

**Ácidos orgânicos e microbiota cecal anaeróbia no controle da  
infecção experimental de frangos por *Salmonella typhimurium* e  
*Salmonella enteritidis***

(Organic acids and anaerobic microflora for control of experimental infection of broilers  
by *Salmonella typhimurium* and *S. enteritidis*)

R.L. Andreatti Filho<sup>1</sup>, E.N. da Silva<sup>2</sup>, P.R. Curi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - UNESP  
Caixa Postal 560 - 18618-000 - Botucatu-SP

<sup>2</sup>Faculdade de Engenharia de Alimentos - UNICAMP  
Campinas - SP

RESUMO

Estudaram-se os efeitos do tratamento de frangos com ácidos orgânicos e/ou microbiota cecal anaeróbia (MCA) sobre a infecção sistêmica e do trato digestivo de aves por *Salmonella typhimurium* e *S. enteritidis*. Foi usada MCA sem prévia identificação bacteriana. O tratamento com MCA contribuiu na resistência dos frangos à infecção por *Salmonella* spp. As infecções eram mais persistentes, em ordem, no ceco, reto e ingluvío, não interferindo com o peso corporal no período. As infecções também eram autolimitantes, pois lotes tratados e controles apresentaram índices semelhantes de infecção ao final dos experimentos. Isoladamente ou em associação com ácido acético, MCA reduziu a colonização do trato digestivo das aves por *S. typhimurium* e *S. enteritidis*. A associação MCA e ácido acético não teve efeito potencializador na redução da colonização do trato digestivo. Exceto no ingluvío, o uso dos ácidos acético, propiônico ou fórmico não determinou diferença em relação aos grupos-controle na redução de *S. typhimurium* e *S. enteritidis* no ceco e no reto. O uso de ácidos orgânicos e MCA teve pequeno efeito na redução do pH cecal das aves tratadas. O tratamento com MCA diminuiu a quantidade de *S. enteritidis* nas fezes. A redução de pH cecal não diminuiu a quantidade de *S. enteritidis* nas fezes. *S. enteritidis* foi muito mais invasiva que a *S. typhimurium* e o uso de ácidos orgânicos e MCA teve pouco efeito na redução da infecção sistêmica.

Palavras-chave: *Salmonella typhimurium*, *Salmonella enteritidis*, microbiota cecal anaeróbia, frango.

## ABSTRACT

The aim of this investigation was to study the effect of organic acids and/or anaerobic cecal microflora (ACM) on systemic and digestive infection of broilers by *Salmonella typhimurium* and *S. enteritidis*. ACM was used without previous bacterial identification. The treatment with ACM increased the resistance to *Salmonella* spp infection. Infection was more evident in caeca, followed by rectum and crop and did not interfere on body weight of broilers. Treated and control groups showed the same degree of infection at the end of the experiment. The use of ACM isolated or combined with acetic acid, reduced the colonization of the chick's digestive system by *S. typhimurium* and *S. enteritidis*. Acetic acid added to ACM did not potentiate the reduction of digestive system colonization. Except for the crop, the isolated use of acetic, propionic or formic acids did not reduce *S. typhimurium* and *S. enteritidis*, in caeca and rectum. The use of organic acids and ACM had little effect on reduction of caecum pH. The treatment with ACM reduced the quantity of *S. enteritidis* in the faeces. The reduction of caecum pH did not reduce the quantity of *S. enteritidis* in faeces. *S. enteritidis* was much more invasive than *S. typhimurium* and use of organic acids and ACM had little effect on reduction of systemic infection.

Keywords: *Salmonella typhimurium*, *Salmonella enteritidis*, anaerobic cecal microflora, broiler.

## INTRODUÇÃO

Culturas bacterianas anaeróbias de origem aviária definidas ou indefinidas, assim como vários ácidos orgânicos, têm sido utilizados experimental e comercialmente na prevenção de infecções por salmonelas em frangos de corte. As formas indefinidas de cultura têm mostrado maior proteção contra as salmonelas que as culturas definidas (Hudalt et al., 1985; Hinton & Mead, 1991). A literatura mostra que vários gêneros bacterianos isolados dessas culturas apresentam efeito protetor em aves contra as salmonelas (Hudalt et al., 1985; Oyarzabal & Conner, 1995).

A proteção intestinal dessas culturas em aves é atribuída à competição bacteriana por sítios de aderência, chamada "exclusão competitiva", e à produção de ácidos orgânicos voláteis de cadeia curta a partir da lactose, por exemplo, com redução do pH cecal, (Hume et al., 1995; Ziprin et al., 1991).

Não há completo entendimento do mecanismo de ação desta microbiota, da sua composição quantitativa nem qualitativa, de como reproduzi-la *in vitro*, como manter sua ação *in vivo* e quais os ingredientes alimentares utilizados para a produção das substâncias químicas protetoras e quais são elas.

O propósito deste estudo foi avaliar o uso de microbiota intestinal anaeróbia e alguns ácidos orgânicos isoladamente ou em combinação, na prevenção da infecção de pintos de corte contra a infecção experimental por *S. typhimurium* e *S. enteritidis*.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados pintos comerciais de corte da linhagem Hubbard com um dia de idade, identificados e mantidos em gaiolas de arame, sob aquecimento. Foi fornecida ração comercial não medicada e água *ad libitum*.

Foram utilizadas uma amostra de *S. typhimurium* e outra de *S. enteritidis* isoladas de ceco e de fígado de matrizes pesadas, respectivamente, resistentes ao ácido nalidíxico (Nal<sup>i</sup>), por meio de cultivos sucessivos em ágar verde brilhante que continha 100µg de Nal/ml de meio de ácido nalidíxico (Weinack et al., 1982). Os inóculos eram culturas das amostras em caldo infusão de cérebro e coração (ICC), incubados a 40°C por 12 horas. Todos os grupos receberam 10<sup>9</sup> unidades formadoras de colônias (UFC)/ave, exceto os grupos tratados com ácido fórmico e propiônico, que foram desafiados com 10<sup>8</sup> UFC/ave de *S. typhimurium* e *S. enteritidis*. O número de UFC dos inóculos e dos macerados de fígado foi determinado com o uso de plaqueamento de 0,1 ml das suspensões e respectivas diluições decimais em solução tampão de salina fosfatada (PBS) com pH 7,2 em ágar verde brilhante acrescido de 10µg de Nal/ml (Weinack et al., 1982). As aves foram desafiadas por inoculação endoesofágica com 0,5ml da suspensão bacteriana, com auxílio de pipeta de 1ml, no terceiro dia de idade.

Os tratamentos foram realizados por cinco dias consecutivos a partir do primeiro dia de idade. Utilizaram-se ácidos acético, propiônico ou fórmico PA na concentração de 0,9% via água de bebida. A MCA foi inoculada uma vez ao dia, com auxílio de pipeta graduada de 1ml, pela via endoesofágica com 0,5ml da cultura com 10<sup>8</sup> UFC, determinada pelo plaqueamento de 0,1ml das suspensões em caldo tioglicolato e respectivas diluições decimais em PBS, em duplicata de ágar tioglicolato, cultivados em anaerobiose. A MCA foi obtida mediante o cultivo de macerado de "pool" de três cecos por 24 horas a 40°C em anaerobiose em caldo tioglicolato. Para isto, três aves avós, com 43 semanas de idade, eram sacrificadas e seus cecos separados na junção ileocecal, coletados e envoltos em papel alumínio, levados ao laboratório e congelados por não mais que 48 horas, até o momento de uso. As partidas de MCA eram estudadas quanto à presença de *Salmonella* spp conforme metodologia consagrada (Mallinson & Snoeyenbos, 1989).

Para cada amostra de *Salmonella* sp foram utilizados seis grupos de 20 pintos. Aos um, quatro, 10 e 18 dias após o desafio, três aves eram retiradas de cada grupo para pesagem, sacrifício e colheita de material. O fígado era removido assepticamente, triturado individualmente e suspenso em 20ml de PBS. Esta suspensão e suas diluições decimais eram utilizadas para contagem das UFC, com o uso de plaqueamento de 0,1ml em duplicata de ágar verde brilhante que continha Nal, cultivadas durante 24 horas à temperatura de 40°C. A colonização do trato digestivo foi determinada com o cultivo direto de ingluvívio, ceco e reto, com auxílio de swabe em ágar verde brilhante Nal<sup>r</sup> (Weinack et al., 1981; Andreatti Filho et al., 1993) e quantificada pela intensidade de crescimento bacteriano, sendo “0,1 a 1” para crescimento de 01 a 10 UFC, “1,1 a 2”, de 11 a 50 UFC, “2,1 a 3”, de 51 a 100 UFC e “4”, acima de 100 UFC. Concomitantemente à quantificação da colonização nos cecos, duas porções de aproximadamente 0,3g deles eram colocadas em tubo de ensaio com 2,4ml de água destilada com pH 7,0. Após agitação, o conteúdo era submetido à determinação do pH com o uso de pH metro (Ziprin et al., 1991). A quantificação da excreção bacteriana nas fezes foi realizada em amostras colhidas em folhas de papel alumínio colocadas sob as gaiolas na noite anterior às colheitas (Andreatti Filho et al., 1993).

Para a presença da bactéria nas fezes, devido ao fato de se utilizar “pool” de aves em cada um dos quatro dias de colheita, foi utilizada a prova não-paramétrica de Friedman visando à comparação dos diversos tratamentos, sendo o dia de coleta dos dados considerado como bloco. Para o pH cecal realizou-se análise de variância para experimento inteiramente ao acaso visando verificar os efeitos de interação entre tratamento e tempo, efeito de tratamento e efeito de tempo. Devido à natureza das variáveis estudadas que representam avaliações baseadas em escores ou contagens em UFC, referente à colonização do trato digestivo e quantificação hepática, respectivamente, utilizou-se análise não-paramétrica para experimento inteiramente ao acaso com o objetivo de verificar os efeitos de interação entre tratamento e tempo, efeito de tratamento e efeito de tempo. Em todas as análises efetuadas as estatísticas calculadas foram consideradas significativas quando  $P < 0,05$  (Zar, 1984).

## RESULTADOS

O uso de MCA isoladamente ou em associação com ácido acético reduziu, significativamente, a colonização do trato digestivo das aves tanto para *S. typhimurium* quanto para *S. enteritidis* (Tab. 1 e 2). A utilização de ácido acético, propiônico ou fórmico isolados não alterou o curso da colonização.

Entretanto, no inglúvio, os ácidos reduziram a colonização bacteriana, especialmente *S. typhimurium*. A colonização do trato digestivo foi mais persistente no ceco, reto e inglúvio, nessa ordem, independente do sorotipo de salmonela ou tratamentos utilizados (Tab. 1 e 2).

O tratamento com ácidos acético, propiônico e fórmico, diferentemente do uso de MCA, não reduziu a excreção fecal de *S. enteritidis*. Somente o tratamento com MCA, isoladamente, apresentou redução bacteriana significativa nas fezes em relação ao grupo-controle (Tab. 1 e 2).

A quantificação bacteriana no fígado foi o indicador de bacteremia das amostras de salmonelas utilizadas (Tab. 3). *S. typhimurium* foi detectada somente no período de um dia pós-inoculação no grupo controle. *S. enteritidis* foi detectada no fígado nos períodos de um, quatro e 10 dias pós-inoculação. A MCA isoladamente ou associada ao ácido acético foi mais eficaz em evitar a bacteremia que os outros tratamentos (Tab. 3).

Sempre no último período de análise (18 dias), as infecções no trato digestivo e no fígado apresentaram índices semelhantes pelos sorotipos desafio, independente dos tratamentos utilizados (Tab. 1, 2 e 3).

O uso de MCA e de ácidos acético, propiônico e fórmico contribuiu para redução do pH cecal das aves a um dia mas não aos quatro, 10 e 18 dias após o desafio (Tab. 4).

A *S. enteritidis* apresentou potencial maior de colonização intestinal e de invasão sistêmica, medida pela presença da bactéria no fígado, quando comparado com a *S. typhimurium*. O peso corporal das aves nos tratamentos não diferiu ( $P>0,05$ ).

Tabela 1. Efeito do tratamento de pintos de corte com ácidos orgânicos e/ou microbiota cecal anaeróbia (MCA) na colonização do trato digestivo e excreção fecal de *S. typhimurium*.

| Tratamento     | Colonização nos diferentes períodos em dias após desafio com <i>S. typhimurium</i> * |       |       |       |       |       |        |       |        |        |        |     |      |  | Excreção Fecal** |
|----------------|--------------------------------------------------------------------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|--------|-------|--------|--------|--------|-----|------|--|------------------|
|                | Inglúvio                                                                             |       |       |       | Ceco  |       |        |       | Reto   |        |        |     |      |  |                  |
|                | 1                                                                                    | 4     | 10    | 18    | 1     | 4     | 10     | 18    | 1      | 4      | 10     | 18  |      |  |                  |
| Controle       | 1,0Bc                                                                                | 0,6Bb | 0,6Bb | 0Aa   | 3,6Cc | 1,0Bb | 1,3Cb  | 0Aa   | 2,3Cd  | 0,6BCc | 0,3ABb | 0Aa | 5,0A |  |                  |
| Ác. Acético    | 0Aa                                                                                  | 0Aa   | 0Aa   | 0Aa   | 2,3Bc | 0,3Ab | 1,3Cc  | 0Aa   | 0,6Bb  | 0,3ABa | 0,6Bb  | 0Aa | 3,4A |  |                  |
| Ác. Propiônico | 0Aa                                                                                  | 0Aa   | 0,6Bb | 0Aa   | 2,0Bc | 2,6Bc | 0,6Bb  | 0Aa   | 0Aa    | 0,3ABb | 0,3ABb | 0Aa | 4,8A |  |                  |
| Ác. Fórmico    | 0Aa                                                                                  | 1,0Bc | 0Aa   | 0,3Ab | 1,6Bb | 1,6Bb | 1,0BCa | 2,6Bb | 0Aa    | 1,0Cc  | 0,3ABb | 0Aa | 5,3A |  |                  |
| MCA            | 0Aa                                                                                  | 0Aa   | 0Aa   | 0Aa   | 1,0Ab | 0Aa   | 0Aa    | 0Aa   | 0,3ABb | 0Aa    | 0Aa    | 0Aa | 1,5A |  |                  |
| MCA+Acético    | 0,6Bb                                                                                | 0Aa   | 0Aa   | 0Aa   | 0,3Ab | 0,3Ab | 0,3ABb | 0Aa   | 0Aa    | 0Aa    | 0Aa    | 0Aa | 2,7A |  |                  |

\* Resultados da média de três aves dos índices de colonização: "0,1 a 1" para 1 a 10 unidades formadoras de colônia (UFC); "1,1 a 2" de 11 a 50UFC; "2,1 a 3" de 51 a 100UFC e "4", acima de 100UFC.

\* Resultados da média de três aves dos índices de colonização: "0,1 a 1" para 1 a 10 unidades formadoras de colônia (UFC); "1,1 a 2" de 11 a 50UFC; "2,1 a 3" de 51 a 100UFC e "4", acima de 100UFC.

\*\* Resultados da média dos quatro períodos de análises, em UFC/grama de fezes (log10). Letras maiúsculas diferentes na coluna indicam diferença entre tratamentos em cada tempo; letras minúsculas diferentes na linha indicam diferença entre tempos em cada tratamento. P < 0,05.

Tabela 2. Efeito do tratamento de pintos de corte com ácidos orgânicos e/ou microbiota cecal anaeróbia (MCA) na colonização do trato digestivo e excreção fecal de *S. enteritidis*.

| Colonização do trato digestivo e excreção fecal de <i>S. enteritidis</i> * |                                                                                      |       |        |     |       |       |       |       |        |        |        |       |                  |  |  |
|----------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|-------|--------|-----|-------|-------|-------|-------|--------|--------|--------|-------|------------------|--|--|
| Tratamento                                                                 | Colonização nos diferentes períodos em dias após desafio com <i>S. enteritidis</i> * |       |        |     |       |       |       |       |        |        |        |       | Excreção Fecal** |  |  |
|                                                                            | Ínglúvio                                                                             |       |        |     | Ceco  |       |       |       | Reto   |        |        |       |                  |  |  |
|                                                                            | 1                                                                                    | 4     | 10     | 18  | 1     | 4     | 10    | 18    | 1      | 4      | 10     | 18    |                  |  |  |
| Controle                                                                   | 0,3Ab                                                                                | 1,3Bc | 3,0Cd  | 0Aa | 4,0Bb | 4,0Bb | 4,0Cb | 0,3Aa | 3,0Cb  | 3,3Bb  | 3,0Db  | 0,3Aa | 6,5B             |  |  |
| Ác. Acético                                                                | 2,3Bb                                                                                | 1,3Bb | 0Aa    | 0Aa | 4,0Bc | 4,0Bc | 2,3Bb | 0Aa   | 0,3ABb | 1,3Ac  | 0,6Bb  | 0Aa   | 4,7AB            |  |  |
| Ác. Propiônico                                                             | 2,3Bc                                                                                | 2,0Bc | 0,3ABb | 0Aa | 4,0Bd | 3,3Bc | 2,3Bb | 0Aa   | 3,3Cd  | 1,6ABc | 0,3ABb | 0Aa   | 5,2AB            |  |  |
| Ác. Fórmico                                                                | 1,3Ac                                                                                | 0,3Ab | 1,6Cc  | 0Aa | 4,0Bc | 4,0Bc | 3,3Cb | 2,6Ba | 0,6ABa | 1,3Ab  | 1,6Cc  | 0,3Aa | 5,5AB            |  |  |
| MCA                                                                        | 0,6Ab                                                                                | 1,6Bc | 0Aa    | 0Aa | 0,3Aa | 2,3Ab | 0,6Aa | 0,6Aa | 0Aa    | 1,3Ab  | 0Aa    | 0Aa   | 2,9A             |  |  |
| MCA+Acético                                                                | 0,6Ab                                                                                | 0Aa   | 0Aa    | 0Aa | 4,0Bc | 1,6Ab | 0,3Aa | 0Aa   | 3,3Cb  | 0,3Aa  | 0,3ABa | 0Aa   | 4,2AB            |  |  |

\* Resultados da média de três aves dos índices de colonização: "0" 1 a 1" para 1 a 10 unidades formadoras de colônia (UFC); "1" 1 a 2" de 11 a

\*Resultados da média de três aves dos índices de colonização: "0,1 a 1" para 1 a 10 unidades formadoras de colônia (UFC); "1,1 a 2" de 11 a 50UFC; "2,1 a 3" de 51 a 100UFC e "4" acima de 100UFC.

\*\*Resultados da média dos quatro períodos de análises, em UFC/grama de fezes (log10). Letras maiúsculas diferentes na coluna indicam diferença entre tratamentos em cada tempo; letras minúsculas diferentes na linha indicam diferença entre tempos em cada tratamento. (P&lt;0,05).

Tabela 3. Efeito do tratamento de pintos de corte com ácidos orgânicos e/ou microbiota cecal anaeróbia (MCA) na infecção hepática por *S. typhimurium* e *S. enteritidis*\*.

| Tratamentos    | Tempo em dias após desafio com <i>S. Typhimurium</i> |   |    |    | Tempo em dias após desafio com <i>S. Enteritidis</i> |        |       |     |
|----------------|------------------------------------------------------|---|----|----|------------------------------------------------------|--------|-------|-----|
|                | 1                                                    | 4 | 10 | 18 | 1                                                    | 4      | 10    | 18  |
| Controle       | 1,1                                                  | 0 | 0  | 0  | 5,5Bc                                                | 3,7Cb  | 3,8Bb | 0Aa |
| Ác. Acético    | 0                                                    | 0 | 0  | 0  | 3,5Ab                                                | 3,3BCb | 0Aa   | 0Aa |
| Ác. Propiônico | 0                                                    | 0 | 0  | 0  | 3,6Ab                                                | 0Aa    | 0Aa   | 0Aa |
| Ác. Fórmico    | 0                                                    | 0 | 0  | 0  | 4,2Bb                                                | 4,4Cb  | 0Aa   | 0Aa |
| MCA            | 0                                                    | 0 | 0  | 0  | 3,6Ac                                                | 2,3Bb  | 0Aa   | 0Aa |
| MCA+Acético    | 0                                                    | 0 | 0  | 0  | 3,6Ab                                                | 3,8Cb  | 1,1Aa | 0Aa |

\*Resultados em logaritmo decimal da média de três aves das unidades formadoras de colônia (UFC)/fígado.

Letras maiúsculas diferentes na coluna indicam diferença entre tratamentos em cada tempo; letras minúsculas diferentes na linha indicam diferença entre tempos em cada tratamento ( $P < 0,05$ ).

Tabela 4. Efeito do tratamento de pintos de corte com ácidos orgânicos e/ou microbiota cecal anaeróbia (MCA), desafiados com *S. typhimurium* ou *S. enteritidis*, na alteração do pH cecal\*.

| Tratamentos    | Tempo em dias após desafio com <i>S. typhimurium</i> |       |        |         | Tempo em dias após desafio com <i>S. enteritidis</i> |        |        |        |
|----------------|------------------------------------------------------|-------|--------|---------|------------------------------------------------------|--------|--------|--------|
|                | 1                                                    | 4     | 10     | 18      | 1                                                    | 4      | 10     | 18     |
| Controle       | 6,6BCa                                               | 6,6Aa | 6,6Aa  | 6,6ABCa | 7,0BCa                                               | 6,6ABa | 6,4Aa  | 6,7Aa  |
| Ác. Acético    | 5,6ABa                                               | 6,0Aa | 6,6Aa  | 6,1ABa  | 5,3Aa                                                | 5,6ABa | 6,1Aa  | 6,3Aa  |
| Ác. Propiônico | 5,3Aa                                                | 6,1Aa | 6,3Aab | 6,5ABCb | 5,3Aa                                                | 6,5ABb | 5,8Aab | 6,5Ab  |
| Ác. Fórmico    | 5,0Aa                                                | 6,3Ab | 7,0Ab  | 7,1BCb  | 5,5Aa                                                | 6,8Bb  | 6,3Aab | 6,2Aab |
| MCA            | 5,1Aa                                                | 6,1Aa | 6,1Aa  | 6,0Aa   | 5,8ABa                                               | 5,5Aa  | 6,3Aa  | 6,3Aa  |
| MCA+Acético    | 7,0Ca                                                | 6,8Aa | 7,0Aa  | 7,3Ca   | 7,3Ca                                                | 6,8Ba  | 6,8Aa  | 7,0Aa  |

\*Resultados da média de três aves.

Letras maiúsculas diferentes na coluna indicam diferença entre tratamentos em cada tempo; letras minúsculas diferentes na linha indicam diferença entre tempos em cada tratamento ( $P < 0,05$ ).

## DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

A colonização por *S. typhimurium* e *S. enteritidis* nos diversos segmentos do trato digestivo e no fígado das aves dos grupos-controle, mostra que a infecção das aves por salmonelas paratífóides é autolimitante, como já observado por Barrow (1988), pois a quantidade de *Salmonella* spp no último período de análise, foi sempre semelhante, independente dos tratamentos utilizados.

A infecção do trato digestivo de aves por salmonelas paratífóides é mais eficaz e persistente no ceco, reto e ingluvío, nesta ordem, como demonstraram esses resultados locais de importância na patogenia das infecções paratífóides das aves (Hargis *et al.*, 1995). O ceco é o local de maior colonização por *Salmonella* spp, bem como por outras espécies patogênicas da família *Enterobacteriaceae*, como *Escherichia coli*, quando comparado com outros locais do trato digestivo (Andreatti Filho *et al.*, 1993) e sua colonização é utilizada como parâmetro para avaliar a eficácia de tratamentos contra salmonelose (Corrier *et al.*, 1990). Essa característica relaciona-se com a presença de receptores específicos no órgão, fisiologia do peristaltismo cecal determinando maior tempo de permanência do bolo alimentar e pH, entre outros fatores. Em condições naturais de criação, há indicações de que a presença de salmonelas paratífóides não interfere com a produtividade de frangos de corte (Silva, 1992), condição essa ratificada por esses estudos.

A literatura mostra que o controle da infecção por *Salmonella* spp em aves pode ser efetuado pelo tratamento com ácidos orgânicos como acético, propiônico, butírico, láctico, succínico e fumárico na dieta (Baskett & Hentges, 1973; Hinton & Linton, 1988; Hume *et al.*, 1993ab; McHan & Shotts, 1993). A ação dos ácidos orgânicos ainda não foi totalmente identificada, parecendo relacionar-se com a célula bacteriana como agente antimicrobiano (Baskett & Hentges, 1973; Chu *et al.*, 1987). Moléculas destes ácidos penetrariam passivamente nas células bacterianas, dissociando-se em próton e ânion, dependendo do pH interno. A acidificação do citoplasma aparentemente é a causa primária para inibição do crescimento bacteriano, podendo determinar até a morte celular (Salmond *et al.*, 1984).

Os ácidos utilizados não determinaram diferenças na maior parte dos parâmetros pesquisados, com exceção do pH cecal durante o período de tratamento, bem como na colonização do ingluvío. O efeito do uso de ácidos orgânicos no controle da colonização e infecção por *Salmonella* spp em aves parece ser dependente do ácido, da dose administrada, do veículo de administração e do inóculo da *Salmonella* sp (Corrier *et al.*, 1990; Hinton & Linton, 1988). Os

ácidos não são efetivos contra *Salmonella* spp quando adicionados a dietas secas. O efeito antibacteriano só ocorre quando a ave ingere o alimento e esse é imediatamente hidratado (Hinton & Linton, 1988). Nesses experimentos, o efeito sinérgico da associação MCA e ácido acético não foi efetivo na redução de *Salmonella* spp nas fezes e no pH cecal, embora esta associação tenha determinado menor colonização de *S. typhimurium* e *S. enteritidis* em diversos períodos pós-inoculação no ingluvírio, cecos e reto.

A MCA utilizada não teve nenhuma identificação bacteriana prévia e cultura indefinida têm mostrado maior proteção contra *Salmonella* spp que culturas definidas (Hinton & Mead, 1991; Oyarzabal & Conner, 1995).

A acidificação cecal observada nos experimentos é também relatada por diversos pesquisadores, devido à produção de ácidos orgânicos resultantes da fermentação de carboidratos pela microbiota intestinal da ave (Corrier et al., 1990; Ziprin et al., 1991). MCA e ácidos testados reduziram o pH cecal, durante o período de tratamento, após desafio com *S. typhimurium* ou *S. enteritidis*. Apesar de os ácidos orgânicos e a MCA reduzirem o pH cecal, apenas o tratamento com MCA reduziu significativamente a quantidade das bactérias nas fezes, indicando que a simples redução no pH cecal pode não determinar menor quantidade de *Salmonella* spp. A acidificação cecal observada nesses experimentos ocorreu provavelmente, devido à quantidade de ácido orgânico fornecido às aves, pois há relatos indicando que, especialmente o ácido propiônico, quando fornecido na dieta, é metabolizado e absorvido no trato digestivo superior, não aparecendo em quantidades apreciáveis no intestino ou no ceco, pois a maior parte do ácido ingerido é rapidamente degradada ou assimilada (Hume et al., 1993a,b).

A presença de *Salmonella* spp no fígado e nos vários segmentos do trato digestivo mostrou que a *S. enteritidis* foi muito mais invasiva que a *S. typhimurium*. Mostrou, também, que o uso dos ácidos orgânicos e da MCA teve pouco efeito na redução da infecção sistêmica, demonstrando que o uso de MCA tem sua ação restrita ao trato digestivo.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDREATTI FILHO, R.L., SILVA, E.N., BALEN, L. Efeito da via de inoculação na patogenicidade de amostras patogênica e apatogênica de *Escherichia coli* em galinha. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, Belo Horizonte, v.45, p.475-486, 1993.

- BARROW, P.A., SIMPSON, J.M., LOVELL, M.A. Intestinal colonization in the chicken by food-poisoning *Salmonella* serotypes; microbial characteristics associated with faecal excretion. *Avian Pathol.*, v.17, p.571-588, 1988.
- BASKETT, R.C., HENTGES, D.J. *Shigella flexneri* inhibition by acetic acid. *Infect. Immunol.*, v.8, p.91-97, 1973.
- CHU, I., KEVER, T.A., PAPOUTSAKIS, E.T. Formate transport, growth inhibition and the membrane proton motive force in two methylotrophs (T15 and L3). *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, v.26, p.70-77, 1987.
- CORRIER, D.E., HINTON Jr., A., ZIPRIN, R.L. et al. Effect of dietary lactose on cecal pH, bacteriostatic volatile fatty acids and *Salmonella typhimurium* colonization of broiler chicks. *Avian Dis.*, v.34, p.617-625, 1990.
- HARGIS, B.M., CALDWELL, D.J., BREWER, R.L. et al. Evaluation of the chicken crop as a source of *Salmonella* contamination for broiler carcasses. *Poult. Sci.*, v.74, p.1548-1552, 1995.
- HINTON, M., LINTON, A.H. Control of *Salmonella* infections in broiler chickens by the acid treatment of their feed. *Vet. Rec.*, v.123, p.416-421, 1968.
- HINTON, M., MEAD, G.C. *Salmonella* control in poultry: the need for the satisfactory evaluation of probiotics for this purpose. *Lett. Appl. Microbiol.*, v.13, p.49-50, 1991.
- HUDALT, S., BEWA, H., BRIDONNEAU, C. et al. Efficiency of various bacterial suspensions derived from cecal floras of conventional chickens in reducing the population level of *Salmonella typhimurium* in gnotobiotic mice and chicken intestines. *Can. J. Microbiol.*, v. 31, p.832-38, 1985.
- HUME, M.E., CORRIER, D.E., IVIE, W. et al. Metabolism of [14C] propionic acid in broiler chicks. *Poult. Sci.*, v.72, p.786-93, 1993a.
- HUME, M.E., CORRIER, D.E., AMBRUS, S. et al. Effectiveness of dietary propionic acid in controlling *Salmonella typhimurium* colonization in broiler chicks. *Avian Dis.*, v.37, p.1051-1056, 1993b.
- HUME, M.E., NISBET, D.J., SCANLAN, C.M. et al. Fermentation of radiolabeled carbohydrates by a reconstructed continuous-flow culture effective against *Salmonella* in broiler chicks. *Poult. Sci.*, v.74, p.1553-1157, 1995.
- MALLINSON, E.T., SNOEYENBOS, G.H. Salmonellosis. In: PURCHASE, H.G. *A laboratory manual for the isolation and identification of avian pathogens*. Kennett Square: University of Pennsylvania, The American Association of Avian Pathologists, 1989, p.3-11.
- McHAN, F., SHOTTS, E.B. Effect of short-chain fatty acids on the growth of *Salmonella typhimurium* in an *in vitro* system. *Avian Dis.*, v.37, p.396-398, 1993.

- OYARZABAL, O.A., CONNER, D.E. *In vitro* fructooligosaccharide utilization and inhibition of *Salmonella* spp by selected bacteria. *Poult. Sci.*, v.74, p.1418-1425, 1995.
- SALMOND, C.V., KROLL, R.G., BOOTH, I.R. The effect of food preservatives on pH homeostasis in *Escherichia coli*. *J. Genet. Microbiol.*, v.130, p.2843-2850, 1984.
- SILVA, E.N. Salmoneloses em galinhas. In: CURSO DE SANIDADE AVÍCOLA, 1992, Campinas, SP. Campinas: Fundação Apinco de Ciência e Tecnologia Avícola, 1992.
- WEINACK, O.M., SNOEYENBOS, G.H., SMYSER, C.F., et al. Competitive exclusion of intestinal colonization of *Escherichia coli* in chicks. *Avian Dis.*, v.25, p.696-705, 1981.
- WEINACK, O.M., SNOEYENBOS, G.H., SMYSER, C.F. et al. Reciprocal competitive exclusion of *Salmonella* and *Escherichia coli* by native intestinal microflora of the chicken and turkey. *Avian Dis.*, v.26, p.586-595, 1982.
- ZAR, J.H. *Biostatistical analysis*. Englewood Cliffs: Prentice-Hall International, 1984. 718p.
- ZIPRIN, R.L., ELISSALDE, M.H., HINTON, Jr., A. et al., colonization control of lactose-fermenting *Salmonella typhimurium* in young broiler chickens by use of dietary lactose. *Am. J. Vet. Res.*, v.52, p.833-837, 1991.