contudo a partir deste período, observou-se diferença ( $p < 0,05$ ), onde as aves do tratamento controle negativo e as que receberam ácidos orgânicos na dosagem de 0,5 g kg<sup>-1</sup> de ração apresentaram menor ganho de peso em relação aos frangos que receberam a ração com avilamicina. Assim, o uso de ácidos orgânicos pode substituir o antibiótico, uma vez que não houve diferença significativa para o ganho de peso entre os frangos dos tratamentos adicionados com ácidos orgânicos nas dosagens de 0,75 e 1,50 g kg<sup>-1</sup> de ração e o que receberam avilamicina.

Resultados semelhantes foram encontrados por Adil et al. (2011) que observaram maior ganho de peso para frangos de corte suplementados com diferentes níveis de ácidos orgânicos (butírico, fumárico ou láctico) em relação ao controle negativo que não receberam aditivo.

Maiorka et al. (2004) ao suplementar frangos de corte com uma mistura de ácidos fumárico, láctico, cítrico e ascórbico na dieta de frangos de corte jovens, não observaram efeito sobre o ganho de peso, contudo, observaram melhora na conversão alimentar, no período de 1 a 7 dias de idade, quando comparado ao tratamento controle que não recebeu aditivo. Nesse mesmo trabalho, os autores também observaram melhora na conversão alimentar, no período de 1 a 21 dias de idade, para os tratamentos que receberam a mistura de ácidos orgânicos ou antibiótico mais ácido orgânico, quando comparado ao tratamento que recebeu apenas o antibiótico.

Segundo Viola et al. (2008), os resultados contraditórios obtidos com a suplementação de ácidos orgânicos nas dietas de frangos de corte, possivelmente ocorrem em razão das diferenças no seu modo de ação, da condição ambiental, da dose utilizada e das respostas avaliadas.

Contudo, os resultados positivos observados sobre o desempenho para frangos suplementados com ácidos orgânicos têm sido atribuídos, principalmente, a redução da microbiota indesejável (GUNAL et al., 2006; PAUL et al., 2007).

**Tabela 3.** Resultados de consumo de ração (CR), ganho de peso (GP), conversão alimentar (CA) e viabilidade criatória de frangos de corte alimentados com diferentes níveis de ácidos orgânicos (AO).

Tratamentos	Período de 1 a 7 dias de idade			
	CR (g/ave)	GP (g/ave)	CA	Viabilidade (%)
10 mg kg <sup>-1</sup> de avilamicina	130	107	1,22	100
0	132	105	1,25	100
0,50 g kg <sup>-1</sup> de AO	125	101	1,24	100
0,75 g kg <sup>-1</sup> de AO	131	108	1,22	100
1,50 g kg <sup>-1</sup> de AO	126	104	1,21	100
Valor de p	0,43	0,58	0,457	-
Cv (%)	7,50	9,43	5,18	-
Tratamentos	Período de 1 a 21 dias de idade			
	CR (g/ave)	GP (g/ave)	CA	Viabilidade (%)
10 mg kg <sup>-1</sup> de avilamicina	980	687	1,42	85
0	972	675	1,44	84
0,50 g kg <sup>-1</sup> de AO	915	639	1,43	78
0,75 g kg <sup>-1</sup> de AO	972	673	1,44	86
1,50 g kg <sup>-1</sup> de AO	958	704	1,37	81
Valor de p	0,281	0,258	0,25	0,38
Cv (%)	8,68	10,11	4,40	10,34
Tratamentos	Período de 1 a 35 dias de idade			
	CR (g/ave)	GP (g/ave)	CA	Viabilidade (%)
10 mg kg <sup>-1</sup> de avilamicina	3012	2049	1,46	72
0	2866	1942*	1,47	72
0,50 g kg <sup>-1</sup> de AO	2840	1913*	1,48	71
0,75 g kg <sup>-1</sup> de AO	2903	1984	1,46	70
1,50 g kg <sup>-1</sup> de AO	2970	2025	1,46	65
Valor de p	0,14	0,09	0,14	0,39
Cv (%)	4,36	4,36	2,05	12,89
Tratamentos	Período de 1 a 42 dias de idade			
	CR (g/ave)	GP (g/ave)	CA	Viabilidade (%)
10 mg kg <sup>-1</sup> de avilamicina	4247	2681	1,58	70
0	4086	2536*	1,61	71
0,50 g kg <sup>-1</sup> de AO	4106	2538*	1,61	68
0,75 g kg <sup>-1</sup> de AO	4218	2640	1,59	68
1,50 g kg <sup>-1</sup> de AO	4221	2634	1,60	64
Valor de p	0,14	0,09	0,14	0,39
Cv (%)	4,36	4,36	2,05	12,89

Fonte: autor; \* Diferença significativa pelo teste de Dunnett (< 0,01)

Na Tabela 4 estão apresentados os resultados referentes ao peso relativo de diferentes partes do trato gastrointestinal e da quantidade de bactérias ácidos lácticas. Os resultados mostram que não houve diferença significativa para o comprimento do intestino e dos pesos relativos do intestino, proventrículo, moela, fígado e número de bactérias ácidos lácticas.

**Tabela 4.** Peso relativo do intestino (PI), proventrículo (PP), moela (PM) e fígado (PF), comprimento do intestino (CI) e número de bactérias ácidos lácticas (BAL) de frangos de corte aos 43 dias de idade e que foram alimentados com diferentes níveis de ácidos orgânicos (AO) e avilamicina no período de 1 a 42 dias de idade.

Tratamentos	CI (cm)	PI (%)	PP (%)	PM (%)	PF (%)	BAL (UFC/mL)
10 mg kg <sup>-1</sup> de avilamicina	0,188	5,888	0,597	2,160	2,827	8,664
0	0,183	5,450	0,581	2,103	2,613	9,072
0,50 g kg <sup>-1</sup> de AO	0,196	5,826	0,590	2,307	2,969	8,883
0,75 g kg <sup>-1</sup> de AO	0,191	5,721	0,596	2,156	2,844	8,240
1,50 g kg <sup>-1</sup> de AO	0,188	5,484	0,576	2,099	2,752	8,458
Valor de p	0,632	0,922	0,310	0,084	0,696	0,278
Cv (%)	11,430	10,600	11,550	10,860	9,070	7,970

Fonte: autor

Os resultados encontrado neste trabalho diferem do encontrado por Viola et al. (2008), que observaram menor peso relativo do intestino delgado aos 7 dias de idade para frangos de corte que alimentados com a dieta controle em relação aos que foram alimentados com ração adicionada de uma mistura de ácidos orgânicos (lático, fórmico e acético). Para os autores, alguns ácidos apresentam efeito estimulador na proliferação de enterócitos, que resulta em aumento da massa intestinal e melhora da capacidade de absorção dos nutrientes.

Trabalhos também mostram aumento no número de *Lactobacillus* e de bactérias ácido lácticas no íleo para frangos de corte suplementados com ácidos orgânicos (NAVA et al., 2009; AKYUREK et al., 2011). Contudo este trabalho mostrou que não houve alteração no número de bactérias ácidos lácticas no ceco.

A estrutura da comunidade microbiana do ceco é significativamente mais complexa do que a do ingluvívio e do intestino delgado, sendo composta principalmente por lactobacilos, enquanto o ceco possui comunidade microbiana mais diversificada (BJERRUM et al., 2006). Assim, é possível que a suplementação de ácidos orgânicos tenha aumentado o número de bactérias ácidos lácticas nas demais partes do trato gastrointestinal.

Na Tabela 5 estão apresentados os resultados referentes à morfologia do intestino delgado. Os resultados mostram que houve efeito quadrático para a altura da vilosidade do jejuno, onde a não utilização de ácidos orgânicos ou o nível de 1,5 g kg<sup>-1</sup> de ácidos orgânicos proporcionaram maiores altura de vilo, sendo o ponto mínimo para menor altura de vilosidade ocorreu com nível estimado de 0,96 g kg<sup>-1</sup> de ácidos orgânicos. Além disso, foi observado no íleo, que o tratamento com menor nível de adição de ácidos orgânicos (0,5 g kg<sup>-1</sup>) apresentou menor profundidade (p<0,05) de cripta em relação ao tratamento que recebeu a dieta com avilamicina.

A morfologia do intestino delgado, incluindo a altura da vilosidade, a profundidade da cripta e sua relação são uma das importantes indicações da saúde intestinal em frangos de corte (DIZAJI et al., 2013). Estudos mostram que a adição de ácidos orgânicos altera a morfologia do intestino delgado (GARCIA et al., 2007; ADIL et al., 2010; SAMANTA et al. 2010).

**Tabela 5.** Altura do vilos (AV), profundidade de cripta (PC) e relação altura de vilos e profundidade de cripta (AV / PC) de frangos de corte com 21 dias de idade e alimentados com diferentes níveis de ácidos orgânicos (AO) e avilamicina.

Tratamentos	Duodeno		
	AV (µm)	PC (µm)	AV / PC (µm)
10 mg kg <sup>-1</sup> de avilamicina	1589,024	299,918	5,490
0	1575,607	261,383	6,065
0,50 g kg <sup>-1</sup> de AO	1494,510	268,170	5,702
0,75 g kg <sup>-1</sup> de AO	1478,673	295,702	5,048
1,50 g kg <sup>-1</sup> de AO	1486,819	254,181	5,953
Valor de P	0,598	0,224	0,094
Cv (%)	10,540	15,150	14,540
	Jejuno		
10 mg kg <sup>-1</sup> de avilamicina	864,354	192,597	4,668
0	985,971	191,526	5,244
0,50 g kg <sup>-1</sup> de AO	883,728	199,543	4,694
0,75 g kg <sup>-1</sup> de AO	855,126	171,545	5,043
1,50 g kg <sup>-1</sup> de AO	897,725	169,949	5,404
Valor de P	0,032 <sup>1</sup>	0,125	0,286
Cv (%)	8,460	15,250	14,480
	Íleo		
10 mg kg <sup>-1</sup> de avilamicina	660,829	205,631	3,277
0	621,577	176,669	3,580
0,50 g kg <sup>-1</sup> de AO	589,400	163,113*	3,630
0,75 g kg <sup>-1</sup> de AO	605,728	179,702	3,455
1,50 g kg <sup>-1</sup> de AO	659,874	203,473	3,295
Valor de P	0,269	0,098	0,645
Cv (%)	11,630	17,040	16,180

Fonte: autor; \* Diferença significativa pelo teste de Dunnett ( $p < 0,04$ ); <sup>1</sup> $y = 986,48 - 285,49x + 150,77x^2$ ,  $R^2 = 99,90$ .

Segundo Maioka et al. (2002) o tamanho e densidade das vilosidades estão diretamente relacionados com extrusão e o renovação celular do epitélio da mucosa intestinal. Sendo que o processo de extrusão celular no ápice dos vilos ocorre em decorrência do atrito com o bolo alimentar, presença de toxinas e microrganismos com potencial patogênico. Desta forma, o equilíbrio entre esses dois processos determina um *turnover* constante, ou seja, a manutenção do tamanho dos vilos. Entretanto, quando o intestino responde a algum agente, ocorre o desequilíbrio neste *turnover*, modificando assim a morfologia intestinal.

Desta forma, a diminuição da altura dos vilos e o aumento da profundidade da cripta estão relacionados ao comprometimento da saúde intestinal e conseqüentemente a diminuição da absorção de nutrientes, enquanto que o aumento na altura dos vilos e da relação entre a altura dos vilos e profundidade da cripta estão relacionados à saúde intestinal e melhor absorção (LAUDADIO et al., 2012).

Duas são as hipóteses para o aumento do tamanho dos vilos intestinais. A primeira, é que os ácidos orgânicos podem servir como fonte de energia para as células epiteliais intestinais. Além disso, eles podem regular o fluxo sanguíneo intestinal, estimular o crescimento e proliferação de enterócitos (VON ENGELHARDT et al, 1998; PAN; YU, 2014). A segunda, os ácidos orgânicos afetam a microbiota do intestino, que tem um efeito direto sobre a mucosa intestinal (PARTANEN et al., 2007).

Na Tabela 6 estão apresentados os dados referentes ao rendimento de carcaça e cortes comerciais. Os resultados mostraram que não houve diferença significativa para os rendimentos de carcaça, peito, coxa e

sobrecoxa, asas e gordura abdominal. Resultados semelhantes também foram encontrados por outros autores que não observaram efeito no rendimento de carcaça e cortes em frangos de corte alimentados com dietas adicionadas com ácidos orgânicos (ATPATTU; NELLIGASWATTA, 2005; ADIL et al., 2010; ROCHA et al., 2010).

**Tabela 6.** Resultados de rendimentos de carcaça (RC), peito (RP), dorso (RD), coxa+sobrecoxa (RCS), asas (RA) e gordura abdominal (RG) de frangos de corte alimentados com dietas adicionadas com diferentes níveis de ácidos orgânicos (AO) no período de 1 a 42 dias de idade.

Tratamentos	%					
	RC	RP	RD	RCS	RA	RG
10 mg kg <sup>-1</sup> de avilamicina	73,67	41,56	19,73	28,83	9,87	2,57
0	73,94	42,04	19,26	28,64	10,05	2,37
0,50 g kg <sup>-1</sup> de AO	74,79	43,09	18,79	28,30	9,79	2,27
0,75 g kg <sup>-1</sup> de AO	74,54	42,12	19,38	28,65	9,82	2,30
1,50 g kg <sup>-1</sup> de AO	74,28	41,81	19,59	28,74	9,85	2,57
Regressão	0,07	0,14	0,41	0,74	0,29	0,26
Cv (%)	2,40	6,13	9,00	5,57	5,03	23,61

Fonte: autor

Os resultados de qualidade da carne (Tabela 7) mostram que não houve diferença significativa para intensidade de vermelho (a), intensidade de amarelo (b), pH, capacidade de retenção de água e força de cisalhamento, enquanto que a luminosidade (L) apresentou efeito quadrático, sendo que o ponto máximo ocorreu com nível estimado de 0,71 g kg<sup>-1</sup> de ácidos orgânicos, além disso, os frangos de corte alimentados com ração adicionada de 0,75 g kg<sup>-1</sup> de ácidos orgânicos apresentaram maior luminosidade que os alimentados com ração contendo avilamicina, porem todos os valores são considerados normais. Também houve efeito quadrático para perda de água por cocção, sendo que o ponto máximo ocorreu com nível estimado de 0,96 g kg<sup>-1</sup> de ácidos orgânicos. Foi observado ainda, que as carnes provenientes de frangos de corte alimentados com a ração basal apresentaram menor perda de água por cocção que os alimentados com ração contendo avilamicina.

A luminosidade (L\*) está relacionada com a desnaturação das proteínas da carne, desta forma, quanto maior for à desnaturação, maior será a liberação de fluido intracelular e menos luz transmitida através das fibras. Estas alterações nas reações bioquímicas resultam em carne mais pálida e valores mais elevados de L\*.

A formação de complexo entre os aniões liberados da dissociação dos ácidos orgânicos, pode elevar a absorção de minerais como o cálcio, mineral este importante na desnaturação das proteínas, visto que no processo de desnaturação das proteínas da carne, as calpaínas são essenciais para degradar as proteínas das miofibrilas, e a ativação dessas proteínas é dependente de cálcio. Assim níveis mais elevados de cálcio sanguíneo promovem maior atividade destas enzimas e conseqüentemente maior valor de L (GARCIA et al., 2013).

**Tabela 7.** Resultados de coloração (L – luminosidade, a\* - intensidade de vermelho, b\* - intensidade de amarelo), pH, capacidade de retenção de água (CRA), perdas de água por cocção (PPC) e força de cisalhamento (FC) da carne do peito de frangos de corte alimentados com dietas contendo diferentes níveis de ácidos orgânicos (AO) no período de 1 a 42 dias de idade.

Tratamentos	L	a*	b*	pH	CRA (%)	PPC (%)	FC (kgf)
10 mg kg <sup>-1</sup> de avilamicina	48,76	11,17	12,01	5,91	64,86	30,09	2,41
0	49,13	11,33	12,35	5,96	67,42	27,43*	2,19
0,50 g kg <sup>-1</sup> de AO	50,19	9,39	11,46	5,91	65,14	29,61	2,39
0,75 g kg <sup>-1</sup> de AO	50,92*	7,94	12,38	5,93	65,41	30,71	2,70
1,50 g kg <sup>-1</sup> de AO	48,68	9,55	11,60	5,87	64,30	29,60	2,58
Valor de p	0,02 <sup>1</sup>	0,40	0,71	0,30	0,07	0,02 <sup>2</sup>	0,14
Cv (%)	5,51	69,39	28,97	2,69	5,14	12,52	24,00

Fonte: autor; \* Diferença significativa pelo teste de Dunnett (p < 0,04).

<sup>1</sup>  $y = 49,06 + 4,4457x - 3,1173x^2$   $R^2 = 94,10$ ; <sup>2</sup>  $y = 27,371 + 6,766x - 3,5067x^2$   $R^2 = 0,9767$ .

Diversos trabalhos mostram que a suplementação de ácidos orgânicos elevam os níveis sanguíneos de cálcio (ABDEL-FATTAH et al., 2008; ADIL et al. 2010). Desta forma, o maior valor de L observado deve se, provavelmente, a maior atividade das calpaínas em consequência do maior disponibilidade de cálcio.

Além disso, a maior liberação de fluidos devido à desnaturação proteica explicaria a maior perda de água por cocção para a carne dos frangos alimentados contendo ácidos orgânicos em relação ao tratamento que não recebeu aditivo.

Na Tabela 8 estão apresentados os resultados referentes ao experimento de digestibilidade. Os resultados mostram que não houve efeito sobre os coeficientes de digestibilidade da matéria seca, proteína bruta e do extrato etéreo. Contudo, observou-se redução no coeficiente de digestibilidade das cinzas para os frangos de corte que receberam a ração com avilamicina.

**Tabela 8.** Coeficientes de digestibilidade da matéria seca (CDMS), proteína bruta (CDPB), extrato etéreo (CDEE) e cinzas (CDCZ) de frangos de corte alimentados com dietas contendo diferentes níveis de ácidos orgânicos (AO) e avilamicina.

Tratamentos	CDMS (%)	CDPB (%)	CDEE (%)	CDCZ (%)
10 mg kg <sup>-1</sup> de avilamicina	75,035	73,427	93,334	38,512
0	76,382	73,047	92,603	49,682*
0,50 g kg <sup>-1</sup> de AO	76,218	73,145	92,952	51,533*
0,75 g kg <sup>-1</sup> de AO	75,332	71,240	90,119	49,534*
1,50 g kg <sup>-1</sup> de AO	75,683	72,230	91,449	49,245*
Regressão	0,855	0,234	0,919	0,793
Cv %	2,500	5,740	2,000	7,690

Fonte: autor; \* Diferença significativa pelo teste de Dunnett (p < 0,01).

Os antibióticos atuam tanto sobre as bactérias patogênicas como nas benéficas, Yang et al. (2008) observaram redução das populações de *Lactobacillus* no íleo e ceco para frangos de corte que receberam o antibiótico bacitracina de zinco. Resultado semelhante também foi encontrado por Knarreborg et al. (2002)

que ao adicionar uma combinação de antibióticos na ração (avilamicina e salomicina) de frangos de corte também observaram redução no número de *Lactobacillus*.

Sabe-se que os *Lactobacillus* são capazes de produzir ácidos orgânicos, que além de reduzir o pH, podem dissociar-se e liberar ânions que formam complexos com os minerais, o que melhora a digestibilidade dos mesmos, facilitando assim, a absorção dos minerais (ABDEL-FATTAH et al., 2008). Portanto, a adição do antibiótico avilamicina na ração de frangos de corte pode ter reduzido o número de *Lactobacillus*, alterando o pH do meio e conseqüentemente prejudicado a absorção dos minerais.

#### 5.4 CONCLUSÃO

A utilização de níveis mais elevados de ácidos orgânicos (0,75 ou 1,50 g kg<sup>-1</sup> de ração) pode substituir os antibióticos, uma vez que apresentaram desempenho semelhante ao controle positivo e melhor digestibilidade de minerais, sem alterar a qualidade da carne.

#### 5.5 REFERÊNCIAS

ABDEL-FATTAH, S.A.; EL-SANHOURY, M.H.; EL-MEDNAY, N.M.; ABDEL-AZEEM, F. Thyroid Activity, Some Blood Constituents, Organs Morphology and Performance of Broiler Chicks Fed Supplemental Organic Acids. **International Journal of Poultry Science**, v. 7, n. 3, p. 215 - 222, 2008.

ADIL, S.; BANDAY, T.; AHMAD BHAT, G.; SALAHUDDIN, M.; RAQUIB, M.; SHANAZ, S. Response of broiler chicken to dietary supplementation of organic acids. **Journal of Central European Agriculture**, v. 12, n. 3, p. 498 – 508, 2011.

ADIL, S.; BANDAY, T.; AHMAD BHAT, G.; MIR, M. S.; REHMAN, M. Effect of Dietary Supplementation of Organic Acids on Performance, Intestinal Histomorphology, and Serum Biochemistry of Broiler Chicken. **Veterinary Medicine International**, v. 2010, p. 1 - 7, 2010.

AKYUREK, H.; YEL, A. Influence of dietary thymol and carvacrol preparation and/or an organic acid blend on growth performance, digestive organs and intestinal microbiota of broiler chickens. **African Journal of Microbiology Research**, v. 5, n. 7, p. 979 - 984, 2011.

ALBINO, L. F. T.; FERREIRA, A. S.; FIALHO, E. T.; CESAR, S. S. Determinação dos valores de energia metabolizável e matéria seca aparentemente metabolizável de alguns alimentos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 11, n. 2, p. 207 - 220, 1982.

ATAPATTU, N. S. B. M. AND NELLIGASWATTA, C. J. Effect of citric acid on the performance and utilization of phosphorous and crude protein in broiler chickens fed rice by products based diets. **International Journal of Poultry Science**, v. 4, n. 12, p. 990 – 993, 2005.  
**Biochemistry**, v.25, n. 4, p.271-283, 2001.

BUWJOOM, T., K. YAMAUCHI, T. ERIKAWA, AND H. GOTO. Histological intestinal alterations in chickens fed low-protein diet. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 94, n. 3, p. 354 – 361, 2010.

- BJERRUM, L.; ENGBERG, R. M.; LESER, R. M.; JENSEN, B. B.; FINSTER, K.; PEDERSEN, K. Microbial Community Composition of the Ileum and Cecum of Broiler Chickens as Revealed by Molecular and Culture-Based Techniques. **Poultry Science**, v. 85, n. 7, p. 1151 – 1164, 2006.
- CASTANON, J. I. R. History of the Use of Antibiotic as Growth Promoters in European Poultry Feeds. **Poultry Science**, v. 86, n. 11, p. 2289 – 2482, 2007.
- DIBNER, J. J., AND P. BUTTIN. Use of organic acid as a model to study the impact of gut microflora on nutrition and metabolism. **The Journal of Applied Poultry Research**, v. 11, n. 4, p. 453 – 463, 2002.
- DIBNER, J. J.; RICHARDS, J. D. Antibiotic Growth Promoters in Agriculture: History and Mode of Action. **Poultry Science**, v. 84, n. 4, p. 634 – 643, 2005.
- GARCIA, A. F. M.; MURAKAMI, A. E.; DUARTE, C. R. A.; ROJAS, I. C. O.; PICOLI, P. K.; PUZOTTI, M. M. Use of Vitamin D3 and Its Metabolites in Broiler Chicken Feed on Performance, Bone Parameters and Meat Quality. **Asian – Australian Journal of Animal Sciences**, v. 26, n. 3, p. 408 – 415, 2013.
- GARCIA, V.; CATALA-GREGORI, P.; HERNANDEZ, F.; MEGIAS, M. D.; MADRID, J. Effect of Formic Acid and Plant Extracts on Growth, Nutrient Digestibility, Intestine Mucosa Morphology, and Meat Yield of Broilers. **The Journal of Applied Poultry Research**, v. 16, n. 4, p. 555 – 562, 2007.
- HAMM, R. Biochemistry of meat hydration. **Advances in Food Research**, v. 10, p. 335 – 362, 1960.
- HOUSHMAND, M.; AZHAR, K.; ZULKIFLI, I.; BEJO, M. H.; KAMYAB, A. Effects of nonantibiotic feed additives on performance, nutrient retention, gut pH, and intestinal morphology of broilers fed different levels of energy. **The Journal of Applied Poultry Research**, v. 20, n. 2, p. 121 – 128, 2011.
- KNARREBORG, A., M. A. SIMON, R. M. ENGBERG, B. B. JENSEN, AND G. W. TANNOCK. Effects of dietary fat source and subtherapeutic levels of antibiotic on the bacterial community in the ileum of broiler chickens at various ages. **Applied Environmental Microbiology**, v. 68, n. 12, p. 5918 – 5924, 2002.
- LAUDADIO, V.; PASSANTINO, L.; PERILLO, G.; LOPRESTI, G.; PASSANTINO, A.; KHAN, R. U.; TUFARELLI, V. Productive performance and histological features of intestinal mucosa of broiler chickens fed different dietary protein levels. **Poultry Science**, v. 91, n. 1, p. 265 – 270, 2012.
- MAIORKA, A.; SANTIN, A.M.E.; BORGES, S.A.; OPALINSKI, M.; SILVA, A.V.F. Emprego de uma mistura de ácidos fumárico, láctico, cítrico e ascórbico em dieta iniciais de frangos de corte. **Archives of Veterinary Science**, v. 9, n. 1, p. 31 - 37, 2004.
- MIZUBUTI, I. Y.; PINTO, A. P.; RAMOS, B. M. O.; PEREIRA, E. S. Métodos laboratoriais de avaliação de alimentos para animais. Londrina: EDUEL, 2009. 228 p.
- NAVA, G. M., ATTENE-RAMOS, M. S.; GASKINS, R.; RICHARDS, J. D. Molecular analysis of microbial community structure in the chicken ileum following organic acid supplementation. **Veterinary Microbiology**, 2009 Jun 12; v. 137, n. 12, p. 345 – 353, jul. 2009.
- OLIVO, R.; SOARES, A.L.; IDA, E.I.; SHIMOKOMAKI, M. Dietary vitamin E inhibits poultry PSE and improves meat functional properties. **Journal of Food**
- PAN, D.; YU, Z. Intestinal microbiome of poultry and its interaction with host and diet. **Gut Microbes**, v. 5, n. 1, p. 108 – 119, 2014.
- ROCHA, A. P.; ABREU, R. D.; COSTA, M. C. M. M.; OLIVEIRA, G. J. C.; ALBINATI, R. C. B.; PAZ, A. S.; QUEIROZ, L. G.; PEDREIRA, T. M. Prebióticos, ácidos orgânicos e probióticos em rações para frangos de corte. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 11, n. 3, p. 793 – 801, 2010.

ROSTAGNO, H.S. et al. **Tabelas Brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. 3. ed. Viçosa: UFV, 2011.

SAMANTA, S.; HALDAR, S.; GHOSH, T. K. Comparative Efficacy of an Organic Acid Blend and Bacitracin Methylene Disalicylate as Growth Promoters in Broiler Chickens: Effects on Performance, Gut Histology, and Small Intestinal Milieu. **Veterinary Medicine International**, v. 2010, p. 1 - 8, 2010.

UNI, Z.; FERKET, R. P. Methods for early nutrition and their potential. **Poultry science**, Champaign, v. 60, n. 1, p. 101 - 111, 2004.

VIOLA, E. S.; VIEIRA, S. L.; TORRES, C. A.; FREITAS, D. M.; BERRES, J. Desempenho de frangos de corte sob suplementação com ácidos láctico, fórmico, acético e fosfórico no alimento ou na água. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, n.2, p. 296 - 302, 2008.

VON ENGELHARDT, W.; BARTELS, J.; KIRSCHBERGER, S.; MEYER ZU DÜTTINGDORF, H.D.; BUSCHE, R. Role of short – chain fatty acids in the gut. **The Veterinary Quarterly**, v. 20, n. 3, p. 52 – 58, 1998.

YANG, Y.; IJI, P. A.; KOCHER, A.; THOMSON, E.; MIKKELSEN, L. L.; CHOCT, M. Effects of mannanoligosaccharide in broiler chicken diets on growth performance, energy utilisation, nutrient digestibility and intestinal microflora. **British Poultry Science**, v. 49, n. 2, p. 186 – 194, 2008.

**6. ARTIGO 2. AÇÃO DE ÁCIDOS ORGÂNICOS NO CONTROLE DA INFECÇÃO POR *SALMONELLA ENTERITIDIS* EM FRANGOS DE CORTE.**

**Artigo redigido de acordo com as normas da revista Semina: Ciências Agrárias**

**Ação de ácidos orgânicos no controle da infecção por *Salmonella* Enteritidis em frangos de corte.****RESUMO**

A *Salmonella* spp. é apontada como um dos principais agentes envolvidos em doenças de origem alimentar, sendo que a *Salmonella* Enteritidis é frequentemente isolada de casos de infecções em humanos. Estudos mostram que os ácidos orgânicos são eficazes no controle da *Salmonella* spp. Desta forma este trabalho teve como objetivo avaliar a ação de ácidos orgânicos no controle da *Salmonella* Enteritidis em frangos de corte. Foram utilizados 90 reprodutores de frangos de corte distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado divididos em cinco tratamentos: controle negativo (sem adição de ácidos orgânicos e sem inoculação de *Salmonella* Enteritidis), controle positivo (sem adição de ácidos orgânicos e com inoculação de *Salmonella* Enteritidis) e os demais tratamentos foram adicionados com diferentes níveis de ácidos orgânicos (0,5, 0,75 e 1,5 g kg<sup>-1</sup> de ração) e na sequência desafiados com *Salmonella* Enteritidis (1,2 x 10<sup>5</sup>) aos 14 dias de idade. Após 1, 7 e 14 dias da inoculação, seis aves por tratamento foram sacrificadas para recuperação bacteriana em cecos e isolamento em órgãos. Os resultados mostraram que a suplementação de ácidos orgânicos não reduziu a contagem de *Salmonella* Enteritidis nos cecos em nenhuma das concentrações utilizadas. Além disso, não foi observada redução no número de aves positivas para *Salmonella* Enteritidis nos demais órgãos coletados. Desta forma pode-se concluir que a suplementação com formiato de cálcio, propionato de cálcio, sorbato de potássio e ácido fumárico, nas concentrações estudadas, não foi capaz de inibir a infecção causada por *Salmonella* Enteritidis.

Palavras - chave: ácido fumárico, ceco, microrganismo patogênico.

**Action of organic acids in the control of *Salmonella* enteritidis infection in broiler chickens.****ABSTRACT**

*Salmonella* spp. Is indicated as one of the main agents involved in food-borne diseases, being *Salmonella* Enteritidis and frequently isolated from cases of infections in humans. Studies have shown that organic acids are effective in controlling *Salmonella* spp. In this way the objective of this work was to evaluate the action of organic acids in the control of *Salmonella* Enteritidis in broiler chickens. A total of 90 broiler breeders distributed in a fully casuazalid design were divided in five treatments: negative control (without addition of organic acids and without inoculation of *Salmonella* Enteritidis), positive control (without addition of organic acids and inoculation of *Salmonella* Enteritidis) And the other treatments were added with different levels of organic acids (0.5, 0.75 and 1.5 g kg<sup>-1</sup> of feed) and in the sequence challenged with *Salmonella* Enteritidis (1.2 x 10<sup>5</sup>) at 14 days of age . After 1, 7 and 14 days of inoculation, six birds per treatment were sacrificed for bacterial recovery in cecum and organ isolation. The results showed that supplementation of organic acids did not reduce the *Salmonella* Enteritidis count in the cecum at any of the concentrations used. In addition, there was no reduction in the number of birds positive for *Salmonella* Enteritidis in the other organs collected. Thus, it can be concluded that calcium formate supplementation, calcium propionate, potassium sorbate and fumaric acid at the concentrations studied were not able to inhibit the infection caused by *Salmonella* Enteritidis.

**Key words:** cecum, Fumaric acid, pathogenic microorganism.

## 6.1 INTRODUÇÃO

O Brasil é atualmente o maior exportador de carne de frangos e passou a ser o segundo maior produtor em 2015, totalizando 4,304 e 13,146 milhões de toneladas, respectivamente (ABPA, 2016). Assim, para manter a atual posição e garantir novos mercados é essencial o emprego de medidas que mantenham a eficiência produtiva e qualidade sanitária do produto final.

Dentre as bactérias patogênicas a *Salmonella* sp. é frequentemente apontada como um dos principais agentes envolvidos em surtos registrados em vários países. Majowicz et al. (2010) estimam que mais de 90 milhões de casos por ano de gastroenterite são causadas por *Salmonella*. Os custos estimados pela alta incidência da salmonelose em países como os Estados Unidos variam entre 1,3 a 4,0 bilhões de dólares por ano, em decorrência de despesas médicas, ausência ao trabalho e quebras na produtividade (TAITT et al., 2004).

A importância deste microrganismo, para a avicultura, se dá pela sua prevalência significativa em lotes de frango de corte e galinhas poedeiras bem como suas implicações na saúde pública (Moreira et al. 2008). Além disso, as infecções causadas por *Salmonella* spp. são transmitidas principalmente por alimentos de origem animal, sendo os ovos e a carne de aves apontados como principais alimentos envolvidos. Dentre os sorovares isolados dos casos de infecções em humanos a *Salmonella* Enteritidis tem alta prevalência (KOTTWITZ et al., 2010; JACKSON et al., 2013).

Diversos trabalhos mostram a eficácia dos ácidos orgânicos no controle da *Salmonella* spp. em frangos de corte (VAN IMMERSEEL et al. 2004; GRILLI et al., 2011). Grilli et al. (2011) observaram redução da prevalência de *Salmonella* spp. no conteúdo cecal de frangos de corte que receberam ácido sórbico microencapsulado. Resultados semelhantes foram encontrados por Van Immerseel et al. (2004) que observaram redução na colonização dos cecos de frangos de corte alimentados com dietas adicionadas com ácido propiônico. Contudo, a adição de ácido acético e a de ácido fórmico aumentaram a colonização do ceco e órgãos internos.

Assim, devido aos resultados contraditórios encontrados na literatura, são necessários mais estudos para verificar o efeito da adição de ácidos orgânicos na dieta de frangos de corte no controle da *Salmonella* spp. Desta forma, este trabalho tem como objetivo avaliar a ação de uma mistura de ácidos orgânicos no controle da *Salmonella* Enteritidis em frangos de corte.

## 6.2 MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 90 reprodutores de frango de corte, com um dia de idade, distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado, composto por cinco tratamentos (Tabela 1)

As aves foram alojadas em gaiolas experimentais no infectório do Laboratório de Medicina Aviária da Universidade Estadual de Londrina. As aves receberam água e ração não medicada *ad libitum* e

aquecimento necessário conforme a idade. As rações experimentais atenderam as exigências mínimas preconizadas por Rostagno et al. (2011), sendo estas isoenergéticas e isoproteicas.

**Tabela 1.** Descrição dos tratamentos utilizados.

Tratamentos	Descrição dos tratamentos
T1	Controle negativo
T2	Controle positivo (0 + <i>Salmonella</i> Enteritidis)
T3	0,50 g de ácidos orgânicos / kg de ração + <i>Salmonella</i> Enteritidis
T4	0,75 g de ácidos orgânicos / kg de ração + <i>Salmonella</i> Enteritidis
T5	1,5 g de ácidos orgânicos / kg de ração + <i>Salmonella</i> Enteritidis

Fonte: autor

O desafio foi realizado aos 14 dias de idade, via gavagem com 1mL de *Salmonella* Enteritidis ( $1,2 \times 10^5$  UFC mL<sup>-1</sup>) resistente à 100 µg de ácido nalidíxico (Nal) e rifampicina (Rif).

Após 1, 7, 14 dias do desafio, seis aves por tratamento foram eutanasiadas, via deslocamento cervical, para a coleta dos cecos e órgãos (baço, coração e fígado) a fim de se avaliar a infecção sistêmica.

Para as determinações do conteúdo cecal, foram coletados os cecos de cada ave e acondicionados em recipientes plásticos estéreis, sob refrigeração até o processamento. Na sequência, os cecos foram macerados e diluídos em PBS (pH 7,2) na proporção 1:10 realizadas diluições seriadas, as quais foram plaqueadas em ágar verde brilhante (AVB) acrescido de 100 µg mL<sup>-1</sup> de Nal e Rif, incubadas a 37 °C, 18 – 24 horas. As leituras foram realizadas após a incubação.

Os demais órgãos também foram acondicionados em recipientes estéreis, macerados e incubado em caldo BHI a 37 °C por 24 horas. No dia seguinte 100 µL do inóculo foram transferidos em 10 mL do caldo Rappaport e incubado a 42 °C por 18 - 24 horas. E posteriormente plaqueados em AVB acrescido de 100 µg mL<sup>-1</sup> de Nal e Rif.

#### Análises estatísticas

Todos os dados, exceto a porcentagem de animais com infecção sistêmica, foram submetidos à análise de variância e de regressão a 5 % utilizando-se o programa computacional R. Os dados que não apresentaram normalidade ou homogeneidade foram submetidos ao teste não paramétrico de Kruskal-Wallis. Enquanto que a porcentagem de animais com infecção sistêmica foi submetido ao teste não paramétrico de qui quadrado.

### 6.3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os dados avaliados não apresentaram normalidade dos resíduos, nem quando utilizado o recurso de transformação dos dados, desta forma estes foram avaliados através do teste não paramétrico de Kruskal-Wallis. Além disso, os dados obtidos do controle negativo não foram utilizados para a análise estatística, uma vez que não foi observado crescimento de *Salmonella*. Esse resultado já era esperado, visto que as aves não foram inoculadas com *Salmonella* Enteritidis e eram livres de *Salmonella*.

Na Tabela 2 estão apresentados os resultados referentes à recuperação de *Salmonella* Enteritidis nos cecos de aves desafiados e suplementas com diferentes níveis de ácidos orgânicos. Os resultados mostram que a suplementação de ácidos orgânicos na ração das aves não foi capaz de reduzir o número de colônias de *Salmonella* e em nenhum dos períodos avaliados.

Resultados semelhantes foi encontrado por Pickler et al. (2014) que ao suplementar frangos de corte com diferentes misturas de ácidos orgânicos não observaram redução na *Salmonella* Minnesota nas 48 h após inoculação aos 7 dias de idade, quando avaliados os suabes de cloaca ou do ceco das aves desafiadas. Neste mesmo trabalho, os autores determinaram a concentração inibitória mínima para as misturas de ácidos frente à *Salmonella* e verificou se que a dose dos ácidos orgânicos recomendada pelos fabricantes e utilizadas *in vivo*, está abaixo da concentração mínima inibitória, o que levou ao insucesso do produto.

**Tabela 2.** Contagem bacteriana ( $\log_{10}$  UFC/mL) no conteúdo cecal de frangos de corte após a administração de *Salmonella* Enteritidis ( $1,2 \times 10^5$ ).

Tratamentos	Dias após desafio de <i>Salmonella</i> Enteritidis		
	1	7	14
Controle positivo	2,866	2,843	4,411
0,50 g kg <sup>-1</sup> de AO <sup>2</sup>	3,507	3,491	2,803
0,75 g kg <sup>-1</sup> de AO	3,543	3,268	2,968
1,50 g kg <sup>-1</sup> de AO	4,879	4,958	4,118
Valor de p	0,344	0,342	0,456
CV %	36,920	49,700	60,240

Fonte: autor; <sup>2</sup> Ácidos orgânicos (AO).

Vários fatores podem alterar a concentração inibitória mínima dos ácidos orgânicos. Dentre eles o pH é o mais relevante, segundo Ricke (2003) a concentração inibitória mínima é mais elevada quando o valor do pH é mais elevado.

Em pH mais elevados os ácidos orgânicos se encontram mais na forma não dissociada e para que estes sejam efetivo como agentes antimicrobianos precisam estar na forma não dissociada, uma vez que na sua forma não dissociada estes são capazes de difundir se passivamente através da membrana plasmática da bactéria. Uma vez no interior da célula estes reduziram o pH do meio e inibiram importantes enzimas microbianas responsáveis por processos bioquímicos essenciais para a sobrevivência da célula bacteriana (SCHUTTE, 2011; CARPENTER; BORADENT, 2009).

O ácido fumárico é um ácido que tem pka igual a 3,02, desta forma será mais efetivo em pH mais ácidos. Embora o ácido fumárico seja um dos mais fortes entre os ácidos orgânicos, resultados encontrados

na literatura indicam que a utilização deste tem reduzido levemente o pH do inglúvio de frangos de corte. Ghazalah et al. (2011) ao suplementar diferentes níveis de ácido fumárico (0, 0,25, 0,50 ou 1 %) observaram redução no pH do inglúvio para aves suplementadas com o ácido fumárico (pH 4,43, 4,26, 4,15 e 4,14). Resultado semelhante também foi encontrado por Banday et al. (2015) que observaram redução significativa no pH do papo (pH 5,05, 4,96, 4,92 e 4,87) conforme aumentou o nível de suplementação com ácido fumárico (0, 0,5, 1 ou 1,5%).

Estes trabalhos mostram que a suplementação com ácido fumárico não reduz suficiente o pH do inglúvio, desta forma deve se tomar cuidado com a concentração de ácido fumárico suplementado, uma vez que o pH do inglúvio é moderadamente ácido e assim pode exigir concentrações mais elevada de ácido fumárico para que esse seja efetivo.

Sabe-se que a utilização de sub doses de ácidos orgânicos pode induzir a tolerância ácida. Greenacre et al. (2003) define a tolerância ácida como a resistência das células a pH baixo, quando elas cresceram a um pH moderadamente baixo ou quando foram expostos a um pH baixo por algum tempo. Em ambientes extremos os microrganismos sintetizam proteínas do choque ácido que restauram os danos causados pelo ambiente ácido e também alteram a fluidez da membrana plasmática através do aumento da concentração de ácidos graxos insaturados, alterando assim a proporção da relação ácido graxos insaturado/saturado (KOUTSOUMANIS; SOFOS, 2004).

Além disso, os resultados encontrados por Kwon e Ricke (1998) mostram que os ácidos graxos de cadeia curta presentes no trato gastrointestinal do hospedeiro pode contribuir para o aumento da virulência de *Salmonella typhimurium* e da tolerância ácida, visto que estes observaram que a indução a tolerância ácida foi aumentada após exposição a ácidos graxos de cadeia curta na *Salmonella Typhimurium*.

Os resultados obtidos neste trabalho são distintos aos observados por Pickler et al. (2012), Menconi et al. (2013) e Saleen et al. (2016), que relataram efetividade de ácidos orgânicos no controle de *Salmonella*.

Assim a hipótese para a não obtenção de resultados dos ácidos sobre as salmonelas neste trabalho é de que a concentração utilizada de ácidos orgânicos foi abaixo da concentração mínima inibitória e assim induziu-se a tolerância ácida.

Na Tabela 3 estão apresentados os resultados referentes à recuperação de *Salmonella* dos órgãos de aves inoculadas oralmente com *Salmonella* e alimentadas com dietas contendo diferentes níveis da mistura de ácidos orgânicos. Assim como nos cecos a suplementação de ácidos orgânicos na ração de frangos de corte não reduziu o número de aves positivas nos períodos avaliados.

Resultados contraditórios são encontrados na literatura quanto à ação dos ácidos orgânicos na fase sistêmica da infecção causada por *Salmonella*. Fernández-Rubio et al. (2009) observaram que o ácido butírico foi capaz de impedir a infecção no fígado de aves desafiadas experimentalmente com *Salmonella Enteritidis*, contudo não foi capaz de reduzir a infecção no baço. Diferindo, Van Immerseel et al. (2004) observaram aumento na colonização dos órgãos internos em frangos de corte alimentados com ácido acético ou ácido fórmico.

Segundo Van Immerseel et al. (2004) os resultados contraditórios encontrados podem ser explicados pela alteração na expressão dos genes de virulência e invasão da células epiteliais, após o contato com os respectivos ácidos orgânicos.

**Tabela 3.** Recuperação de *Salmonella* Enteritidis no coração, fígado e baço de frangos de corte após a administração de *Salmonella* Enteritidis ( $1,2 \times 10^5$ ).

Tratamentos	Dias após desafio		
	1	7	14
	%		
Controle positivo	0	33,33	0
0,50 g kg <sup>-1</sup> de AO <sup>2</sup>	0	66,66	0
0,75 g kg <sup>-1</sup> de AO	0	66,66	0
1,50 g kg <sup>-1</sup> de AO	0	16,66	16,66
Valor de p	-	0,209	0,371

Fonte: autor; <sup>2</sup> Ácidos orgânicos (AO).

Resultados encontrados na literatura mostram que dependo do ácido utilizado e do pH do ambiente pode ocorrer a diminuição ou aumento da expressão do genes de virulência. Durant, Corrier e Ricke (2000) observaram que ácidos graxos de cadeia curta induziram a expressão dos genes *hilA* e *invF* da *Salmonella* Typhimurium. Neste trabalho os autores verificaram que todos ácidos graxos de cadeia curta (acético, butírico e propianato) induziram a expressão de *hilA* e *invF* da *Salmonella* Typhimurium em pH 6, enquanto que a pH 7 apenas acetato induziu a expressão dos genes *hilA* e *invF*. Assim, segundo os autores a forma de indução, dependente do pH, sugere que a entrada de ácidos graxos de cadeia curta na célula foi necessária para a indução. Desta forma, acredita se que os ácidos graxos de cadeia curta podem servir como um sinal ambiental que desencadeia a expressão de genes de invasão no trato gastrointestinal.

## 6. 4 CONCLUSÃO

A utilização de ácidos orgânicos na alimentação não foi capaz de minimizar a infecção causada por *Salmonella* Enteritidis em frangos de corte.

## 6. 5 REFERÊNCIAS

ABPA. Relatório Anual 2016. Disponível em: <<http://abpa-br.com.br/>>. Acesso em: 28/11/2016.

BANDAY, M. T.; ADIL, S.; KHAN, A. A.; UNTOO, M. A study on efficacy of fumárico acid supplementation in diet of broiler chicken. **International Journal of Poultry Science**, v. 14, n. 1, p. 589 – 594, 2015.

CARVALHO, A. C. F. B.; CORTEZ, A. L. L. *Salmonella* spp. em carcaças, carne mecanicamente separada, lingüiças e cortes comerciais de frango. **Ciência Rural**, v.35, n.6, p.1465 - 1468, 2005.

- DURANT, J. A., D. E. CORRIER, AND S. C. RICKE. Short-chain volatile fatty acids modulate the expression of the *hilA* and *invF* genes of *Salmonella* Typhimurium. **Journal Food Protection**, v. 63, p. 573 – 578, 2000.
- GHAZALAH, A. A.; ATTA, A. M.; ELKLOUB, K.; MOUSTAFA, M. EL.; SHATA, R. F. H. Effect of dietary supplementation of organic acids on performance nutrients digestibility and health of broiler chicks. **International Journal of Poultry Science**, v. 10, n. 3, p. 176 – 184, 2011.
- GRILLI, E.; TUGNOLI, B.; FORMIGONI, A.; MASSI, P.; FANTINATI, P.; TOSI, G.; PIVA, A. Microencapsulated sorbic acid and nature-identical compounds reduced *Salmonella* Hadar and *Salmonella* Enteritidis colonization in experimentally infected chickens. **Poultry Science**, v. 90, n. 8, p. 1676 – 1682, 2011.
- KOTTWITZ, L. B. M., OLIVEIRA, T. C. R. M., ALCOCER, I., FARAH, S. M. S. S., ABRAHÃO, W. S. M., AND RODRIGUES, D. P. Epidemiologic data of salmonellosis outbreaks occurred between 1999 and 2008 in Paraná State, Brazil. **Acta Scientiarum**. v. 32, n. 1, p. 9 – 15, 2010.
- KOUTSOUMANIS, K.P.; SOFOS, J.N. Comparative acid stress response of *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* Typhimurium after habituation at different pH conditions. **Letters in Applied Microbiology**, v. 38, n. 4, p. 321 – 326, 2004.
- JACKSON, B. R.; GRIFFIN, P. M.; COLE, D.; WALSH, K. A.; CHAI, S. J. Outbreak-associated *Salmonella enterica* Serotypes and Food Commodities, United States, 1998–2008. **Emerging Infectious Diseases**, v. 19, n. 8, 2013.
- KWON, Y. M.; RICKE, S. C. Induction of Acid Resistance of *Salmonella typhimurium* by Exposure to Short-Chain Fatty Acids. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 64, n. 9, p. 3458 – 3463, 1998.
- MAJOWICZ, S. E.; MUSTO, J.; SCALLAN, E.; ANGULO, F. J.; KIRK, M.; SARAH J. O'BRIEN, S. J.; TIMOTHY F. JONES, T. F.; FAZIL, A.; HOEKSTRA, R. V. The International Collaboration on Enteric Disease 'Burden of Illness' Studies The Global Burden of Nontyphoidal *Salmonella* Gastroenteritis. **Clinical Infectious Diseases**, v. 50, n. 6, p. 882 – 889, 2010.
- MENCONI, A.; REGINATTO, A.R.; LONDERO, A.; PUMFORD, N.R.; MORGAN, M.; HARGIS, B.M.; TELLEZ, G. Effect of Organic Acids on *Salmonella* Typhimurium Infection in Broiler Chickens. **International Journal of Poultry Science**, v. 12, n. 2, p. 72 - 75, 2013.
- MOREIRA, G. N.; REZENDE, C. S. M.; CARVALHO, R. N.; MESQUITA, S. Q. P.; OLIVEIRA, A. N.; ARRUDA, M. L. T. Ocorrência de *Salmonella* sp. em carcaças de frangos abatidos e comercializados em municípios do estado de Goiás. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 67, n. 2, p. 126 - 130, 2008.
- PICKLER, L.; MUNIZ, E. C.; KURITZA, L. N.; LOURENÇO, M. C.; SANTIN, E. Resposta imunológica e uso de ácidos orgânicos em frangos desafiados com *Salmonella* Minnesota. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 42, p. 1 – 9, 2014.
- RICKE, S. C. Perspectives on the Use of Organic Acids and Short Chain Fatty Acids as Antimicrobials. **Poultry Science**, v. 82, n. 4, p. 632 – 639, 2003.
- SALEEM, G.; RAMZAAN, R.; KHATTAK, F.; AKHTAR, R. Effects of acetic acid supplementation in broiler chickens orally challenged with *Salmonella* Pullorum. **Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences**, v. 40, p. 434 - 443, 2016.

TAITT, C. R.; SHUBIN, Y.S. e ANGEL, R. Detection of *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium by using a Rapid, Array-Based Immunosensor. **Applied and Environmental Microbiology**, v.70, n.1, p.152-158, 2004.

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

VAN IMMERSEEL, F., V. FIEVEZ, J. DE BUCK, F. PASMANS, A. MARTEL, F. HAESEBROUCK, AND R. DUCATELLE. Microencapsulated short-chain fatty acids in feed modify colonization and invasion early after infection with *Salmonella* Enteritidis in young chickens. **Poultry Science**, v. 83, n.1, p. 69 – 74, 2004.

## 7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo mostrou que a utilização de ácidos orgânicos adicionados na dieta de frangos de corte pode substituir o antimicrobiano avilamicina, uma vez que apresentou desempenho semelhante.

Contudo, devido à grande variedade de ácidos orgânicos disponíveis, bem como a possibilidade de diferentes misturas de ácidos orgânicos que podem ser formadas, ainda encontramos resultados contraditórios na literatura. Desta forma, são necessários mais estudos para esclarecer estes resultados contraditórios e também o modo como cada ácido orgânico ou misturas agem para melhorar o desempenho.

Também demandam mais estudos a utilização dos ácidos orgânicos no controle da *Salmonella* spp., uma vez que também são encontrados resultados contraditórios. Além disso, deve se estabelecer a concentração mínima inibitória de cada produto para evitar a seleção de *Salmonella* spp. resistentes aos ácidos orgânicos.