

AVALIAÇÃO DE UMA CULTURA PROBIÓTICA BASEADA EM BACTÉRIAS ÁCIDO LÁTICAS NO TRATAMENTO DE SALMONELLA ENTERICA SEROVAR HEIDELBERG EM FRANGOS DE CORTE DE UM DIA DE IDADE

A. Menconi*, A. D. Wolfenden, S. Shivaramaiah, C. Kremer, M. Morgan, N. Pumford,
B. M. Hargis, G. Tellez

Departamento de Ciências Avícolas, Universidade de Arkansas, Fayetteville, AR, EUA.

INTRODUÇÃO

Salmonella enterica sorovar Heidelberg está entre os três sorovares mais isolados de pessoas infectadas com *Salmonella* na América do Norte, classificação que não ocorre em outras regiões do mundo (1). Fontes de infecções humanas por *Salmonella* Heidelberg incluem o consumo de frangos, ovos e de produtos que contêm ovos (2,4). Pesquisas conduzidas em nosso laboratório permitiram a identificação de 11 Bactérias Ácido Láticas (BAL) do gênero ou relacionado a *Lactobacillus* no produto FM-B11 (Floramax™) que é eficaz no tratamento de frangos ou perus infectados por *Salmonella* (3,6,7). No presente estudo nós avaliamos o efeito dessa cultura probiótica de bactérias ácido láticas no tratamento de salmonelose por *Salmonella enterica* sorovar Heidelberg em pintos de corte de um dia de idade.

MATERIAL E MÉTODO

Uma amostra de *Salmonella enterica* sorovar Heidelberg (SH) de origem avícola e resistente a novobiocina (NO) e ao ácido nalidíxico (NA) foi utilizada como desafio. O produto comercial FloraMax™ (FM-B11) constituído de onze amostras de bactérias ácido láticas, originado do trato gastrointestinal de frangos, foi diluído em leite em pó desnatado reconstituído em uma concentração de 4×10^6 cfu/mL para gavagem oral dos pintos nesse estudo. Pintos de corte de um dia de idade foram obtidos de um incubatório local. Uma bateria de gaiolas foi utilizada para criação das aves, que tiveram livre acesso à ração inicial de frango de corte sem medicação, formulada para suprir ou exceder os níveis críticos de nutrientes recomendados por NRC (5) e água por toda a duração do experimento. As aves foram distribuídas aleatoriamente entre os grupos de tratamento e depois foram desafiadas com SH na concentração de 10^5 ufc/ave através de gavagem via oral (0,25 ml/ ave) e colocadas nas gaiolas (45 aves por gaiola). Os pintinhos receberam o tratamento de 0,25 ml de FM-B11 (aproximadamente 10^6 ufc/ave) via oral, uma hora depois do desafio, enquanto o grupo controle recebeu a solução tampão fosfato-salina (PBS) como veículo.

Vinte aves por grupo foram eutanasiadas pelo método humanitário de inalação de CO₂, 24 e 72 horas após tratamento e foi assepticamente coletado tonsilas cecais de cada ave, que foram enriquecidas em 10 ml de caldo tetrationato por 24 horas na temperatura de 37°C. Após enriquecimento cada amostra foi plaqueada para isolamento em ágar verde brilhante (AVB) contendo 25 µg/ml de NO e 20 µg/mL de NA. As placas foram incubadas em 37°C por 24 horas e posteriormente examinadas para presença ou ausência de SH resistente aos antibióticos. Os cecos também foram removidos, colocados em saquinhos estéreis e macerados com martelo de borracha. Três mililitros de solução salina estéril foram adicionados em cada amostra de conteúdo cecal, que foram homogeneizadas manualmente. Diluições foram realizadas e plaqueadas em AVB contendo 25 µg/mL de NO e 20 µg/mL de NA. As placas foram incubadas em 37°C por 24 horas para a contagem de unidades formadoras de colônia (ufc) para SH em cada par de cecos. A incidência de isolamento de SH nos experimentos foi comparada e testada para todas as possibilidades, utilizando o teste chi-quadrado de independência, para determinar diferenças significantes ($P < 0.05$) entre grupos. Os resultados das unidades formadoras de colônia nos cecos foram convertidos em números de log₁₀ e então comparados usando GLM, procedimento do programa estatístico SAS, com significância relatada em $P < 0.05$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na presente pesquisa, a incidência de SH em tonsilas cecais foi de uma ave positiva em um total de 19 aves avaliadas (5.2%) comparado com o grupo controle, onde 18 aves em 20 foram positivas

(90%) na coleta de 24 horas e em 72 horas após o tratamento os resultados foram de nenhuma ave positiva em 20 aves avaliadas (0%) comparado com o controle de 7 aves positivas em 20 aves (35%). Este resultado demonstra que a administração de BAL uma hora após o desafio com SH reduziu significativamente ($P < 0.001$) a incidência de *Salmonella* em tonsilas cecais de pintos de corte, conforme comparação com o controle não tratado, 24 e 72 horas após tratamento. Similarmente, o tratamento com BAL resultou em significantes reduções ($P < 0,05$) nas concentrações de SH nos cecos. Em 24 horas observamos a média de 3,02 Log_{10} de SH por gramas de conteúdo cecal e desvio padrão de 0,53 no grupo controle e a média de 0,27 Log_{10} de SH por gramas de conteúdo cecal e desvio padrão de 0,27 no grupo tratado com B11. No período de 72 horas obtivemos a média de 1,08 Log_{10} de SH por gramas de conteúdo cecal e desvio padrão de 0,57 no grupo controle e a média de zero Log_{10} de SH por gramas de conteúdo cecal e desvio padrão de zero no tratamento com B11. Interessantemente, o número positivo na contagem de SH nas tonsilas cecais no período de 24 horas foi apenas considerado devido a uma comparação com a mesma amostra positiva no enriquecimento cecal. Estes resultados sugerem que as reduções relacionadas ao probiótico não são apenas relacionadas com a redução da incidência de *Salmonella* em aves positivas, mas também na redução dos níveis de infecção entre as aves.

CONCLUSÃO

No estudo presente, o tratamento com bactérias ácido lácticas significativamente reduziu a quantidade de *Salmonella enterica* sorovar Heidelberg em frangos de corte de um dia. Futuras pesquisas serão conduzidas para determinar o exato mecanismo deste probiótico na redução de patógenos.

BIBLIOGRAFIAS

1. Bucher O, Holley RA, Ahmed R, Tabor H, Nadon C, Ng LK, et al. 2007. Occurrence and characterization of *Salmonella* from chicken nuggets, strips, and pelleted broiler feed. **J Food Prot**;70:2251–8.
2. Hennessy TW, Cheng LH, Kassenborg H, Ahuja SD, Mohle-Boetani J, Marcus R, et al. 2004. Egg consumption is the principal risk factor for sporadic *Salmonella* serotype Heidelberg infections: a case-control study in FoodNet sites. **Clin Infect Dis**;38:S237–43.
3. Higgins, J. P., S. E. Higgins, A. D. Wolfenden, S. N. Henderson, A. Torres-Rodriguez, J. L. Vicente, B. M. Hargis, and G. Tellez. 2010. Effect of lactic acid bacteria probiotic culture treatment timing on *Salmonella* Enteritidis in neonatal broilers. **Poult. Sci.** 89:243-247.
4. MacDougall L, Fyfe M, McIntyre L, Paccagnella A, Corder K, Kerr A, et al. 2004. Frozen chicken nuggets and strips: a newly identified risk factor for *Salmonella* Heidelberg infection in British Columbia, Canada. **J Food Prot**; 67:1111–5.
5. NRC - National Research Council, 1994. Nutrient Requirements of Poultry. 9th rev. ed. **National Academy Press**, Washington, DC.
6. Vicente, J., S. Higgins, L. Bilke, Tellez, G., D. Donoghue, A. Donoghue, and Billy M. Hargis. 2007. Effect of Probiotic Culture Candidates on *Salmonella* Prevalence in Commercial Turkey Houses. **Journal Applied of Poultry Research**: 16: 471-476.
7. Vicente J., A. Torres-Rodriguez, S. Higgins, C. Pixley, G. Tellez, A. M. Donoghue, and Billy M. Hargis. 2008. Effect of a selected *Lactobacillus* spp-based probiotic on *Salmonella* enteritidis-infected broiler chicks. **Avian Diseases**. 52 (1):143–146.