

Salmonella sp EM SUÍNOS ALIMENTADOS COM PROBIÓTICO E PROMOTORES DE CRESCIMENTO.

Aurélia Dornelas de Oliveira Martins

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sudeste de Minas Gerais. Campus Rio Pomba. Rio Pomba, MG.

Regina Célia Santos Mendonça

Universidade Federal de Viçosa. Campus Universitário. Viçosa, MG.

Mauro César Martins

Wellington Cristina Almeida do Nascimento Benevenuto ✉

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sudeste de Minas Gerais. Campus Rio Pomba. Rio Pomba, MG.

✉ wellingtona.benevenuto@ifsudestemg.edu.br

RESUMO

O presente estudo teve como objetivo acompanhar a incidência de *Salmonella* sp. em fezes e órgãos de suínos alimentados com dietas adicionadas de antibióticos e probióticos. Suínos sadios foram alimentados com ração basal acrescida de avilamicina (T0), ração basal em que 50% foi adicionada de probiótico (T50) e ração basal em que 100% foi adicionada de probiótico (T100). Ao final de 21, 35 e 63 dias, sete animais de cada tratamento foram abatidos e os órgãos coletados para a realização das análises. As amostras de fezes foram coletadas aos 21, 28, 35, 49 e 63 dias de idade. A contagem de *Salmonella* sp., nas fezes dos animais de 49 e 63 dias foi menor ($p < 0,05$) nos animais que se alimentaram da dieta T100. No baço, a contagem de *Salmonella* sp foi a mesma para os diferentes tratamentos. Com 63 dias de idade, todos os órgãos avaliados apresentaram menor contagem de *Salmonella* sp nos animais alimentados com T100, quando comparado com T0. Conclui-se que no presente estudo ocorreu redução da carga de

Salmonella sp excretada nas fezes e encontrada nos órgãos, o que provavelmente resultará em menor contaminação da carcaça e obtenção de um produto de melhor qualidade.

Palavras-chave: Carcaça. Qualidade. Dieta. Patógenos.

ABSTRACT

The aim of the present study was to monitor the incidence of Salmonella in feces and organs of pigs fed diets with addition of antibiotics and probiotics. Healthy pigs were fed a basal diet enriched with avilamycin (T0); a basal diet in which 50% received the addition of a probiotic (T50); and a basal diet in which 100% received the addition of a probiotic (T100). At the end of 21, 35, and 63 days of age, seven animals from each treatment were slaughtered and their organs were harvested for analyses. Feces samples were collected at 21, 28, 35, 49, and 63 days of age. The Salmonella sp. count in feces of animals aged 49 and 63 days was lower ($p < 0.05$) in the group fed diet T100. In the spleen, the Salmonella sp.

count was the same for the different treatments. At 63 days of age, all the evaluated organs displayed a lower Salmonella sp. count in animals receiving T100 as compared with T0. In conclusion, in the present study, the Salmonella sp load excreted in the feces and found in the organs was reduced, which will probably result in lower contamination of the carcass and the generation of a product of better quality.

Keywords: Carcass. Quality. Diet. Pathogen.

INTRODUÇÃO

Salmonella sp tem sido reconhecida como uma das bactérias patogênicas de origem alimentar de maior importância para humanos e animais ao longo de mais de um século. Além da veiculação de doenças de origem alimentar, este micro-organismo acarreta altos custos médicos e econômicos (LEE et al., 2015).

O habitat primário da *Salmonella* sp. é o trato intestinal de animais como pássaros, répteis, animais de granja, homem e ocasionalmente

insetos. Embora seu *habitat* primário seja o trato intestinal, *Salmonella* sp. pode ser encontrada em outras partes do corpo, por ser um micro-organismo capaz de invadir a parede intestinal, disseminando-se pela corrente sanguínea (JAY, 2005; FORSYTHE, 2013). Biesus et al. (2010), após inocularem *Salmonella typhimurium* em suínos por via oral, encontram a bactéria em diferentes órgãos, como fígado, baço, conteúdo cecal, pulmão, tonsilas e linfonodos mesentéricos, sendo um risco potencial de carrear o micro-organismo durante o abate e processamento de produtos de origem suína.

Com relação à sintomatologia no homem, os agentes causadores de salmoneloses podem ser divididos em dois grupos: *S. typhi* e *S. paratyphi*, que produzem quadros clínicos mais severos, febres entéricas (febres tifóide e paratifóide), afetando em maior grau o homem e outros primatas. As demais salmoneloses refletem quadros de gastroenterites menos severos, cuja sintomatologia mais frequente é febre, dores de cabeça, dores nos membros, diarreia mucosa (às vezes sanguinolenta), dores abdominais, náuseas e vômitos (BARROS et al., 2002). Os sintomas surgem em torno de 12 a 14 horas após a ingestão dos alimentos, embora períodos mais curtos e longos já tenham sido relatados (JAY, 2005).

Os surtos de infecção alimentar por *Salmonella* sp. envolvem os mais variados tipos de alimentos, principalmente os de origem animal. De acordo com dados do Ministério da Saúde, *Salmonella* sp. foi o micro-organismo mais envolvido em surtos de doença de origem alimentar entre os anos de 2000-2014 (SINAN Net/SVS/MS, 2014).

Em Porto Alegre, entre os anos de 2005-2009, o principal agente etiológico envolvido em doenças de origem alimentar foi *Salmonella* sp. (41,2%) e grande parte dos alimentos

incriminados correspondeu a produtos cárneos (37,9%) (SILVA et al., 2014).

Embora a incidência de doenças ocasionadas por *Salmonella* sp. seja elevada, os dados podem estar subestimados. De acordo com Lee et al. (2015), incidências muito mais elevadas relacionadas com *Salmonella* sp. podem ocorrer em alguns países em desenvolvimento, onde os dados relevantes não estão prontamente disponíveis.

Estimativas mostram que o número de casos de salmonelose tende a aumentar e a inspeção de alimentos para a presença de *Salmonella* sp. está se tornando uma rotina em todo o mundo (D'OSTUNI et al., 2016).

Bactérias patogênicas em carnes podem ser perigosas para o consumidor se a carne não for completamente cozida ou se ocorrer contaminação cruzada dos produtos crus para produtos cozidos. *Salmonella* sp. é um contaminante comum em carne de porco crua (ESCARTÍN et al., 2000).

A frequente ocorrência de *Salmonella* sp. em populações de animais susceptíveis deve-se, em parte, à contaminação de animais livres de *Salmonella* sp. por animais que portam este micro-organismo ou que são infectados por ele (JAY, 2005). Suínos podem estar contaminados com *Salmonella* sp. sem apresentarem sintomas da doença, dificultando sua identificação pelos granjeiros.

Entre as intervenções possíveis para a redução da incidência deste micro-organismo em suínos, o fornecimento, via ração, de aditivos que permitam a diminuição do número de suínos infectados ou que excretem *Salmonella* sp. nas fezes, tem se mostrado eficaz (NOGUEIRA et al., 2012).

Os antibióticos promotores de crescimento (APCs) são aditivos utilizados em rações e seu uso na dieta de animais de produção trouxe melhorias de ganho de peso e eficiência

alimentar, bem como queda nas taxas de mortalidade. A avilamicina destaca-se como um dos antibióticos mais empregados na nutrição animal, tendo sua utilização permitida pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (ALARCON, 2015).

De acordo com Névoa et al. (2013), há uma preocupação pública da utilização de promotores de crescimento antimicrobianos, imputando-se problemas de saúde relacionados com a disseminação de doenças bacterianas resistentes à terapia antibiótica e reações de hipersensibilidade em humanos. Essa situação demonstra a necessidade de um controle rígido da liberação para produção e uso dessas substâncias, exigindo um esforço técnico e ético da massa crítica envolvida, impedindo o seu uso incorreto, quer intencional ou por mero desconhecimento.

Probióticos e mais recentemente óleos essenciais (OEs) têm sido considerados aditivos potencialmente alternativos aos APCs, no entanto a ação destas substâncias na mucosa intestinal e na microbiota não é completamente esclarecida (ALARCON, 2015).

De acordo com Gaggia, Mattarelli e Biavati (2010), os surtos de doenças de origem alimentar demonstram a necessidade de redução de patógenos bacterianos em alimentos de origem animal. Patógenos entéricos em animais são uma fonte direta de contaminação dos alimentos, aumentando a necessidade de encontrar métodos alternativos para controlar e prevenir a colonização de bactérias patogênicas. A modulação da microbiota intestinal com probióticos é um tema que tem produzido resultados fascinantes.

Diante do exposto, o presente estudo teve como objetivo acompanhar a incidência de salmonela em fezes e órgãos de suínos alimentados com dietas adicionadas de antibióticos e probiótico.

MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi desenvolvido nos departamentos de Suinocultura e Tecnologia de Alimentos (DTA) da Universidade Federal de Viçosa.

Foram utilizados três tratamentos:

- Tratamento 1 (T0) - Ração basal (com o antibiótico avilamicina 100 g/ton.)
- Tratamento 2 (T50) - Ração basal em que 50 % da ração foi adicionada de probiótico.
- Tratamento 3 (T100) - Ração basal em que 100 % da ração foi adicionada de probiótico.

O pool de micro-organismos probióticos utilizados pertence ao banco de culturas do Departamento de Tecnologia de Alimentos da UFV (DTA-PRO).

Cada três animais, portadores naturais de *Salmonella* sp., foram alojados em uma gaiola separada por divisória de grade de ferro para evitar o contato com os outros leitões. Cada tratamento constou de três animais, com sete repetições cada, totalizando 63 animais.

Ao final das fases pré-inicial (35 dias) e inicial II (63 dias), além dos animais controle (21 dias), um animal de cada bloco dos três tratamentos foi abatido e as análises microbiológicas realizadas. O abate foi realizado em local apropriado de forma a garantir a segurança higienicossanitária

da carne e seguindo-se as normas do abate humanitário. Em seguida os animais foram conduzidos para a área limpa, onde ocorreu a evisceração, com os suínos pendurados pelas patas traseiras. Imediatamente após o abate dos animais, o baço, os rins e o fígado foram removidos, com objetivo de se avaliar a passagem de micro-organismos pelos órgãos nos diferentes tratamentos.

As amostras foram coletadas em sacos plásticos e transportadas até o laboratório de Microbiologia de Alimentos e Higiene Industrial do DTA em caixas de isopor com gelo reciclável.

Além dos órgãos, avaliaram-se amostras de fezes dos animais, as quais foram coletadas aos 21, 28, 35, 49 e 63 dias de idade, em quatro gaiolas aleatórias de cada tratamento.

Para a realização da análise microbiológica, os utensílios como pinça e tesoura foram embalados em papel alumínio e esterilizados a 121°C por 15 minutos em autoclave. O manipulador utilizou luvas cirúrgicas descartáveis esterilizadas.

Pesou-se 1g de cada amostra de fezes e adicionou-se 99 mL de água peptonada 0,1% (p/v) (Biobrás) e homogeneizou-se a mistura em *stomacher* (Marconi MA 440) durante 10 minutos. Para análise dos órgãos (baço, fígado e rins), foram pesados, assepticamente, 25 gramas da amostra e adicionados 225 mL de água

peptonada 0,1% sendo homogeneizada em *stomacher* durante 10 minutos. Após homogeneização, diluições decimais foram realizadas de cada amostra para a contagem de *Salmonella* sp. de acordo com Silva et al. (2007).

A análise de *Salmonella* sp. foi realizada pelo método do NMP, em tubos contendo Rappaport (Merck), com tubos de Durhan invertido. As amostras que apresentaram crescimento e formação de gás foram estriadas em agar Rambach (Merck) para a confirmação do micro-organismo em questão.

Nas análises estatísticas, o delineamento experimental foi disposto em blocos casualizados conduzidos em parcelas subdivididas, sendo tratamento na parcela e idade de abate na subparcela. Os dados da análise microbiológica foram interpretados por análise de variância, ao nível de 5% de probabilidade, utilizando-se o programa computacional SAEG (Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas), desenvolvido pela Universidade Federal de Viçosa - UFV (1997).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores médios da redução decimal de salmonela presente nas fezes e órgãos de suínos alimentados com ração adicionada de probióticos em diferentes fases de idade

Tabela 1 - Valores médios da redução decimal de *Salmonella* sp nas fezes de suínos alimentados com ração adicionada de probióticos em diferentes fases de idade.

Tratamentos	<i>Salmonella</i> sp.			
	Idade (dias)			
	28	35	49	63
T0	-0,488± 0,65 ^a	-0,490± 0,69 ^a	-0,563± 0,89 ^a	-0,589± 0,89 ^a
T50	-0,458± 0,79 ^a	-0,473± 0,55 ^a	-0,534± 0,79 ^a	-0,493± 0,80 ^a
T100	-0,287± 0,74 ^a	-0,607± 0,68 ^a	-0,193± 1,02 ^b	-0,231± 0,77 ^b
Dms	0,266			

Médias seguidas de pelo menos uma mesma letra na coluna não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

dms: diferença mínima significativa.

Tabela 2 - Valores médios da redução decimal de *Salmonella* sp. nos órgãos de suínos alimentados com ração adicionada de probióticos aos 35 e 63 dias de idade.

Tratamentos	35 dias		
	Baço	Fígado	Rins
T0	-1,593± 0,26 ^a	-1,980± 0,90 ^a	-1,121±0,65 ^a
T50	-1,326± 0,28 ^a	-1,672± 0,56 ^{ab}	-1,553± 0,21 ^b
T100	-1,203± 0,41 ^a	-1,221± 0,34 ^b	-1,470± 0,56 ^b
Tratamentos	63 dias		
	Baço	Fígado	Rins
T0	-1,577± 0,34 ^a	-1,467± 0,52 ^a	-1,647± 0,66 ^a
T50	-1,586± 0,43 ^a	-1,341± 0,75 ^a	-0,850± 0,77 ^b
T100	-0,646± 0,50 ^b	-0,885± 0,26 ^b	-0,362± 0,43 ^c
Dms	0,83	0,39	0,18

Médias seguidas de, pelo menos uma mesma letra, na coluna, não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

dms: diferença mínima significativa dos órgãos

encontram-se nas Tabelas 1 e 2.

A contagem de *Salmonella* sp., nas fezes dos animais de 49 e 63 dias foi menor ($p < 0,05$) nos animais alimentados com a dieta T100. Sua redução decimal nas fezes foi de 0,37 e 0,36 nos animais de 49 e 63 dias de idade, respectivamente, quando comparado com T0. Resultado inferior ao encontrado por Tsai et al. (2005), que fazendo testes *in vitro* observaram que o probiótico utilizado reduzia entre 3 e 1,5 ciclos log da *Salmonella* sp. aderida no intestino.

Por outro lado, em estudo realizado por Nogueira et al. (2012), os micro-organismos probióticos testados não foram capazes de impedir a infecção ou diminuir a excreção fecal de *Salmonella* sp. em suínos de crescimento infectados experimentalmente.

No baço, a contagem de *Salmonella* sp foi a mesma para os diferentes tratamentos. Os animais alimentados com a dieta T100 tiveram uma RD de 0,34 e 0,85 com 35 e 63 dias de idade, respectivamente. Com 63 dias de idade, todos os órgãos avaliados apresentaram menor contagem de *Salmonella* sp nos animais alimentados com T100, quando comparado com T0.

Em estudo realizado por

Thirabunyanon e Thongwittaya (2012), foi verificado efeito antagonista de nova cepa probiótica de *Bacillus subtilis* contra *Salmonella enteritidis* e outros patógenos em aves. Segundo o autor, a cepa com potencial probiótico exibiu uma forte inibição contra a infecção por *S. Enteritidis* nas células epiteliais intestinais, podendo contribuir para a redução da incidência de micro-organismos em produtos de origem animal, reduzindo a incidência de doenças de origem alimentar em humanos.

Uma série de efeitos benéficos tem sido atribuídos aos probióticos, sobretudo a capacidade de adesão à superfície de mucosas e às células epiteliais, prevenindo a instalação de micro-organismos potencialmente patógenos (MAKINO et al., 2014). Os probióticos são competitivos e dessa forma promovem a exclusão de potenciais patógenos, e promovem saúde através de múltiplos mecanismos como: fagocitose, inibição do crescimento bacteriano, modulação local da resposta imune e competição por sítios de ligação (REID, 2005). Além disso, os micro-organismos probióticos produzem metabólitos extracelulares como os ácidos orgânicos, peróxido de carbono, peróxido de hidrogênio,

bacteriocinas e substâncias antimicrobianas de baixo peso molecular capazes de inibir o desenvolvimento de micro-organismos potencialmente patogênicos (GUARNER; MALA-GELADA, 2003).

Segundo Afonso et al. (2013), a tendência mundial de diminuição ou até mesmo de substituição total de promotores de crescimento na alimentação animal traz grande importância para as investigações que tratam do emprego dos probióticos como substituto destes quimioterápicos.

CONCLUSÃO

Conclui-se que a utilização de probiótico na alimentação de suínos promoveu uma redução da carga de *Salmonella* sp. excretada nas fezes e encontrada nos órgãos, o que provavelmente resultará em menor contaminação da carcaça e obtenção de um produto de melhor qualidade, demonstrando ser uma alternativa promissora para a substituição de promotores de crescimento em rações.

Agradecimentos

Ao suporte financeiro oferecido pela Capes por meio de bolsa para a primeira autora e à Universidade

Federal de Viçosa pela oportunidade oferecida e suporte para o desenvolvimento deste projeto.

REFERÊNCIAS

- AFONSO, ER; UTEMBERGUE, BL; GAMEIRO; AH; MORETTI, AS. Benefícios e limitações do uso de probióticos na nutrição de leitões: revisão e análise crítica. **Rev Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP**, v.11, n.2, p.48-53, 2013.
- ALARCON, MFF. “Uso de probiótico e óleos essenciais na ração sobre a microbiota intestinal, atividade de enzimas digestivas e a expressão de genes relacionados aos processos de digestão e absorção de nutrientes em frangos. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Câmpus de Jaboticabal, 2015.
- BARROS, VRM; PAVIA, PC; PANETTA, JC. *Salmonella* spp: sua transmissão através dos alimentos. **Rev Hig Alimentar**, São Paulo, v.16, n.94, p.15-19, 2002.
- D’OSTUNI, V; TRISTEZZA, M; DE GIORGI, MG; RAMPINO, P; GRIECO, F; PERROTTA, C. Occurrence of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* spp. In meat processed products from industrial plants in Southern Italy. **Food Control**, v.62, p.104-109, 2016.
- ESCARTÍN, EF; LOZANO, JS; GARCÍA, OR. Quantitative survival of native *Salmonella* serovars during storage of frozen raw pork, **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.54, p.19-25, 2000.
- GAGGIÀ, F; MATTARELLI, P; BIAVATI, B. Review Probiotics and prebiotics in animal feeding for safe food production. **International Journal of Food Microbiology**, v.141, p S15-S28, 2010.
- GUARNER, F; MALAGELADA, JR. Gut flora in health and disease. **Lancet**, v.361, p.512-519, 2003.
- JAY, JM. **Microbiologia de alimentos**, Sexta edição, Editora ArtMed, 2005, 711p.
- LEE, KM; RUNYON, M; HERRMAN, TJ; PHILLIPS, R; HSIEH, J. Review of *Salmonella* detection and identification methods: Aspects of rapid emergency response and food safety. **Food Control**, v.47, p.264-276, 2015.
- MAKINO, LES; PERALTA, FS; SCHERMA, AP; SILVA, CRG; LEÃO, MVP; SANTOS, SSF. Avaliação in vitro da influência de *Lactobacillus casei* na aderência de *Enterobacter cloacae* em células epiteliais da mucosa jugal. **Brazilian Journal of Periodontology**, v.24, n. 4, p. 15-21, 2014.
- NÉVOA, ML; CARAMORI JR, JG; VIEITES, FM; NUNES, RV; VARGAS JUNIOR, KAMIMURA, R. Antimicrobianos e prebióticos nas dietas de animais não ruminantes. **Scientia Agraria Paranaensis**, v.12, n.2, p.85-95, 2013
- NOGUEIRA, MG; CALVEYRA, JC; KICH, JD; COLDEBELLA, A; MORES, N; CARDOSO, MRI; Efeito de probiótico na infecção e excreção fecal de *Salmonella* em suínos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.42, n.3, p 514-519, 2012.
- REID, G. The importance of guidelines in the development and application of probiotics. **Current Pharmaceutical Design**, v.11, n.1, p.11-16, 2005.
- SILVA, N; JUNQUEIRA, VCA; SILVEIRA, NFA; TANIWAKI, MH; SANTOS, RFS; GOMES, RAR. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. Editora Varela: São Paulo, 2007. 536p.
- SILVA, SSO; SCHILD, CH; NOVA, PACC; PINTO, AT. Surtos de toxinfecções alimentares confirmados no município de Porto Alegre, entre 2002-2009. **Rev Hig Alimentar**, São Paulo, v.28, n.238/239, p.31-36, 2014.
- SinanNet/SVS/MSD Disponível http://www.anrbrasil.org.br/new/pdfs/2014/3_painel_1_ApresentacaoRejianeAlvesVigilenaciaEpidemiologica-VE-DTA-Agosto_2014_PDF.pdf. Acessado em março 2016.
- THIRABUNYANON, M; THONGWITTAYA, N. Protection activity of a novel probiotic strain of *Bacillus subtilis* against *Salmonella* Enteritidis infection. **Research in Veterinary Science**, v.93, p.74-81, 2012.
- UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA. **S.A.E.G. Sistema de Análise Estatísticas e Genéticas – SAEG**. Viçosa: 1997. (Versão 7.1.).
- FORSYTHE, SJ. **Microbiologia da Segurança dos Alimentos**. 2ª Edição. Porto Alegre, Artmed, 2013, 607p.
- BIESUS, LL; GUGEL, LA; CALVEYRA, JC; NOGUEIRA, M; KICH, JD; BESSA, MC. **Distribuição de *Salmonella typhimurium* em órgãos de suínos após inoculação oral**. In: JINC-4 Jornada de Iniciação Científica Embrapa/Unc, 2010, Concórdia. Disponível em: <https://www.embrapa.br/suinos-e-aves/busca-de-publicacoes/-/publicacao/870031/distribuicao-de-salmonella-typhimurium-em-orgaos-de-suinos-apos-inoculacao-oral>. Acesso em 04 de out 2016.