

# CONTROLE DE *SALMONELLA* UTILIZANDO *LACTOBACILLUS PARACASEI* COMO PROBIOTICO

E. M. DE CARLI<sup>1</sup>, S.C. PALEZI<sup>1</sup>, L. MARCHI<sup>2</sup>, L. L. FRIES<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Universidade do Oeste de Santa Catarina, Docentes do Curso de Engenharia de Alimentos [eliane.carli@unoesc.edu.br](mailto:eliane.carli@unoesc.edu.br)

<sup>2</sup>Acadêmica do Curso de Engenharia de alimentos, Universidade do Oeste de Santa Catarina, São Miguel do Oeste, SC, Brasil

<sup>3</sup>Universidade Federal de Santa Maria, Docente, Departamento de Tecnologia de Alimentos, Santa Maria, RS, Brasil

**RESUMO** – A avicultura comercial tem como objetivo obter alta produtividade a baixo custo e oferecer ao consumidor produto de qualidade. Uma bactéria patogênica que tem preocupado o setor avícola nos últimos tempos é a Salmonela. O presente trabalho foi realizado no Laboratório de Microbiologia da UNOESC. Foram utilizados pintos comerciais de corte com um dia de idade, mantidos em gaiolas de arame, sob aquecimento. Para alimentação foi fornecida ração não medicada e água. Os tratamentos foram realizados no primeiro dia de vida das aves. Administrou-se probiótico por pulverização e na água de bebida, e salmonela por inoculação endoesofágica e probiótico na água de bebida. A inoculação via endoesofágica foi realizada com auxílio de uma sonda e seringa graduada de 1ml, com 0,1ml da cultura de *Salmonella* Enteritidis para cada pinto. Para a pulverização e para a água de bebida, o inóculo continha 10<sup>10</sup> UFC/ml, de *Lactobacillus* e para a via endoesofágica 10<sup>3</sup> UFC/ml, de *SE*. A cada semana três pintos de cada lote eram retirados de cada grupo para colheita do material. A presença nas fezes e a colonização dos cecos de pintos de corte por *SE* foi acentuadamente reduzida nos grupos tratados com *Lactobacillus paracasei* (L2) por pulverização e adição na água de bebida. Constatou-se que o uso de probióticos inibe o desenvolvimento de salmonela, no trato intestinal das aves, já que está foi encontrado Controle (L1), em três amostras analisadas, ocorreu possivelmente devido à presença de bactérias na ração, água ou ambiente, onde as aves se encontravam. No tratamento com Adição de *Lactobacillus paracasei* na água de bebida + inoculação de *SE*, verificamos três ausências de salmonela, no 0º; 32º; e 42º dias de tratamento. Já no 32º e 42º ocorreram ausências de *SE* o que indica a capacidade inibitória do probiótico utilizado. Observamos que a inibição ocorre tardiamente.

## 1. INTRODUÇÃO

A colonização intestinal por grande e diversificado número de bactérias é achado normal nas aves. Entre as bactérias capazes de colonizar o trato intestinal da galinha encontram-se diferentes sorovares de *Salmonella* causadores de infecções em humanos. A susceptibilidade da ave à colonização intestinal por *Salmonella* spp. é maior durante os primeiros dias de vida, reduzindo-se à medida que ocorre o crescimento da microbiota intestinal normal. (NURMI & RANTALA, 1973; PIVNICK et al., 1982).

A avicultura comercial tem como objetivo obter alta produtividade a baixo custo e oferecer ao consumidor produto de qualidade. Porém, para a obtenção da alta produtividade são usados promotores de crescimento, entre eles, os antibióticos. A utilização indiscriminada tem levado ao aparecimento de populações bacterianas resistentes (FULLER, 1989), levando ao desequilíbrio na simbiose entre microrganismos patogênicos e o animal.

Torna-se evidente, portanto, a necessidade de desenvolver um produto que possa ser utilizado como substitutivos aos antibióticos, sem causar perdas de produtividade e qualidade dos produtores finais. Entre as alternativas destacam-se os probióticos, os quais são produtos constituídos por microrganismos vivos que afetam benéficamente o animal hospedeiro, promovendo o equilíbrio da microbiota intestinal (FULLER, 1989), de forma que os antibióticos possam ser utilizados quando realmente necessários.

O termo exclusão competitiva é usado para descrever a capacidade de uma microbiota impedir a colonização intestinal de outras bactérias. A administração de probióticos, compostos por microrganismos da microbiota intestinal de aves normais, pode determinar alguma proteção às aves receptoras contra a colonização por alguns patógenos, particularmente *Salmonella* spp. (ZIPRIN et al., 1993; NISBET et al., 1994; HOLLISTER ET AL., 1995; ANDREATTI FILHO et al., 1997, 1999, 2000).

São descritos vários métodos de administração da microbiota intestinal, ou seja, por meio de pulverização sobre as aves, inoculação em ovos embrionados, inoculação via cloaca, reutilização de cama, inoculação via endoesofágica e adição à ração ou à água de bebida. O inóculo pode ser obtido a partir de fezes ou de conteúdo cecal recém-colhidos. (ZIPRIN et al., 1993; NISBET et al., 1994; ANDREATTI FILHO et al., 1997, 1999, 2000).

O propósito deste estudo foi verificar o efeito do probiótico *Lactobacillus paracasei* no controle da *Salmonella* Enteritidis em frangos de corte.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado no Biotério da Medicina Veterinária Preventiva da Universidade Federal de Santa Maria – RS.

A coleta do material para análise foi realizada no Laboratório Central de Diagnóstico de Patologia Aviária (LCDPA), Medicina Veterinária.

As análises microbiológicas foram realizadas no Laboratório de Microbiologia de Alimentos do Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos da Universidade Federal de Santa Maria – RS.

Foram utilizados pintos comerciais de corte com um dia de idade, mantidos em gaiolas de arame, sob aquecimento. Para alimentação foi fornecida ração não medicada e água. Os tratamentos foram realizados no primeiro dia de vida das aves.

Administrou-se probiótico por pulverização e na água de bebida, e salmonela por inoculação endoesofágica e probiótico na água de bebida. A pulverização foi realizada com auxílio de pulverizador manual. A inoculação via endoesofágica foi realizada com auxílio de uma sonda e seringa graduada de 1mL, com 0,1mL da cultura de *Salmonella* Enteritidis para cada pinto. Para a pulverização e para a água de bebida, o inóculo continha  $10^{10}$  UFC $^{\circ}$  mL $^{-1}$ , de *Lactobacillus paracasei* e para a via endoesofágica  $10^3$  UFC $^{\circ}$  mL $^{-1}$ , de *Salmonella* Enteritidis.

Foram utilizados três grupos de 20 pintos, assim distribuídos: Lote 1 – Controle; Lote 2 -- pulverização e adição de probiótico na água de bebida; Lote3 – adição de probiótico na água de bebida e inoculação de *Salmonella* Enteritidis. A cada semana três pintos de cada lote foram retirados de cada grupo para pesagem, sacrifício e coleta do material.

## 2.1. Materiais Do Experimento

Para a realização deste trabalho utilizou-se 3 (três) gaiolas de 1 X 1 m $^2$ , onde foram colocados 20 pintos de 1 (um) dia, os tratamentos foram feitos na água de bebida. A ração foi elaborada pelo Setor de Avicultura, do Departamento de Zootecnia, sem adição de antibióticos e promotores de crescimento. No tratamento 1 (T1) os pintos foram alimentados com água e ração convencional sem adição de antibiótico e promotores de crescimento, tratamento 2 (T2) foi adicionado *Lactobacillus paracasei* ( $10^{10}$  UFC $^{\circ}$  mL $^{-1}$ ) na água de bebida e por pulverização do ambiente, tratamento 3 (T3) foi adicionado *Lactobacillus paracasei* ( $10^{10}$  UFC $^{\circ}$  mL $^{-1}$ ) na água de bebida e pulverização do ambiente, e feita à inoculação de ( $10^3$  UFC $^{\circ}$  mL $^{-1}$ ) de cultura de *Salmonella* Enteritidis, no esôfago dos pintos. Foi realizada análise de contagem de bactérias lácticas e determinação de Salmonella pelo método Tecra Salmonella Imunoensaio Visual (Salvia).

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A adição de probióticos (culturas de microorganismos vivos) à água de bebida das aves, promove a colonização e multiplicação das bactérias presentes nesses produtos, como espécies de *Lactobacillus*, no trato intestinal das aves contra a colonização por patógeno, como *Salmonella spp* (SCHNEITZ, 1992).

O trato gastrointestinal (TGI) de frangos de corte é pouco desenvolvido nos primeiros dias de vida dos pintinhos. Quando as aves são alimentadas ou tratadas incorretamente na fase inicial, maiores problemas podem aparecer nas fases seguintes.

Neste trabalho, o *Lactobacillus paracasei* foi administrado, no primeiro dia de vida, na água de bebida e com pulverização do ambiente. Nesta idade, como o TGI não está totalmente desenvolvido, a absorção do tratamento foi mais eficiente. O desenvolvimento e estabelecimento da flora intestinal ocorrem de forma prática, logo após o início da ingestão de água e alimento pelas aves. A ingestão de ração e água estimula a atividade do TGI, incluindo a produção de ácidos, a biossíntese de enzimas, bem como a absorção do *Lactobacillus paracasei*.

O grande interesse em controlar a Salmonella e outros patógenos, se deve a que eles têm uma interferência na redução da digestibilidade e de absorção dos nutrientes da ração, contribuindo com a síndrome de passagem rápida, com o aumento da excreção de fezes, em

muitos casos fluídas, que levam a uma perda de carboidratos hidrossolúveis, vitaminas e aminoácidos. Com isso, produz a morte dos tecidos intestinais que acabam enriquecendo o conteúdo intestinal e se tornando meio de cultura para o crescimento bacteriano, principalmente *Salmonella* (MACARI et al, 2002)

A presença nas fezes e a colonização dos cecos de pintos de corte por *Salmonella* Enteritidis foi acentuadamente reduzida nos grupos tratados com *Lactobacillus paracasei* (L2) por pulverização e adição na água de bebida, concordando com achados de outros autores (CORRIER et al., 1990; ZINPRIN et al., 1991; KOGUT et al., 1994; ANDREATTI FILHO et al., 1997). Com isso podemos constatar que o uso de probióticos inibe ou reduz o desenvolvimento de salmonela, no trato intestinal das aves, já que foi constatada sua presença em três amostras analisadas, do tratamento Controle (L1). Esta contaminação possivelmente ocorreu devido à presença de bactérias na ração, água ou ambiente, onde as aves se encontravam.

No tratamento com adição de *Lactobacillus paracasei* na água de bebida e pulverização do ambiente + inoculação de *Salmonella* Enteritidis (L3), verificamos três ausências de Salmonela, nos dias 0; 32; e 42. Nas amostras positivas para Salmonela observamos lesões características no fígado (Figura. 7). Estas lesões no fígado são típicas de contaminação por Salmonela, quando esta atinge a corrente sanguínea, provavelmente de modo intracelular, e são removidas pelo fígado, baço ou medula óssea (COLLINS, 1993).

Nesta fase, ocorre à multiplicação bacteriana em uma taxa que reflete a virulência da linhagem em questão, podendo resultar na morte do hospedeiro. Todas as lesões encontradas neste trabalho apareceram no fígado a partir da terceira análise, com 14 dias de vida.

No primeiro dia de tratamento considerado dia 0, observamos ausências de SE, em todos os tratamentos. A inoculação do tratamento foi realizada via esôfago, após 30 minutos ocorreu à coleta do ceco para análise, tempo considerado curto para que a SE se alojasse no intestino. Já no 32 e 42 dias ocorreram ausências de SE o que indica a capacidade inibitória do probiótico utilizado. Entretanto, foi observado que a inibição ocorre tardiamente.

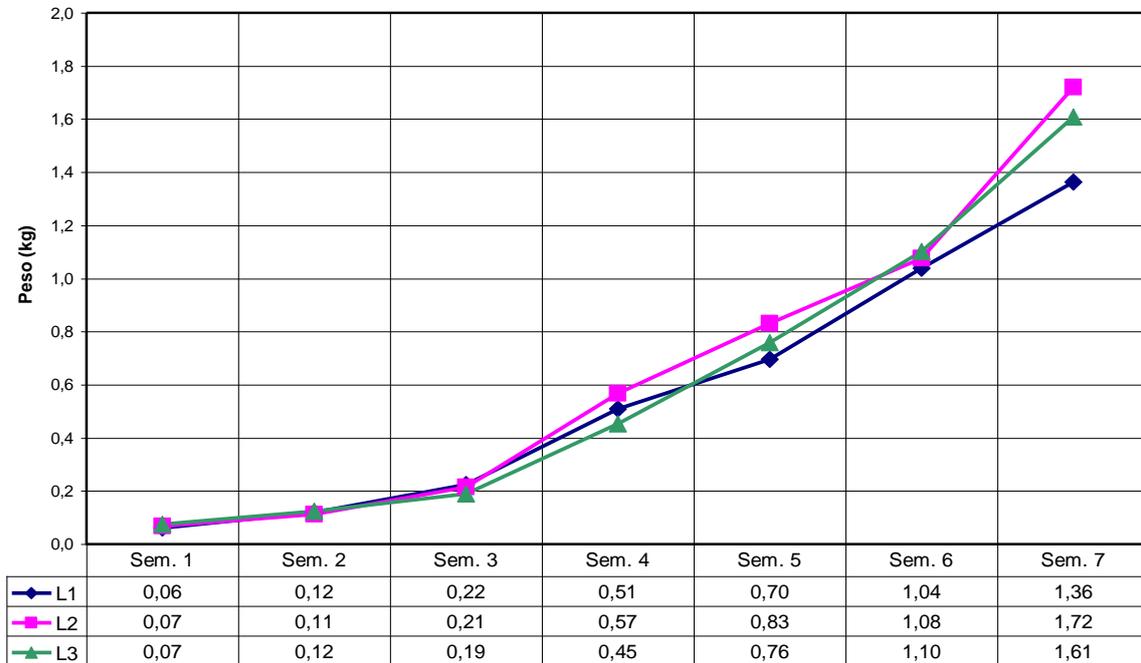
Um estudo conduzido por Tellez et al (2001), demonstrou que os probióticos reduziram significativamente a colonização de *Salmonella* em frangos de corte com idade de comercialização, melhorando potencialmente a qualidade microbiológica das carcaças processadas.

O ceco é o local onde a Salmonela mais se desenvolve, essa característica, conforme Mchan et al (1989) relaciona-se com a presença de receptores específicos no órgão e com a fisiologia do peristaltismo cecal, que determinam maior tempo de permanência do bolo alimentar e pH, entre outros fatores. Característica esta que se comprova neste trabalho.

A infecção do trato digestivo de frangos de corte por salmonelas é mais eficaz e persistente no ceco, como demonstraram os resultados deste trabalho, local de importância na patogenia das infecções das aves (HARGIS et al., 1995). A mucosa cecal é o local de maior colonização por *Salmonella spp.* e por outras espécies patogênicas da família *Enterobacteriaceae*, 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 salmoneloses (CORRIER et al., 1990).

### **3.1. Ganho De Peso Das Aves**

## Variação do PESO



L1: Controle; L2: Adição de *Lactobacillus paracasei* na água de bebida e pulverização do ambiente; L3: Adição de *Lactobacillus paracasei* na água de bebida e pulverização do ambiente + inoculação de *Salmonella Enteritidis*;

Gráfico 1 - Variação do peso de frangos de corte com 45 dias de idade, tratados com *Lactobacillus paracasei* na água de bebida e pulverização do ambiente + inoculação de *Salmonella Enteritidis*

O ganho de peso (conforme gráfico 1) do lote que recebeu *Lactobacillus paracasei* pulverizado e na água de bebida (L2) não diferiu dos demais tratamentos. Como esse mesmo tratamento não acusou a presença de SE nas fezes, enquanto nos demais grupos tratados com probiótico os índices de SE nas fezes foram detectáveis, conforme indicação do gráfico e resultados deste trabalho, à presença de *Salmonella Enteritidis* não interfere decisivamente na produtividade de frangos de corte, conforme já constatado por outro pesquisador (SILVA, 1994). Embora não tenha ocorrido variação significativa entre os grupos, em relação ao peso corporal, o grupo tratado com *Lactobacillus paracasei* pulverizado e na água de bebida (L2), apresentou melhor *performance*.

Durante a necropsia verificamos lesões características no fígado, nestas mesmas aves (L3). Foi observado grande depósito de gordura principalmente no peito das mesmas.

## 4. CONCLUSÃO

Dos resultados obtidos no presente trabalho pode-se concluir que:

- O *Lactobacillus paracasei* possui atividade inibitória em relação a *Salmonella* Enteritidis, visto que no tratamento que foi, adicionado *Lactobacillus paracasei*,  $10^{10}$  UFC $^{\circ}$ mL $^{-1}$ , na água de bebida, todas as amostras mostraram-se com ausência de Salmonela.
- Também verificamos que mesmo no tratamento em que foi adicionado de *Lactobacillus paracasei*,  $10^{10}$  UFC $^{\circ}$ mL $^{-1}$ , na água de bebida, e com à inoculação de  $10^3$  UFC $^{\circ}$ mL $^{-1}$  de *Salmonella* Enteritidis, no esofago dos pintos, o controle ocorreu tardiamente, possivelmente devido à competição entre as bactérias.
- Em relação ao comportamento do *Lactobacillus paracasei*, utilizado na água de bebida e pulverizado no ambiente, mostrou-se eficiente, devido a este ser um método pratico e fácil de aplicação em grandes aviários.
- O *Lactobacillus paracasei*, pode vir a ser um grande aliado das indústrias no controle das infecções por SE.

## 5. REFERÊNCIAS

- ANDREATTI FILHO R. L. *Sorovares de Salmonella isolados de materiais avícolas no período de 1994 a 1999*. Revista de Educação Continuada., São Paulo, n. 4, p. 90-101, 2001.
- 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., v.45, p.475-486, 1993.
- CRAVEN SE, WILLIAMS DD. *In vitro attachment of Salmonella typhimurium to chicken cecal mucus: effect of cations and pretreatment with Lactobacillus spp. isolated from the intestinal tracts of chickens*. J Food Prot. 1998 Mar; 61(3):265-71.
- COLLINS FM. *Cellular mediators of anti-microbial resistance*. In: CABELLOF, HORMAECHE C, MASTROENI P BONINA L. The Biology of Salmonella. NATO ASI Series, Series A. Life Sciences. 1993.
- 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.
- FULLER, R. *Probiotics in man and animals*. A review. J. Appl. Bacteriology, n. 66, p. 365-378, 1989.
- HARGIS, BM et al. *Evaluation of the chicken crop as a source of Salmonella contamination for broiler carcasses*. Poultry Science, 1995.

- HOLLISTER, A.G et al. *Effect of lyophilization in sucrose plus dextran and rehydration in thioglycollate broth on performance of competitive exclusion cultures in broiler chicks.* *Poult. Sci.*, v.74, p.586-590, 1995.
- KOGUT, M.H. FUAKATA, T., TELLEZ, G. et al. *Effect of Eimeria Tenella infection on resistanse to Salmonella Typhimurium colonization in broiler chicks inoculated with anaerobic cecal flora and fed dietary lactose.* *Avian Dis.*, 1994.
- MACARI, M. FURLAN, L. GONZÁLES, E. *Fisiologia Aviária – Aplicada a frangos de corte*; FUNEP/UNESP, 2002.
- MCHAN F, COX NA, BLANKENSHIP LC, BAILEY JS. *In vitro attachment of Samonella typhimurium to chick ceca exposed to selected carbroydates.* *Avian Diseases*, 1989.
- NISBET, D.J.; RICKE, S.C.; SCANLAN, C.M. et al. *Inoculation of broiler chicks with a continuous-flow derived bacterial culture facilitates early cecal bacterial colonization and increases resistance to Salmonella typhimurium.* *J. Food Protect.*, v.57, p.12-15, 1994.
- NURMI, E.; RANTALA, M. *New aspects of Salmonela infection in broiler production.* *Nature*, v. 241, p. 210-211, 1973.
- PIVNICK, H. et al. *Comparison of fresh feces with lyophilized and frozen cultures of feces as inocula to prevent Salmonella infection in chicks.* *J. Food Protect.*, v.45, p.1188-1194, 1982
- SILVA, EN. *Salmoneloses em galinhas.* In. *Curso de Sanidade Avícola*, 1994, Campinas – Fundação Apinco de Ciência e Tecnologia Avícolas, 1994.
- SINNEL, Hans Jurgen - *Introduccion a la higiene de los alimentos.* Ed. ACRIBIA, 1995.
- TELLEZ, G.I., KOGUT, M.H., HARGIS, B.M. *Eimeria tenella or Eimeria adenoeides: induction of histological and morphometric changes increase resistance to Salmonella enteritidis infection in Leghorn chicks.* In: *Annual Meeting Abstracts - Poultry Science Association*, 82, 2001.
- SCHNEITZ, C.,1992. *Automated droplet application of a competitive exclusion preparation.* *Poultry Sci.* 71: 2125–2128.
- ZINPRIN, R.L.; *Control of established Salmonella typhimurium intestinal colonization with in vivo-passaged anaerobes.* *Avian Dis.*, v.37, p.183-8, 1991 a 1993.