

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
ESCOLA DE VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

**EFEITOS DO ALHO (*Allium sativum*) *in natura* SOBRE *Salmonella* INFANTIS
EXPERIMENTALMENTE INOCULADA EM FRANGO DE CORTE**

Bárbara de Paiva Mota
Orientadora: Prof^a. Dr^a. Maria Auxiliadora Andrade

GOIÂNIA
2015



TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR AS TESES E DISSERTAÇÕES ELETRÔNICAS NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), regulamentada pela Resolução CEPEC nº 832/2007, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei nº 9610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou *download*, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

1 **1. Identificação do material bibliográfico:** ☒ Dissertação ☐ Tese

1 **2. Identificação da Tese ou Dissertação**

2

Nome completo do autor: Bárbara de Paiva Mota

Título do trabalho: Efeitos do alho (*Allium sativum*) *in natura* sobre *Salmonella* Infantis experimentalmente inoculada em frango de corte.

3. Informações de acesso ao documento:

Concorda com a liberação total do documento ☒ SIM ☐ NÃO¹

Havendo concordância com a disponibilização eletrônica, torna-se imprescindível o envio do(s) arquivo(s) em formato digital PDF da tese ou dissertação.

Bárbara de P. Mota

Data: 18 / 01 / 2017

Assinatura do (a) autor (a) ²

¹ Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. A extensão deste prazo suscita justificativa junto a coordenação do curso. Os dados do documento não serão disponibilizados durante o período de embargo.

² A assinatura deve ser escaneada.

BÁRBARA DE PAIVA MOTA

**EFEITOS DO ALHO (*Allium sativum*) *in natura* SOBRE *Salmonella* INFANTIS
EXPERIMENTALMENTE INOCULADA EM FRANGO DE CORTE**

Dissertação apresentada para obtenção do grau de Mestre
em Ciência Animal junto à Escola de Veterinária e
Zootecnia da Universidade Federal de Goiás

Área de Concentração:

Sanidade Animal, Higiene e Tecnologia de Alimentos

Linha de Pesquisa:

Etiopatogenia, epidemiologia, diagnóstico e controle das
doenças infecciosas e parasitárias dos animais

Orientador:

Prof^a. Dr^a. Maria Auxiliadora Andrade – UFG

Comitê de Orientação:

Prof^a. Dr^a. Nadja Susana Mogyca Leandro – UFG

Prof. Dr. Marcos Barcellos Café – UFG

GOIÂNIA

2015

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do
Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UFG.

Mota, Bárbara de Paiva

EFEITOS DO ALHO (*Allium sativum*) in natura SOBRE *Salmonella*
INFANTIS EXPERIMENTALMENTE INOCULADA EM FRANGO DE
CORTE [manuscrito] / Bárbara de Paiva Mota. - 2015.
xii, 63 f.

Orientador: Profa. Dra. Maria Auxiliadora Andrade; co-orientadora
Dra. Nadja Susana Mogyca Leandro; co-orientador Dr. Marcos
Barcellos Café.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Goiás, Escola
de Veterinária e Zootecnia (EVZ), Programa de Pós-Graduação em
Ciência Animal, Goiânia, 2015.

Bibliografia. Anexos.

Inclui tabelas.

1. Aves. 2. Desempenho. 3. Fitoterápicos. 4. Parâmetros
sanguíneos. 5. Salmoneloses. I. Andrade, Maria Auxiliadora, orient. II.
Título.

CDU 639.09

ESCOLA DE VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
COORDENAÇÃO DO CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL



1 ATA NÚMERO 424 DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO DO
2 PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL DA ESCOLA DE
3 VETERINÁRIA E ZOOTECNIA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS. Às
4 14h00min do dia 15/07/2015, reuniu-se na sala de defesas do Programa de Pós-
5 Graduação em Ciência Animal a Comissão Julgadora infra nomeada para proceder ao
6 julgamento da Defesa de Dissertação de Mestrado apresentado (a) pelo (a) Pós-
7 Graduando (a) **Bárbara de Paiva Mota**, intitulada "**Efeitos do alho (*Allium sativum*)**
8 **in natura sobre *Salmonella Infantis* experimentalmente inoculada em frango de**
9 **corte**", apresentada para obtenção do Título de Mestre em Ciência Animal, junto à
10 Área: **Sanidade Animal, Higiene e Tecnologia de Alimentos** desta Universidade. O
11 Presidente da Comissão Julgadora, **Prof. Dr. Maria Auxiliadora Andrade**, iniciando
12 os trabalhos, concedeu, a palavra ao (a) candidato (a) **Bárbara de Paiva Mota** para
13 exposição em **quarenta** minutos do seu trabalho. A seguir, o senhor Presidente
14 concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente, aos Examinadores, os quais
15 passaram a arguir o (a) candidato (a), durante o prazo máximo de **vinte** minutos,
16 assegurando-se ao mesmo igual prazo para responder aos Senhores Examinadores.
17 Ultimada a arguição, que se desenvolveu nos termos regimentais, a Comissão, em
18 sessão secreta, expressou seu Julgamento, considerando o (a) candidato (a)
19 **Aprovado (a) ou Reprovado (a):**

BANCA EXAMINADORA

APROVADO(A)/REPROVADO(A)

Prof. Dr. Maria Auxiliadora Andrade (Orientador)

Aprovada

Dra. Hilari Wanderley Hidase – Zoológico de Guarulhos

Aprovada

Prof. Dr. José Henrique Stringhini

APROVADA

17 Em face do resultado obtido, a Comissão Julgadora considerou o(a) candidato(a)
18 **Bárbara de Paiva Mota**, *habilitada*. (Habilitado (a) ou não
19 **Habilitado (a)**). Nada mais havendo a tratar, eu **Prof. Dr. Maria Auxiliadora Andrade**
20 lavrei a presente ata que, após lida e achada conforme foi por todos assinada.

BANCA EXAMINADORA

ASSINATURA

Prof. Dr. Maria Auxiliadora Andrade

M. Andrade

Dra. Hilari Wanderley Hidase – Zoológico de Guarulhos

Hilari W. Hidase

Prof. Dr. José Henrique Stringhini

J. Stringhini

A Banca Examinadora aprovou a seguinte alteração no título da dissertação:

Dedico,
Aos meus pais, Waldemar e Aldecília,
por todo apoio, carinho, compreensão e paciência
em todos os desafios e momentos da minha vida.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por mais esta conquista, por me dar saúde, força, inteligência e disposição durante toda minha vida.

Aos meus pais por toda compreensão, paciência, apoio e amor incondicional. Sem vocês eu não chegaria até aqui.

As minhas tias Áurea e Míria, que sempre me incentivaram e torceram para que eu chegasse até aqui.

A minha orientadora Prof. Dr. Maria Auxiliadora Andrade, agradeço pela oportunidade, confiança, aprendizado, amizade, paciência e tempo dispensados a mim.

Aos professores da Escola de Veterinária e Zootecnia, em especial a José Henrique Stringhini e Marcos Barcellos Café, os quais me acompanharam desde a graduação e sempre me apoiaram quando foi preciso, a eles tenho profundo respeito e admiração.

A todos os colegas da Pós-Graduação e do Laboratório de Bacteriologia que foram de fundamental importância para a realização deste trabalho, agradeço os momentos de risada, o auxílio e o empenho à Samantha, Ana Maria, Aleane, Raiana, Denise, Dunya e Thiago. Agradeço especialmente a Gisele, que foi meu braço direito antes, durante e após o experimento, e ao Jardel que mesmo sem tempo, sempre esteve disposto em ajudar. Espero um dia poder retribuir tamanha dedicação e amizade!

A todos os colaboradores da UFG cuja participação foi fundamental para a conclusão deste trabalho, especialmente ao Sr. Germano (fábrica de rações), Bruno, Helton, Maria Auxiliadora Leão (Dorinha), Cícera e Nazaré.

A minha melhor amiga e irmã de coração, minha prima Maria Paula, que mesmo longe sempre se preocupou, incentivou e torceu por mim, assim como compreendeu minha ausência por diversas vezes, sua amizade sempre será fundamental em minha vida.

As minhas amigas Carolina e Maria Izabel, que desde a graduação estão sempre me apoiando e incentivando. E ao André Carneiro, que sempre me ouviu e me ajudou nos momentos mais difíceis.

As minhas companheiras de quatro patas, Dara e Leona, que após um dia exaustivo de experimento, me recebiam em casa com festa, alegria e com o melhor e mais verdadeiro amor que poderia receber, aliviando cansaço, tristeza e solidão apenas com suas presenças e olhares. Descansem em paz, meus anjos!

À empresa Super Frango, especialmente a Roberto Moraes Jardim Filho e Maira Silva Matos por toda a ajuda indispensável para o início e condução do experimento.

À Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás, ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal e a Capes pela oportunidade concedida.

SUMÁRIO

RESUMO.....	xi
ABSTRACT.....	xii
CAPÍTULO 1- CONSIDERAÇÕES GERAIS	1
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	3
2.1 Aditivos fitogênicos.....	3
2.1.1 Alho (<i>Allium sativum</i>)	4
2.2 <i>Salmonella</i> sp.....	5
2.3 Hematologia e bioquímica sanguínea.....	6
3. Objetivos.....	10
3.1 Objetivo geral	10
3.2 Objetivos específicos.....	10
REFERENCIAS	11
CAPITULO 2 – EFEITOS DO <i>Allium sativum</i> NO DESEMPENHO, RENDIMENTO DE CARÇA E EXCREÇÃO FECAL DE <i>Salmonella</i> INFANTIS EM FRANGOS DE CORTE INOCULADOS	17
INTRODUÇÃO.....	19
MATERIAL E MÉTODOS.....	21
Delineamento experimental.....	21
Preparação do inóculo	22
Inoculação das aves	22
Programa alimentar.....	22
Desempenho	24
Exame biométrico dos órgãos.....	24
Enumeração das ufc's de <i>E. coli</i> e <i>Salmonella</i>	24
Análises estatísticas	25
RESULTADOS E DISCUSSÃO	26
CONCLUSÃO.....	34
REFERENCIAS	35
CAPITULO 3- EFEITOS DO ALHO (<i>Allium sativum</i>) <i>in natura</i> SOBRE OS PARAMETROS SANGUINEOS DE FRANGOS DE CORTE EXPERIMENTALMENTE INOCULADOS COM <i>Salmonella</i> INFANTIS.....	39

INTRODUÇÃO.....	41
MATERIAL E MÉTODOS.....	43
Delineamento experimental.....	43
Preparação do inóculo	44
Inoculação das aves	44
Exame biométrico do baço	46
Parâmetros sanguíneos	46
Análises estatísticas	47
RESULTADOS E DISCUSSÃO	48
CONCLUSÃO.....	56
REFERENCIAS	57
CAPITULO 4- CONSIDERAÇÕES FINAIS	62

RESUMO

O presente estudo teve como objetivo avaliar os efeitos de diferentes doses do alho *in natura* no controle de *Salmonella* Infantis e suas consequências sobre o desempenho, excreção de *Salmonella* e parâmetros sanguíneos em frangos de corte experimentalmente inoculados. Foram utilizados 256 pintos machos de um dia de idade, distribuídos em delineamento inteiramente ao acaso com oito tratamentos, quatro repetições e oito aves por unidade experimental. As aves foram inoculadas via oral ao primeiro dia de idade com 0,5 mL de solução salina tamponada, contendo aproximadamente $5,0 \times 10^3$ UFC/mL de *Salmonella* Infantis. O tratamento 1 (T1) consistiu o grupo controle (Placebo); T2- recebeu o alho na dose de 1,5% na ração; T3- recebeu o alho na dose de 3,0% ; T4 – recebeu o alho na dose de 4,5%; T5- grupo inoculado via oral (Controle positivo *Salmonella* Infantis.); T6- inoculado via oral tratado com 1,5%; T7 – inoculado via oral tratado com 3,0%; T8 – inoculado via oral tratado com 4,5%. O desempenho foi avaliado aos sete, 21 e 35 dias. Aos oito, 15 e 29 dias quatro aves por tratamento foram submetidas a um jejum de seis horas, pesadas, eutanasiadas, necropsiadas e órgãos foram coletados para determinação do peso e para pesquisa de *Salmonella*. Foram coletados suabes de cloaca aos três, 13 e 28 dias de idade e amostras de sangue aos 14 e 36 dias de idade, após jejum de oito horas, para a avaliação dos parâmetros sanguíneos. Aos sete e 21 dias o ganho de peso e peso final foram menores nas aves que receberam 4,5% de alho, e não houve diferença significativa no período de 1-35 dias. O peso do intestino e do fígado aos 29 dias foi maior nas aves inoculadas e tratadas com 3,0% de alho. O peso do baço foi maior nas aves inoculadas aos 29 dias. Observou-se que o alho nas doses utilizadas não inibiu a invasão de *Salmonella* no baço e também não reduziu a população intestinal de *E. coli*, mas reduziu a de *Salmonella*. Observou-se que o alho influenciou os níveis de colesterol. Conclui-se que o alho *in natura* nas doses utilizadas não altera o desempenho, assim como não inibi a migração de *Salmonella* para o baço, mas influencia nos níveis séricos de colesterol e reduz a excreção fecal de *Salmonella*.

Palavras- chave: aves, desempenho, fitoterápicos, parâmetros sanguíneos, salmoneloses

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the effects of different doses of *in natura* garlic on the control of *Salmonella* Infantis and their consequence on performance, fecal excretion of *Salmonella* and blood parameters in experimentally inoculated broiler chickens. In this experiment we used 256 one-day-old male chicks, distributed in a completely randomized design with eight treatments, four replications with four replicates of eight birds each. The birds were orally inoculated at one-day-old with 0.5 ml of buffered saline, containing approximately 5.0×10^3 CFU / ml of *Salmonella* Infantis. Treatment 1 (T1) was the control group (Placebo); T2 - received garlic at a dose of 1.5%; T3 - received garlic at a dose of 3.0%; T4 - received garlic at a dose of 4.5%; T5 – was orally inoculated (Positive Control SI); T6 – was orally inoculated and treated with 1.5%; T7 – was orally inoculated and treated with 3.0%; T8 – was orally inoculated and treated with 4.5%. The performance was measured at seven, 21 and 35 days. At the days eight, 15 and 29 four birds for treatment were submitted to six hour fasting, and then they were weighed, euthanized, necropsied, and the organs were collected for weight determination and detection of *Salmonella*. Cloacal swabs were collected at three, 13, and 28 days and blood samples were collected at 14 and 36 days of age, after fasting for eight hours to evaluate blood parameters. At seven and 21 days, weight gain and final weight were lower in birds fed 4.5% of garlic, and there was no significant difference in the period of 1-35 days. The weight of the intestine and liver at 29 days was higher in birds inoculated and treated with 3.0% of garlic. Spleen weight was higher in birds inoculated at 29 days. Garlic did not inhibit *Salmonella* invasion in the spleen at the doses used. We found garlic did not reduce the intestinal *E. coli* population, but it reduced *Salmonella*. We observed garlic influenced cholesterol levels. In conclusion, fresh garlic *in natura* at the doses used does not alter the performance, as well as it does not inhibit the migration of *Salmonella* to the spleen; however, it influences serum cholesterol levels and reduces *Salmonella* fecal excretion of.

Keywords: birds, blood parameters, performance, phytoterapic, salmonellosis

CAPÍTULO 1- CONSIDERAÇÕES GERAIS

1. INTRODUÇÃO

Os avanços alcançados pela avicultura brasileira, aliados às relativas quedas dos custos e melhoria na qualidade dos produtos, fez com que o Brasil se destacasse no mercado internacional e se tornasse atualmente o terceiro maior produtor mundial de frangos de corte, e o maior exportador do produto¹.

A grande demanda de alimentos a fim de atender às necessidades da população mundial, juntamente com a busca pela máxima eficiência alimentar na avicultura, é um ponto crítico a ser considerado nas criações comerciais^{2,3}. Um dos recursos utilizados para atingir altos índices de produção de frango de corte por meio de controle de patógenos é a utilização de antibióticos na ração, que promovem melhora nos índices zootécnicos e na produção². Todavia, o uso de antibióticos pode acarretar problemas potenciais à saúde do homem, como toxicidade, alergia e desenvolvimento de resistência bacteriana, trazendo preocupações relacionadas à saúde pública⁴.

Preocupados com o uso de antibióticos e com desenvolvimento de bactérias resistentes, os consumidores aumentaram as suas exigências perante os produtos de origem animal e importantes blocos econômicos, principalmente a União Europeia, que passaram a banir o uso dos antimicrobianos na alimentação dos animais. De acordo com Ribeiro et al.⁵ essa preocupação tem fundamento, pois verificaram que ao utilizar 79 amostras de *Salmonella* Enteritidis isoladas de espécimes clínicas e amostras ambientais de frangos de corte e matrizes pesadas, 81% foram resistentes a pelo menos um dos agentes antimicrobianos testados e o maior percentual de resistência (64,5%) observado foi para tetraciclina. Em outro estudo realizado por Sridevi Dhanarani et al.⁶ verificou-se que de 120 cepas de bactérias isoladas em cama de frango, pelo menos um desses grupos apresentava resistência a um dos oito antimicrobianos testados, e o maior percentual de resistência (75%) observado foi para a estreptomicina.

Devido à preocupação com todas essas questões, aditivos fitogênicos vêm ganhando destaque nos últimos anos como potenciais produtos alternativos a serem utilizados nas rações. Os aditivos fitogênicos, de acordo com Sartori et al.⁷, são utilizados na nutrição animal e consistem em produtos compostos por óleos essenciais, extratos vegetais e *in natura* que são utilizados nas rações com o objetivo de melhorar o desempenho animal e substituir os antimicrobianos como melhoradores de desempenho. Porém, o uso de extratos vegetais como melhoradores de desempenho em animais ainda é um assunto recente, com o número de

pesquisas aumentando gradativamente devido a diversos fatores, como a resistência bacteriana a alguns antibióticos e, ainda, a demanda ao tratamento alternativo para algumas enfermidades⁸.

Dentro do grupo dos aditivos naturais, pode-se considerar o alho (*Allium sativum*) que é comumente usado como condimento, e é um dos remédios à base de ervas mais estudado, sendo tradicionalmente utilizado para tratar infecções, resfriados, diabetes, doença cardíaca, e uma série de outros distúrbios⁹.

Em estudos realizados já foi demonstrado que o alho e seu principal composto, a alicina possuem atividade antibacteriana contra bactérias como *Salmonella* e *Escherichia coli*¹⁰, *Mycobacterium tuberculosis* e *Staphylococcus aureus*¹¹, *Helicobacter pylori*^{12,13}, *Campylobacter jejuni*¹⁴, além de atividade antifúngica¹⁵, atividade antiparasitária^{16,17}, e atividade antiviral¹⁸.

Dentre as bactérias de grande importância na avicultura e na saúde pública tem-se *Salmonella* sp., que sempre causou grandes perdas econômicas. A bactéria está amplamente distribuída na natureza, e os homens e os animais são reservatórios naturais, e pode estar presente em toda a cadeia avícola, com a capacidade de contaminar as aves, que se tornam portadoras assintomáticas e podem contaminar o ambiente e os alimentos¹⁹.

Nos últimos anos foram observadas significativas mudanças na predominância de alguns sorovares associados às aves e infecções em humanos, com uma queda significativa na ocorrência de *Salmonella* Enteritidis, e crescente ocorrência de outros sorovares como Infantis, Agona, Hadar e Virchow, os quais são comprovadamente causadores de infecções em humanos^{20,21}.

Especificamente, *Salmonella* Infantis tem sido um dos 15 sorotipos mais isolados nos continentes africano, asiático, europeu, norte-americano, Oceania e países latino-americanos²². Entre 2012 e 2014, quatro surtos envolvendo *Salmonella* Infantis nos Estados Unidos foram notificados pelo Centro de Controle e Prevenção de Doenças (CDC)²³.

Com a crescente circulação de *Salmonella* Infantis no plantel avícola brasileiro e mundial, e sendo esse patógeno cada vez mais comum em surtos de doenças em humanos pelo consumo de carne de frango, esse estudo foi desenvolvido com o propósito de avaliar o alho *in natura* como melhorador de desempenho, assim como verificar seus efeitos sobre o trato gastrointestinal e parâmetros sanguíneos em frangos inoculados com *Salmonella* Infantis.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Aditivos Fitogênicos

A utilização de plantas com fins medicinais, para tratamento, cura e prevenção de doenças é uma das mais antigas formas de prática medicinal da humanidade²⁴. Produtos de origem vegetal têm sido utilizados com sucesso variável para curar e prevenir doenças ao longo da história²⁵. Porém, o uso de extratos vegetais como promotores de crescimento em animais ainda é um assunto recente, com o número de pesquisas aumentando gradativamente devido a diversos fatores, como a resistência bacteriana a antibióticos e, ainda, a demanda ao tratamento alternativo para algumas enfermidades⁸.

Aditivos fitogênicos são definidos como compostos derivados de plantas incorporados às dietas animais com o intuito de promover melhor desempenho e melhor qualidade dos produtos obtidos destes animais. Os efeitos benéficos das plantas estão associados com a constituição de seus princípios ativos e seus compostos secundários²⁶.

Durante seu ciclo de vida, os vegetais produzem compostos químicos essenciais para o seu desenvolvimento, utilizando a água, luz solar e nutrientes disponíveis. Esses produtos podem ser divididos em dois grandes grupos, de acordo com Poser e Mentz²⁷, metabólitos primários ou macromoléculas e os metabólitos secundários ou micromoléculas. No primeiro grupo, estão incluídos os lipídeos, proteínas e glicídeos, com funções vitais bem definidas, tais como fotossíntese, função estrutural e de armazenamento de energia. O segundo grupo origina compostos fundamentais para a sobrevivência da espécie da planta, o que lhe confere vantagens adaptativas. Esses compostos não possuem uma distribuição igual nas plantas, e são encontrados em concentrações baixas, geralmente com estrutura complexa, baixo peso molecular, variando de acordo com os grupos de plantas^{27,28}.

Um aspecto importante a ser ressaltado, se refere à quantidade total de metabólitos produzidos e as proporções relativas dos componentes da mistura. Eles podem variar de acordo com a espécie e com as diferentes partes da planta (folhas, caule e raízes). Também, vários outros fatores influenciam o conteúdo de metabólitos secundários, sendo eles, a sazonalidade, o ritmo circadiano, a idade e o desenvolvimento da planta, temperatura, disponibilidade hídrica, nutrientes do solo, radiação ultravioleta, poluição atmosférica, altitude e o ataque de pragas²⁹.

Em virtude de suas diferentes atividades biológicas e suas particularidades, os estudos dos metabólitos secundários de plantas se desenvolveram nos últimos 50 anos. Estes

compostos são conhecidos por desempenharem papel importante na adaptação das plantas aos seus ambientes e também representam uma fonte importante de substâncias farmacologicamente ativas. Eles correspondem a compostos valiosos, sendo utilizados em produtos farmacêuticos, cosméticos e na química fina, além de serem utilizados como melhoradores de desempenho como uso alternativo à antibióticos^{30,31}.

De acordo com Kohlert et al.³⁶ os princípios ativos dos extratos vegetais são absorvidos no intestino pelos enterócitos e metabolizados rapidamente no organismo animal. A maior parte dos compostos e seus metabólitos são eliminados pelos rins e pelos pulmões. A rápida metabolização e a curta meia vida dos compostos ativos levam a crer que existe um risco mínimo de acúmulo nos tecidos.

Em pesquisas com aditivos fitogênicos, verifica-se que os mesmos, quando são adicionados nas rações de frangos, podem ser eficientes em melhorar a utilização dos nutrientes, aumentando a digestibilidade³², proporcionando melhor desenvolvimento da microbiota intestinal benéfica³³ e apresentando propriedades antimicrobianas³⁴. Além do mais, eles também aumentam a palatabilidade da ração e ajudam na redução de infecções subclínicas³⁵.

2.1.1 Alho (*Allium sativum*)

Pertencente à família das *Liliaceae*, o alho possui 33 compostos organossulfurados, 17 aminoácidos, além de minerais e vitaminas³⁷. Muitos dos benefícios para a saúde associados ao consumo de alho têm sido atribuídos aos organossulfurados, especialmente aos tiosulfonatos, que são a classe encontrada em maior quantidade no alho fresco picado ou esmagado. Dentre os compostos com elevados valores funcionais no alho fresco moído, destaca-se a alicina (dialil tiosulfonato), líquido volátil responsável pelo odor forte do alho. Quimicamente, a alicina é uma molécula instável e altamente reativa. É o composto bioativo mais comum e representa cerca de 70% dos compostos sulfurados presentes nessa hortaliça^{37,38,39}.

Produzida pela ação da enzima alinase sobre a aliina, a alicina é um composto bastante instável que se transforma rapidamente em produtos secundários, como ajoene e dialil dissulfeto. Foram sugeridos dois possíveis mecanismos de ação da alicina, a atividade antioxidante, e a interação com os grupos de proteínas-SH e outras moléculas biologicamente ativas devido à estrutura particular da alicina⁴⁰.

A alicina possui ação antioxidante em virtude das duas ligações de oxigênio e enxofre, e age como antibiótico, destruindo os grupos sulfídricos das enzimas, inibindo a fermentação e estimulando a secreção gástrica, o que resulta em ação profilática contra infecções bacterianas do trato digestório^{40, 41}. Assim, o principal efeito antimicrobiano de alicina ocorre por sua interação com enzimas importantes contendo tiol, particularmente aqueles que possuem grupos SH, sulfidril, muito reativas ou sem proteção. A inibição de determinadas enzimas contendo tiol, incluindo a RNA polimerase, leva ao atraso ou inibição da síntese de DNA, RNA e proteínas nos microrganismos, e isso ocorre pela rápida reação dos tiosulfonatos, sendo o principal mecanismo envolvido no efeito antibiótico. Também foi demonstrado que a alicina inibe a síntese de acetil-CoA bacteriano, pela ação de uma ligação não-covalente e reversível. De tal modo, o efeito de alicina em muitas células microbianas parece ser crítico e, portanto, muito benéfica para o hospedeiro^{18, 38, 39, 40, 42, 43}.

Tendo em vista o aumento da resistência de muitas bactérias aos antibióticos e a importância de antioxidantes e enzimas contendo tiol na patogenicidade de vários agentes infecciosos, a utilização de alicina para inibir estas enzimas pode ser de grande importância. Estas enzimas são essenciais para a nutrição e metabolismo bacteriano, o que sugere que o desenvolvimento de resistência à alicina surge menos facilmente do que para determinados antibióticos^{40, 44}.

Além dos benefícios citados, o alho também tem efeitos sobre os constituintes sanguíneos tendo o efeito hipocolesterolêmico como o principal relatado. Esse efeito em aves ocorre por inibição de enzimas que participam na síntese de colesterol e lipídeos⁴⁵. Estudos com animais têm demonstrado que a suplementação de alho diminui a atividade da 3- hidroxil-3-metilglutaril-CoA redutase (HMG-CoAredutase), que é a principal enzima do processo de síntese de colesterol, assim como da enzima colesterol 7 α - hidroxilase e na síntese de ácidos graxos^{46,47}.

2.2 *Salmonella* sp.

O gênero *Salmonella*, pertencente à família das *Enterobacteriaceae*, foi descrito pela primeira vez em 1885 por Daniel Elmer Salmo, e é constituído de bacilos Gram-negativos não formadores de esporos, aeróbios ou anaeróbios facultativos. Fermentam a glicose e outros açúcares e descarboxilam aminoácidos, reações químicas importantes para a caracterização do gênero e diferenciação dos biótipos. Crescem a temperatura de 5 a 45°C, contudo sua zona de conforto situa-se entre 37 e 40°C^{48,49}.

Atualmente o gênero *Salmonella* é composto por duas espécies, *Salmonella enterica*, que é subdividida em seis espécies, e *Salmonella bongori*, e apresenta 2610 sorovares identificados^{50,51}. A subespécie *enterica* possui a maioria dos sorovares, com 1547, os quais representam 99% das infecções em humanos e animais, e são considerados os principais responsáveis pela contaminação da carne de frango⁵¹.

Potencialmente, as aves possuem menores chances de serem infectadas com as salmoneloses paratíficas, causadoras de toxinfecção em humanos, tais como *Salmonella* Enteritidis, *Salmonella* Typhimurium e *Salmonella* Infantis. Isso faz com que elas sejam um dos mais importantes portadores inaparentes de salmonelas favorecendo a veiculação destes sorovares para o homem pela ingestão de alimentos contaminados com a bactéria⁵².

Os sorovares como Enteritidis, Typhimurium, Newport, Infantis, Virchow, Hadar e Agona foram os sorotipos mais frequentemente isolados de seres humanos em todo o mundo entre os anos de 2001 e 2007^{22,51}.

No Brasil, monitoramento realizado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) chegou a 18 sorovares isolados de aves vivas e de carcaças de frangos, destacando-se maior frequência para *Salmonella* Enteritidis com 48,8 %, *Salmonella* Infantis 7,6 %, *Salmonella* Typhimurium 7,2%, *Salmonella* Heidelberg 6,4% e *Salmonella* Mbandaka 4,8%⁵³.

Dentre os sorovares de maior ocorrência, *Salmonella* Infantis tem sido um dos 15 sorotipos mais isolados no mundo, sendo encontrada em hospitais veterinários e humanos, em legumes e carnes, e na produção de frangos de corte^{22, 54}. No Brasil, *Salmonella* Infantis foi isolada a partir de fontes humanas, surtos hospitalares e em alimentos, incluindo maionese e carne de frango. Entre os anos de 1950 a 2003, *Salmonella* Infantis estava entre os seis sorovares mais isolados a partir de fontes humanas e não-humanas no Estado de São Paulo,⁵⁴⁻⁵⁸.

Visto a crescente circulação e ocorrência deste sorovar em surtos e os relatos de resistência antimicrobiana, um estudo foi realizado com 35 cepas de *Salmonella* Infantis isoladas de fezes ou sangue de crianças em hospitais públicos do estado do Rio de Janeiro. A maioria das cepas foi resistente a ampicilina, cefalosporinas, estreptomicina e canamicina⁵⁸.

2.3 Hematologia e Bioquímica Sanguínea

O crescimento da atividade avícola se justifica pelos esforços da indústria que focam na melhora de monitoramento e tratamento de doenças. Isto inclui medidas como a

avaliação do estado imunológico dos animais e programas de detecção precoce de enfermidades, proporcionando grande desenvolvimento dos métodos de diagnósticos e de profilaxia das doenças aviárias⁵⁹.

A hematologia e a avaliação dos parâmetros bioquímicos séricos são ferramentas fundamentais para a detecção precoce de doenças em aves, sendo que, mesmo sem a presença de sinais clínicos, podem ocorrer alterações sanguíneas que fornecerão ao clínico uma via para instaurar o tratamento precocemente. Além disso, essas avaliações também permitem estimar o estado de saúde de populações, pois é um reflexo das condições do ambiente, da nutrição, clima e manejo⁶⁰.

Dentre os parâmetros hematológicos, o hematócrito expressa a proporção de volume da parte corpuscular no total do sangue. Essa proporção pode ser influenciada pela quantidade e pelo tamanho das hemácias assim como pelas alterações do volume plasmático, tornando um indicador de anemia, caso o volume globular esteja baixo, ou uma desidratação, caso esteja aumentado⁶¹. A concentração da hemoglobina é importante para determinar a capacidade de oxigenação tissular que prevalece nos seres vivos e também para classificar um processo anêmico. Certas infecções bacterianas como as salmoneloses, podem causar anemia provocada pela destruição de hemácias^{61,62}.

A avaliação dos parâmetros bioquímicos séricos tem grande importância no que se refere às atividades metabólicas vitais que ocorrem nos fluidos corporais de animais enfermos⁶³. Dentre os constituintes bioquímicos encontram-se as proteínas, que com exceção das imunoglobulinas e hormônios proteicos, são sintetizadas no fígado⁶⁴. As proteínas são responsáveis pelo efeito osmótico coloidal necessário para manter o volume de sangue. Além disso, são importantes na preservação do pH sangue, auxiliando no tamponamento, no transporte de hormônios e fármacos, e na coagulação do sanguínea. E também, vários tipos de proteínas são indispensáveis para as reações inflamatória e imune, e para o processo de reparação de tecidos⁶⁵.

A albumina representa a principal fração das proteínas do plasma, representando entre 35% e 50% do teor de proteína total. Ela é sintetizada exclusivamente no fígado e é a principal proteína responsável pela manutenção da pressão oncótica do sangue, e ainda atua como transportadora de várias substâncias presentes na circulação sanguínea^{61,63}.

O grupo das globulinas incluem as proteínas de fase aguda (α -globulinas e β -globulinas) e as imunoglobulinas (γ -globulinas). As imunoglobulinas são produzidas por linfócitos B e plasmócitos, sendo importantes componentes da proteína total. Elas se dividem em classes, compostas pelos anticorpos IgG, que são produzidos em respostas a vários

estímulos bacterianos, virais ou tóxicos; a IgA, principal responsável pelos processos de defesa a nível de mucosa; e IgM, que forma um complexo proteico juntando-se em grupos de cinco. A IgM é secretada pelos linfócitos B e células de plasma, e a sua função principal é a de ativar o sistema complemento, enquanto que a IgG é produzida mais tarde e desempenha uma ação predominante de opsonização, a ligação ao agente patogénico e permitindo a fagocitose por macrófagos^{61, 65}.

Em aves, os níveis de ureia e de creatinina são baixos quando comparados com os de mamíferos⁶⁶. O ácido úrico e a ureia são as provas bioquímicas utilizadas para avaliar a função renal, no entanto considera-se que a ureia tem pouco valor diagnóstico para as aves quando comparada ao ácido úrico^{61,67}. As aves são uricotélicas, e a ureia se forma no fígado como subproduto do metabolismo de proteínas, havendo menor quantidade nas aves granívoras, com a concentração variando nessas aves de 0 a 5 mg/ dL, e em geral considera-se a mensuração do teor de ureia um indicador limitado para doença renal de aves. Assim a concentração da ureia sanguínea é influenciada pela ingestão de proteínas, pela taxa de excreção renal (que podem aumentar a concentração sanguínea da ureia) e pelo estado do fígado, que é o órgão responsável pela sua síntese^{61,63}.

A creatinina tem pouco valor diagnóstico em aves, uma vez que seu precursor, a creatina, é excretada pelos rins antes de se transformar em creatinina. De acordo com Rajman et al.⁶⁸, as concentrações de creatinina são diretamente proporcionais à massa muscular e inversamente à idade. Em relação à massa muscular, comparando diferentes espécies de aves, os valores de creatinina normais são constantes, ficando entre 0,1 e 0,4 mg/dL independentemente da massa muscular⁶⁴.

Outro constituinte bioquímico a ser considerado é a enzima aspartato aminotransferase (AST). Ela não é específica para dano hepatocelular nem para lesão muscular, pois apresenta alta atividade no fígado, músculo esquelético e cardíaco, cérebro e rins, mas sua concentração auxilia em diagnósticos⁶⁷. De maneira geral, valores de AST acima de 275 UI/L sugerem aumento leve da sua atividade, que pode estar relacionado a distúrbios hepáticos ou musculares, sendo que o aumento na atividade AST em aves maior de 350 UI/L é considerado moderado, sugerindo lesões hepáticas mais graves^{61,66}.

O metabolismo do colesterol nas aves é semelhante ao dos mamíferos. Ele é o principal lipídeo precursor de hormônios esteroides e ácidos biliares, sendo sintetizado pelo fígado. É eliminado na forma de ácidos biliares e o aumento das concentrações pode ser devido à obstrução biliar extra-hepática, fibrose hepática, hiperplasia do ducto biliar e por dieta rica em gordura. A diminuição pode estar associada à insuficiência hepática em fase

terminal, má digestão ou má absorção e restrição alimentar. Em aves, o colesterol também pode ser afetado pela hereditariedade, nutrição, sexo, idade e condições ambientais. A concentração plasmática normal na maioria das espécies de aves varia de 100 a 250 mg/ gL^{61,64,66}.

Apesar dos relatos acima, no Brasil, existem poucos trabalhos sobre os níveis de referência para valores hematológicos e bioquímicos em frangos de corte, principalmente quando se utiliza aditivos naturais como o alho, por isso a importância de se traçar esse perfil sanguíneo das aves nas diversas situações de experimentação⁶⁰.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Investigar diferentes níveis de alho *in natura* adicionado à dieta no controle de *Salmonella* *Infantis*, no desempenho, na excreção fecal de *Salmonella* e parâmetros sanguíneos de frangos de corte experimentalmente inoculados.

3.2 Objetivos específicos

- Investigar o efeito do alho *in natura* no ganho de peso, consumo de ração e conversão alimentar;
- Verificar o efeito do alho *in natura* sobre a biometria do intestino delgado, fígado e baço;
- Quantificar *Salmonella* *Infantis* e *Escherichia coli* nos suabes de cloaca;
- Investigar o efeito do alho *in natura* sobre a habilidade de inibir a colonização intestinal e a migração da *Salmonella* para o baço;
- Investigar os efeitos do alho sobre parâmetros sanguíneos de frango de corte.

REFERENCIAS

1. UBABEF União Brasileira de Avicultura:.. Relatório Anual 2014.ed. [Acesso em: 02 de fevereiro de 2015] Disponível em:<<http://www.ubabef.com.br/files/publicacoes/732e67e684103de4a2117dda9ddd280a.pdf>>
2. Toledo GISP, Costa PTC, Silva LP, Pinto D, Ferreira P, Poletto CJ. Desempenho de frangos de corte alimentados com dietas contendo antibiótico e/ou fitoterápico como promotores, adicionados isoladamente ou associados. Cienc Rural. 2007; 37(6):1760-1764.
3. Silva MA, Marvulo MFV, Mota RA, Silva JCR, A importância da ordem Ciconiiformes na cadeia epidemiológica de *Salmonella* spp. para a saúde pública e a conservação da diversidade biológica. Pesqui Vet Bras. 2010; 30(7): 573-580.
4. McMullin P. Produção avícola sem antibióticos: riscos potenciais de contaminação cruzada e de detecção de resíduos. Conferência apinco 2004 de ciência e tecnologia avícolas. 2004; Campinas; Brasil. Anais. Fundação APINCO de Ciência e Tecnologia Avícolas. 2004; 2: 211-216.
5. Ribeiro AR, Kollermann A, Santos LR, Nascimento VP. Resistência antimicrobiana em *Salmonella* Enteritidis isoladas de amostras clínicas e ambientais de frangos de corte e matrizes pesadas. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. 2008; 60(5): 1259-1262.
6. Sridevi Dhanarani T, Shankar C, Park J, Dexilin M, Kumar R, Thamaraiselvi K. Study on acquisition of bacterial antibiotic resistance determinants in poultry litter. Poultry Sci. 2009; 88: 1381-1387.
7. Sartori JR, Fascina VB, Carvalho FB, Gonzáles, E. Atualidades em aditivos: óleos essenciais, prebióticos e probióticos. IX Simpósio goiano de avicultura, Goiânia: Brasil. Anais. 2009.
8. Fascina VB. Aditivos fitogênicos e ácidos orgânicos em dietas de frangos de corte. [Tese]Botucatu: Universidade Estadual Paulista; 2011.
9. Tsai CW, Chen HW, Sheen LY, Lii CK. Garlic: Health benefits and actions. Bio Medicine. 2012; 2: 17- 29.
10. Johnson MG, Vaughn RH. Death of *Salmonella* typhimurium and *Escherichia coli* in the Presence of Freshly Reconstituted Dehydrated Garlic and Onion. Applied Microbiology. 1969;17(6): 903-905.
11. Viswanathan V, Phadatare AG, Mukne A. Antimycobacterial and Antibacterial Activity of *Allium sativum* Bulbs. Indian J Pharm Sci. 2014; 76(3): 256–261.
12. O’Gara EA, Hill DJ, Maslin DJ. Activities of garlic oil, garlic powder, and their diallyl constituents against *Helicobacter pylori*. Appl Environ Microbiol. 2000; 66: 2269–2273.
13. Sivam GP. Protection against *Helicobacter pylori* and other bacterial infections by garlic.J Nutr. 2001; 131(3):1106-1108.

14. Robyn J, Rasschaert G, Hermans D, Pasmans F, Heyndrickx M. Is allicin able to reduce *Campylobacter jejuni* colonization in broilers when added to drinking water? *Poultry Sci.* 2013; 92 (5): 1408-1418.
15. Kim YS, Kim KS, Han I, Kim MH, Jung MH, Park HK. Quantitative and Qualitative Analysis of the Antifungal Activity of Allicin Alone and in Combination with Antifungal Drugs. *PlosOne.* 2012; 7(6): 1-8.
16. Corral MJ, Serrano DR, Moreno I, Torrado JJ, Domínguez M, Alunda JM. Efficacy of low doses of amphotericin B plus allicin against experimental visceral leishmaniasis. *J Antimicrob Chemother.* 2014; 69(12): 3268-3274.
17. Feng Y, Zhu X, Wang Q, Jiang Y, Shang H, Cui L, Cao L. Allicin enhances host pro-inflammatory immune responses and protects against acute murine malaria infection. *Malar J.* 2012; 11(268): 1-9.
18. Ankri S, Mirelman D. Antimicrobial properties of allicin from garlic. *Microbes Infect.* 1999; 2: 125-129.
19. Shinohara NKS, Bezerra VB, Jimenez SMC, Machado ECL, Dutra RAF, Lima Filho JL. *Salmonella* spp., importante agente patogênico veiculado em alimentos. *Ciênc. saúde coletiva.* 2008; 13 (05): 1669-1674.
20. Freitas Neto OC, Penha Filho RAC, Barrow P, Berchieri Junior A. Sources of human non-typhoid salmonellosis: a review. *Rev. Bras. Cienc. Avic.* 2010; 12 (1): 1-11.
21. Foley SL, Nayak R, Hanning IB, Johnson TJ, Han J, Ricke SC. Population dynamics of *Salmonella* enterica serotypes in commercial egg and poultry production. *Appl Environ Microb.* 2011; 77 (13): 4273-4279.
22. Hendriksen RS, Vieira AR, Karlsmose S, Wong DMALF, Jensen AB, Wegener HC, Aarestrup FM. Global monitoring of *Salmonella* serovar distribution from the World Health Organization Global Foodborne Infections Network Country data bank: results of quality assured laboratories from 2001 to 2007. *Foodborne Pathog. Dis.* 2011; 8: 887–899.
23. CDC – Centers for Disease Control and Prevention, United States. 2011. Disponível em: <www.cdc.gov>. Acesso em: 20 de março de 2015.
24. Veiga Jr VF, Pinto AC, Maciel MAM. Plantas medicinais: cura segura? *Quim Nova.* 2005; 28(3): 519-528.
25. Raskin I, Ribnicky DM, Komarnytsky S, Llic N, Poulev A, Porisjuk N, Brinker A, Moreno DA, Ripoll C, Yakoby N, O’neal JM, Cornwell T, Pastor I, Fridlender B. Plants and human health in the twenty-first century. *Trends Biotechnol.* 2002; 20(12): 522-531.
26. Windisch W, Kroismayr A. The effect of phytobiotics on Performance and gut function in monogastrics. *World Nutrition Forum. Anais.* 2006; 85-90.

27. Poser GL, Mentz LA. Diversidade biológica e sistemas de classificação. In: Simões CM, Schenkel EP, Gosmann G, Mello JCP, Mentz LA, Petrovick PR. Farmacognosia: da planta ao medicamento. 6. ed. Porto Alegre. UFRGS/UFSC; 2007. p. 75-89.
28. Pereira RJ, Cardoso MG. Metabólitos secundários vegetais e benefícios antioxidantes. J. Biotechnol. Biodivers. 2012; 3(4): 146-152.
29. Gobbo-Neto L, Lopes NP. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. Quím. Nova. 2007; 30(2): 374-381.
30. Bourgaud F, Gravot A, Milesi S, Gontier E. Production of plant secondary metabolites: a historical perspective. Plant Sci. 2001; 161: 839-851.
31. Fumagali E, Gonçalves RAC, Machado MFPS, Vidoti GJ, Oliveira AJB. Produção de metabólitos secundários em cultura de células e tecidos de plantas: o exemplo dos gêneros *Tabernaemontana* e *Aspidosperma*. Rev. Bras. Farmacogn. 2008; 18 (4): 627-641.
32. Hernandez F, Madrid J, Garcia V, Orengo J, Megias MD. Influence of two plant extracts on broiler performance, digestibility, and digestive organ size. **Poultry Sci.** 2004; 83(2): 169-174.
33. Jang IS, Ko YH, Kang SY, Lee CY. Effect of a commercial essential oil on growth performance, digestive enzyme activity and intestinal microflora population in broiler chickens. Anim. Feed Sci. Technol. 2007; 134: 304-315.
34. Santurio JM, Santurio DF, Pozzatti P, Moraes C, Franchin PR, Alves SH. Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de orégano, tomilho e canela frente a sorovares de *Salmonella* entérica de origem avícola. Cienc. Rural. 2007; 37(3): 803-808.
35. Langhout P. Alternativas ao uso de quimioterápicos na dieta de aves: A visão da indústria e recentes avanços. Conferência apinco de ciência e tecnologia avícolas, 2005. Santos, Anais. FACTA, 2005. p. 21-33.
36. Kohlert C, Van Rensen I, Marz R, Shindler G, Graefe EU, Veit M. Bioavailability and pharmacokinetics of natural volatile terpenes in animal and humans. Planta Med. 2000; 66 (6): 495-505.
37. Holub BJ, Nagpurkar A, Arnott K, Davis JP, Peschell J. Organosulfur compounds from garlic. In: Mazza G, Maguer ML, Shi J. Functional foods: biochemical and processing aspects.[online] 2a ed. Whashington: 2002. 213-238.[acesso em 25 de março de 2015]. Disponível em: <http://www.crcnetbase.com/doi/book/10.1201/9781420012873>
38. Miron T, Bercovici T, Rabinkov A, Wilchek M, Mirelman D. [3H] Allicin: preparation and applications. Anal. Biochem. 2004; 331: 364-369.
39. Yun HM, Ban JO, Park KR, Lee CK, Jeong HS, Han SB, Hong JT. Potential therapeutic effects of functionally active compounds isolated from garlic. Pharmacol Therapeut. 2014; 142(2): 183-195.

40. Rabinkov A, Miron T, Konstantinovski L, Wilchek M, Mirelman D, Weiner L. The mode of action of allicin: trapping of radicals and interaction with thiol containing proteins. *Biochim Biophys Acta*. 1998; 1379(2): 233-44.
41. Freitas R, Fonseca JB, Soares RTRN, Rostagno HS, Soares PR. Utilização do Alho (*Allium sativum* L.) como Promotor de Crescimento de Frangos de Corte. *Rev. bras. zootec*. 2001; 30(3):761-765.
42. Focke, M, Feld A, Lchtenthaler, HK. Allicin, a naturally occurring antibiotic from garlic, specifically inhibits acetyl-CoA synthetase. *FEBS Lett*. 1990; 261(1): 106- 108.
43. Miron T, Bercovici T, Rabinkov A, Wilchek M, Mirelman D. [3H] Allicin: preparation and applications. *Anal. Biochem*. 2004; 331: 364–369.
44. Bakri IM, Douglas CW. Inhibitory effect of garlic extract on oral bacteria. *Arch Oral Biol*. 2005; 50(7): 645-51.
45. Stanačev V, Glamoi D, Miloševi N, Puvaa N, Stanačev V, Plavša N. Effect of garlic (*Allium sativum* l.) in fattening chicks nutrition. *Afr J Agric Res*. 2011; 6(4): 943-948.
46. Qureshi AA, Din ZZ, Abuirmeileh N, Burger WC, Ahmad Y, Elson CE. Suppression of Avian Hepatic Lipid Metabolism by Solvent Extracts of Garlic: Impact on Serum Lipids. *J. Nutr*. 1983; 113: 1746-1755.
47. Konjufca VH, Pesti GM, Bakalli RI. Modulation of Cholesterol Levels in Broiler Meat by Dietary Garlic and Copper. *Poultry Sci*. 1997; 76: 1264–1271.
48. Berchieri JR A, Oliveira GH. Salmoneloses Aviárias. In: Andreatti Filho RL. *Saúde Aviária e Doenças*. 1 ed., São Paulo, Editora Roca, p. 84-106, 2007.
49. Silva N, Junqueira VCA, Silveira NFA, Taniwaki MH, Santos RFS, Gomes RAR. *Salmonella*. In: *Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos*. 3. ed. São Paulo: Varela, 2007. Cap. 19, p. 253-285.
50. Grimont PAD, Weill FS. Antigenic formulate of the *Salmonella* serovars. World Health Organization Collaboration Centre for Reference and Research on *Salmonella*. 2007, Paris. Institut Pasteur. 9 ed: p167.
51. Guibourdenche M, Roggentin P, Mikoleit M, Fields PI, Bockemühl J, Grimont PAD, Weill, FX, Supplement 2003 e 2007 (No. 47) to the White-Kauffmann-LeMinor scheme. *Res Microbiol*. 2010; 161: 26-29.
52. Terzolo HR. Estudio bacteriológico de las salmmonelosis de las aves (*S. pullorum*, *S. gallinarum*, *S. Enteritidis* y *S. Typhimurium*) em La América Latina. In: *Simpósio Internacional sobre Salmonelose Aviária*. Rio de Janeiro. 2011.
53. Brasil. Programa Nacional de Monitoramento da Prevalência e da Resistência Bacteriana em Frangos. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), Brasília, 2012, 186p.

54. Almeida F, Pitondo-Silva A, Oliveira MA, Falcão JP. Molecular epidemiology and virulence markers of *Salmonella* Infantis isolated over 25 years in São Paulo State, Brazil. *Infect Genet Evol.* 2013; 19: 145–151.
55. Pessoa-Silva CL, Toscano CM, Moreira BM, Santos AL, Frota AC, Solari CA, Amorim EL, Carvalho MG, Teixeira LM, Jarvis WR. Infection due to extended-spectrum b-lactamase producing *Salmonella* enterica subsp. Enterica serotype Infantis in a neonatal unit. *J. Pediatr.* 2002; 141: 381–387.
56. Tavechio AT, Ghilardi ACR, Peresi JTM, Fuzihara TO, Yonamine EK, Jakabi M, Fernandes SA. *Salmonella* serotypes isolated from nonhuman sources in São Paulo, Brazil, from 1996 through 2000. *J. Food Prot.* 2002; 65: 1041–1044.
57. Fernandes SA, Tavechio AT, Ghilardi ACR, Dias AMG, Almeida IAZC, Melo LCV. *Salmonella* serovars isolated from humans in São Paulo State, Brazil, 1996–2003. *Rev. Inst. Med. Trop.* 2006; 48: 179–184.
58. Fonseca EL, Mykytczuk OL, Asensi MD, Reis EMF, Ferraz LR, Paula FL, Ng LK, Rodrigues DP. Clonality and antimicrobial resistance gene profiles of multidrug-resistant *Salmonella* enterica serovar Infantis isolates from four public hospital in Rio de Janeiro, Brazil. *J. Clin. Microb.* 2006; 44: 2767–2772.
59. Tang F, Messinger S, Cray C. Use of an indirect sampling method to produce reference intervals for hematologic and biochemical analyses in psittaciform species. *J Avian Med Surg.* 2013; 27(3): 194–203.
60. Borsa A. Valores hematológicos em frangos de corte de criação industrial. *Colloquium Agrariae.* 2009; 5(1): 25 – 31.
61. Campbell TW. Clinical Chemistry of Birds. In: Thrall MA, Baker DC, Campbell TW, DeNicola D, Fettman MJ, Lassen ED, Rebar A, Weiser G. *Veterinary Hematology and Clinical Chemistry.* Philadelphia: Lippincott: Williams & Wilkins; 2004. p 479-491.
62. Cardoso ALSP, Tessari ENC. Estudo dos parâmetros hematológicos em frangos de corte. *Arq. Inst. Biol.* 2003; 70(4): 419-424.
63. Lumeij JT. Avian clinical biochemistry. In: Kaneko JJ, Harvey JW, Bruss ML. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals* [online] 6 ed. Waltham: Academic Press. 2008. P 839-872 [acesso 10 junho 2015]. Disponível em: <https://umkcarnivores3.files.wordpress.com/2012/02/clinical-biochemistry-of-domestic-animals-sixth-edition.pdf>
64. Hochleithner M. Biochemistries In: Ritchie BW, Harrison GJ, Harrison LR. *Avian medicine: principles and application.*[online] Lake Worth: Wingers Publishing, 1994. p. 176-198. Disponível em : http://avianmedicine.net/publication_cat/avian-medicine/
65. Melillo, A. Applications of serum protein electrophoresis in exotic pet medicine. *Vet Clin North Am Exot Anim Pract.* 2013; 16(1): 211–225.

66. Capitelli R, Crosta L. Overview of psittacine blood analysis and comparative retrospective study of clinical diagnosis, hematology and blood chemistry in selected psittacine species. *Vet Clin North Am Exot Anim Pract*. 2013; 16 (1): 71–120.
67. Schmidt EMS, Locatelli-Dittrich R, Santin E, Paulillo AC. Patologia clínica em aves de produção – Uma ferramenta para monitorar a sanidade avícola – revisão. *Arch. Vet. Sci*. 2007; 12 (3): 9-20.

CAPITULO 2 – EFEITOS DO *Allium Sativum* NO DESEMPENHO E EXCREÇÃO FECAL DE *Salmonella* INFANTIS EM FRANGOS DE CORTE INOCULADOS

RESUMO: O presente estudo foi desenvolvido com o objetivo de investigar os efeitos do alho *in natura* sobre o desempenho e a excreção de *Salmonella* Infantis em frangos experimentalmente inoculados. Foram utilizados 256 pintos machos de um dia de idade, distribuído em delineamento inteiramente ao acaso, com oito tratamentos e quatro repetições. As aves foram inoculadas via oral, no primeiro dia de idade com 0,5 mL de solução salina tamponada contendo $5,0 \times 10^3$ UFC/mL de *Salmonella* Infantis. O tratamento 1 constituiu o grupo controle; os tratamentos 2, 3 e 4 constituíram os grupos que receberam o alho na dose de 1,5%, 3,0% e 4,5% na ração, respectivamente. O tratamento 5 constitui o grupo que recebeu somente *Salmonella* Infantis; os tratamentos 6, 7 e 8 receberam as mesmas doses de alho na ração mais *Salmonella* Infantis, respectivamente. Foram realizadas análises de desempenho, biometria do intestino delgado e fígado, e pesquisa de *Salmonella* nas excretas. Observou-se que não houve diferença no desempenho. O peso do intestino e do fígado aos 29 dias foram maiores nas aves inoculadas e tratadas, e o alho reduziu a população intestinal de *Salmonella*. Conclui-se que o alho *in natura* nas dosagens estudadas não altera o desempenho, no entanto reduz a excreção fecal de *Salmonella* Infantis.

Palavras-Chave: aves, biometria, conversão alimentar, microbiota

CHAPTER 2 - EFFECTS OF *Allium sativum* ON PERFORMANCE AND EXCRETION FECAL OF *Salmonella* INFANTIS OF BROILER CHICKENS INOCULATED

ABSTRACT: The present study was developed with in the order to investigate the effects of garlic *in natura* on performance and fecal excretion of *Salmonella* Infantis in chickens experimentally inoculated. In this study 256 one-day-old male chicks were distributed in a completely randomized design eight treatments and four replications each. The poultries were inoculated orally at one-day-old with 0.5 ml of buffered saline containing 5.0×10^3 CFU / mL of *Salmonella* Infantis. Treatment 1 was the control group; treatments 2, 3 and 4 were the groups that received garlic at a dose of 1.5%, 3.0% and 4.5% in the feed, respectively. Treatment 5 was the group that received only *Salmonella* Infantis; treatments 6, 7 and 8 were given the same doses of garlic in the feed and also *Salmonella* Infantis, respectively. Were reviews performed of performance, biometrics of small intestine and liver, and *Salmonella* in feces. It was observed no differences in performance. The weight of intestine and liver at 29 days were higher in inoculated and treated birds, and garlic reduced intestinal population of *Salmonella*. It is concluded that garlic *in natura* in the doses studied does not change the performance, however reduced fecal excretion of *Salmonella* Infantis.

Keywords: birds, biometrics, feed conversion, microbiota.

INTRODUÇÃO

O uso de tecnologias, novas práticas de manejo e os avanços científicos nas áreas de genética e nutrição levam a redução nos custos de produção e o aumento da produtividade. Por vários anos o setor avícola utilizou de algumas ferramentas que foram responsáveis pelo maior crescimento e rendimento dos animais, dentre elas, os chamados aditivos que têm sido utilizados em rações com a finalidade de melhorar o processo digestivo, alterar a microbiota intestinal e promover melhor desempenho zootécnico das aves¹.

Entre os aditivos mais empregados para promover o crescimento estão os antibióticos, que são adicionados à dieta com o intuito de controlar os agentes prejudiciais ao processo digestivo e propiciar os efeitos benéficos na absorção de nutrientes. Porém, a preocupação com a resistência de bactérias potencialmente patogênicas, como *Salmonella*, fez com que vários países proibissem o uso de antibióticos nas dietas. No entanto, a manutenção da integridade intestinal é essencial para que os processos de digestão e absorção sejam eficientes e por isso, devem ser estabelecidos critérios de manejo que mantenham o controle de enteropatógenos que podem reduzir a eficácia do processo digestivo²⁻⁴.

A proliferação de agentes patogênicos no intestino pode resultar em respostas inflamatórias que levam a perdas de produtividade, aumento da mortalidade e aumento da contaminação dos produtos de aves^{5,6}.

Para controlar as infecções gastrointestinais são utilizados antimicrobianos em animais de produção⁷ e com a redução do uso de antibióticos, a indústria avícola tem buscado alternativas ao uso dos mesmos. Dentre as alternativas aos moduladores de crescimento, destacam-se os aditivos fitogênicos, e pode-se considerar o alho (*Allium sativum*), que tem sido utilizado como condimento, se constitui em um dos remédios à base de ervas mais estudado, sendo tradicionalmente utilizado para tratar infecções, resfriados, diabetes, doença cardíaca e uma série de outros distúrbios⁸.

Também tem sido utilizado como promotor de crescimento em frangos de corte em diferentes formas de apresentação como *in natura*, pó, extrato aquoso e óleo, e têm demonstrado potencial de uso em avicultura. Além do mais, tem sido apontado a sua capacidade de provocar o aumento da secreção gástrica, resultando na modulação da microbiota intestinal⁹ e sua atividade antimicrobiana contra diversas bactérias, incluindo *Staphylococcus aureus*, *Salmonella Typhimurium*, *Escherichia coli* e *Listeria monocytogenes*^{10,11}.

O alho também tem demonstrado efeito hipocolesterolêmico, o que pode ter grande valor, já que tem crescido a preocupação dos consumidores com a qualidade dos alimentos e o excesso de lipídeos nas carnes é um elemento que contribui para doenças no homem¹².

Dentre os enteropatógenos que podem causar distúrbios entéricos situa-se *Salmonella*, que possui 2610 sorovares, dentre estes, Enteritidis, Typhimurium, Newport, Infantis, Virchow, Hadar e Agona que tem sido os mais isolados de seres humanos em todo o mundo e ainda se constituem em potenciais problemas para a saúde pública^{13,14}.

Dentre os principais sorovares, *Salmonella* Infantis tem sido um dos 15 sorotipos mais isolados no mundo, sendo encontrado em amostras de hospitais veterinários e humanos, em legumes e carnes, e em unidades de produção de frangos de corte^{14,15}.

Diante do exposto, o presente estudo foi desenvolvido com o objetivo de avaliar os efeitos do alho *in natura* no desempenho, na biometria de intestino e fígado, e na excreção fecal de *Salmonella* Infantis em frangos inoculados experimentalmente via oral com *Salmonella* Infantis.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Núcleo Experimental de Doenças de Aves e no Laboratório de Bacteriologia do Departamento de Medicina Veterinária, Setor de Medicina Preventiva da Escola de Veterinária e Zootecnia (EVZ) da Universidade Federal de Goiás (UFG).

O protocolo experimental utilizado nesse estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais/ CEUA–UFG sob o nº 093/14.

Delineamento experimental

Foram utilizados 256 pintos da linhagem Cobb, machos, de um dia de idade, divididos em oito tratamentos, com quatro repetições cada, alojados em grupos de oito aves por unidade experimental, no total de 32 unidades experimentais com 32 aves por tratamento distribuídas em delineamento inteiramente casualizado. Os frangos de corte de um dia de idade foram pesados, identificados e distribuídos conforme o delineamento do QUADRO 1.

QUADRO 1- Delineamento experimental detalhando os oito tratamentos

Tratamento	<i>Salmonella</i> Infantis	Alho
T1	Não - Solução salina a 0,85%	Não
T2	Não - Solução salina a 0,85%	1,5%
T3	Não - Solução salina a 0,85%	3%
T4	Não - Solução salina a 0,85%	4,5%
T5	Sim (1º dia de idade) - Via ingluvírio	Não
T6	Sim (1º dia de idade) - Via ingluvírio	1,5%
T7	Sim (1º dia de idade) - Via ingluvírio	3%
T8	Sim (1º dia de idade) - Via ingluvírio	4,5%

As aves desafiadas e não desafiadas foram alojadas separadamente, mantendo-se a mesma ambiência, em baterias com quatro andares de aço galvanizado, equipadas com comedouros e bebedouros tipos lineares e bandejas para retirada de excretas. As baterias foram aquecidas com uma lâmpada incandescente de 60 W por andar até os 15 dias de idade.

Preparação do inóculo

O inóculo foi preparado com *Salmonella* Infantis isolada de amostras oriundas de suínos cedidas pelo Laboratório de Bacteriologia, da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás e tipificada pelo Laboratório FIOCRUZ (RJ).

A cepa foi replicada em ágar Xylose-Lysine-Tergitol4 (XLT4) e incubada a 37°C por 24h. Em seguida, as células foram suspensas em solução salina tamponada a 0,85%, mantida a 4°C e a concentração de $5,0 \times 10^3$ UFC/ mL para *Salmonella* Infantis foi ajustada com auxílio da escala de Mac Farland¹⁶.

A concentração foi confirmada por plaqueamento das diluições decimais seriadas em ágar XLT4 com posterior incubação a 37°C e contagem das Unidades Formadoras de Colônia (UFC) de *Salmonella* Infantis.

Inoculação das aves

Com um dia de vida, antes do alojamento, utilizando seringas de 1,0 mL, os pintos foram inoculados, via oral, com 0,5 mL de solução salina tamponada a 0,85%, contendo aproximadamente $5,0 \times 10^3$ UFC (Log 3,699) de *Salmonella* Infantis.

Programa alimentar

O programa alimentar foi constituído por três rações experimentais diferentes: pré-inicial, inicial e crescimento. As rações fornecidas aos animais foram à base de milho moído e farelo de soja, formuladas de acordo com a composição dos alimentos e exigências nutricionais preconizadas por Rostagno et al.¹⁷. O alho foi debulhado, descascado, triturado e pesado, depois foi incorporado à ração basal, e foi misturado por 15 minutos em misturador em Y ou em rosca. O alho foi adicionado em substituição ao material inerte (amido), de acordo com a quantidade desejada.

TABELA 1 – Composição das rações experimentais fornecida aos frangos de corte durante todo o período experimental (1-35 dias de idade)

Ingredientes¹	Pré- Inicial (1-7dias)	Inicial (8-21 dias)	Crescimento (22- 35 dias)
Milho grão	52,838	56,968	59,573
Farelo de soja (45%)	36,243	32,749	29,545
Óleo de soja	2,207	2,174	3,167
Fosfato bicálcico	1,907	1,508	1,273
Calcário	0,898	0,911	0,854
Sal comum	0,494	0,468	0,442
L-lisina HCL	0,287	0,217	0,193
DL-metionina	0,359	0,287	0,256
L-treonina	0,113	0,063	0,043
Premix vitamínico**	0,100	0,100	0,100
Premix mineral***	0,050	0,050	0,050
Inerte (amido)	4,5	4,5	4,5
Total	100,000	100,000	100,000
<u>Composição nutricional calculada</u>			
Energia metabolizável (kcal/kg)	2,960	3,050	3,150
Cálcio (%)	0,942	0,899	0,837
Fósforo Disponível (%)	0,471	0,449	0,418
Sódio (%)	0,224	0,218	0,208
Lisina (%)	1,378	1,198	1,101
Metionina + cistina (%)	0,968	0,844	0,791
Metionina (%)	0,790	0,564	0,525

* Suplemento vitamínico (níveis de garantia por kg do produto): vit. A ,1.680.000UI; vit . D3, 400.000 UI; vit. E, 3500mg; vit. K, 360mg; vit.B1, 436,50mg; vit.B2, 1.200mg; vit.B6, 624mg; vit.B12, 2.400mcg; ác. Fólico, 200mg; ác. pantotênico, 3.120 mg; niacina, 8.400mg; biotina,10.000mcg.

**Suplemento mineral (níveis de garantia por kg do produto): zinco, 17.500 ppm; ferro, 12.500 ppm; cobre, 2.000 ppm; iodo, 187,50 ppm; selênio,75ppm.

*** Digestível

Concentração mínima de butirato de cálcio nas microcápsulas: 45%.

Durante todo o período experimental, as aves receberam alimentação e água *ad libitum*.

Desempenho

Aos sete, 21 e 35 dias de idade foram avaliadas as seguintes variáveis:

- Peso Médio (PM): obtido dividindo-se o peso total das aves de cada parcela, pelo número médio de aves da parcela, $PM = PF/NMA$;
- Ganho de Peso (GP): calculado pela diferença entre o peso final e o peso inicial das aves somado ao peso da ave morta e dividindo pelo número médio de aves, $GP = [(PF-PI) + \text{Peso da ave morta}]/NMA$;
- Consumo de ração (CR): calculado pela razão entre o consumo de ração total (fornecido – sobra) e o número médio de aves;
- Conversão alimentar (CA): calculada pela razão: CR/GP ;
- Mortalidade: Para análise estatística o valor em percentagem de mortalidade foi transformado em Arc seno $((\%Mort. /100)+0,05)^{0,5}$.

Exame biométrico dos órgãos

Também aos oito, 15 e 29 dias de idade, quatro aves por tratamento foram pesadas, eutanasiadas e seus fígados e intestinos delgados foram colhidos e pesados, sendo os valores anotados, realizando-se o cálculo relativo ao peso da ave, de acordo com Grieves¹⁸.

Enumeração das UFCs de *E. coli* e *Salmonella*

Aos três, 13 e 28 dias de idade das aves, foram coletados suabes de cloaca para enumeração e isolamento de *Escherichia coli* e *Salmonella*, realizada de acordo com a técnica de Brasil¹⁹ com modificações. Suabes de cloaca coletados foram transferidos para tubos de ensaio contendo 10 mL de caldo selenito - cistina (CS), constituindo a diluição 10^0 . Diluições seriadas sucessivas foram feitas até 10^{-6} , empregando solução salina esterilizada peptonada a 0,1%. Em seguida, foram realizados plaqueamentos seriados em duplicata, de 0,1 mL de diferentes diluições em ágar MacConkey, ágar verde brilhante (VB) e ágar eosina azul de metileno (EMB), os quais foram incubados a 37°C por 24h. A leitura foi realizada selecionando e contando as unidades formadoras de colônias (UFC) com características morfológicas de *Salmonella* e *Escherichia coli*.

Os tubos de ensaio contendo CS também foram incubados a 37°C por 24h e, caso os meios de cultura não evidenciassem crescimento sugestivo de *Salmonella* e *E. coli*, alíquotas do CS eram transferidas para meios seletivos, incubados a 37°C por 24h e registrados como $<10^{-1}$. De três a cinco UFC por placas foram transferidas para tubos contendo tríplex açúcar ferro (TSI), que posteriormente foram incubados a 37°C por 24h.

Os tubos de ensaio com TSI que apresentassem crescimento sugestivo para *Salmonella* e *E. coli* foram submetidos ao teste da urease, produção de indol, vermelho de metila, motilidade, teste do malonato e lisina descarboxilase. Aqueles que apresentassem reações bioquímicas compatíveis com *Salmonella* foram submetidos ao teste sorológico com soro polivalente anti-O de *Salmonella*.

Análise estatística

Os dados quantitativos de desempenho e biometria dos órgãos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias foram comparadas quando necessário pelo teste de Tukey a 5%. Os dados de contagem de *E. coli* e *Salmonella* foram analisados pelo teste de Kruskal-Wallis a 5%. Foi utilizado o programa estatístico SAS (Statistical Analysis System 9.2).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados referentes às variáveis de desempenho dos frangos de corte encontram-se nas Tabelas 2, 3 e 4.

TABELA 2 - Peso inicial (PI), peso final (PF), ganho de peso (GP), consumo de ração (CR), conversão alimentar (CA) de frangos de corte inoculados com *Salmonella* Infantis e tratados com alho no período de 1 a 7 dias de idade

1-7 dias de idade					
Doses Alho	PI	PF	GP	CR	CA
Placebo	42,94	158 ^a	120,24 ^a	119,18 ^a	0,98
1,5%	42,75	159,08 ^a	116,33 ^a	115,50 ^{ab}	1,04
3,0%	42,91	152,5 ^{ab}	109,59 ^{ab}	109,56 ^{ab}	1,00
4,5%	42,84	141,11 ^b	98,26 ^b	102,38 ^b	1,04
P > F	0,5545	0,0259	0,0013	0,0362	0,2741
<i>Salmonella</i>					
Com	42,97 ^a	154,83	111,87	112,40	1,02
Sem	42,75 ^a	149,66	108,90	109,77	1,01
P > F	0,0352	0,2770	0,5518	0,5354	0,7085
Doses Alho x <i>Salmonella</i>					
P > F	0,2334	0,6181	0,8623	0,6105	0,1784
C.V %	0,65	7,69	8,56	9,46	6,45

^{a,b} médias com letras diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Observa-se na Tabela 2, que no período de um a sete dias de idade houve efeito significativo ($P < 0,05$) no peso final, ganho de peso e consumo de ração, sendo o maior efeito no tratamento em que as aves receberam 4,5%.

O alho a 4,5% influenciou o consumo de ração, o que afetou consequentemente o ganho de peso e o peso final. Estes resultados são diferentes dos encontrados por Aji et al.²⁰, que observaram aumento do peso corporal em aves que receberam oralmente 100 mg de alho seco em pó, sem queda no consumo de ração. E resultados diferentes aos deste estudo foram encontrados por Puvača et al.²¹, que embora tenham utilizado 0,5 e 1% de alho em pó, não observaram diferenças nos parâmetros avaliados.

Verifica-se também, que a presença da *Salmonella* não interferiu no ganho de peso, consumo de ração e conversão alimentar. Provavelmente, a dose inoculada e a virulência da bactéria não foram suficientes para agredir o intestino e alterar a digestão e absorção dos alimentos ingeridos.

TABELA 3 - Peso final (PF), ganho de peso (GP), consumo de ração (CR), conversão alimentar (CA) de frangos de corte inoculados com *Salmonella* Infantis e tratados com alho no período de 1 a 21 dias de idade

1-21 dias de idade				
Doses Alho	PF	GP	CR	CA
Placebo	956,51 ^a	913,66 ^a	952,88	1,07
1,5%	919,73 ^{ab}	876,98 ^{ab}	989,05	1,13
3,0%	882,78 ^b	839,87 ^b	976,64	1,17
4,5%	896,32 ^b	853,48 ^b	959,50	1,13
P > F	0,0039	0,0038	0,5524	0,1273
Salmonella				
Com	905,36	852,39	982,04	1,14
Sem	920,03	877,33	956,55	1,11
P > F	0,1796	0,1735	0,1971	0,1998
Doses Alho x Salmonella				
P > F	0,4212	0,4229	0,0528	0,1582
C.V %	4,1481	4,3483	6,1419	6,6539

^{a,b} médias com letras diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Observa-se que (Tabela 3), no período de um a 21 dias de idade, houve diferença significativa ($P < 0,05$) no peso médio final e no ganho de peso com as maiores médias para o tratamento placebo e as piores para os tratamentos com 3% e 4,5% de alho na ração, apesar de não ter sido observado queda no consumo de ração.

Os maiores ganhos de peso e pesos finais para o grupo placebo se respaldam em Rahimi et al.²², que encontraram peso final maior nas aves do grupo controle em comparação ao tratamento com 0,1% de extrato aquoso de alho, e em Carrijo et al.²³ que usaram doses de 0,25%, 0,50%, 0,75% e 1% de alho em pó nas dietas, e observaram melhores resultados no grupo que recebeu ração convencional.

Por outro lado estes resultados diferem de Freitas et al.²⁴ e Togashi et al.²⁵ que não observaram diferenças no ganho de peso e peso final usando alho *in natura*, e de Puvača et al.²¹ que relataram peso final maior em aves que receberam 0,5 e 1,0% de alho em pó em relação ao grupo controle.

Verifica-se na Tabela 4, que no período de um a 35 dias de idade, não houve nenhuma influência das diferentes doses de alho e do inóculo utilizado sobre as variáveis analisadas ($P > 0,05$). Destaca-se, que durante este período o consumo de ração das aves suplementadas com alho foi semelhante ao grupo placebo, mostrando que o alho não comprometeu a ingestão de ração, exceto na primeira semana.

TABELA 4 - Peso final (PF), ganho de peso (GP), consumo de ração (CR), conversão alimentar (CA) de frangos de corte inoculados com *Salmonella* Infantis e tratados com alho no período de 1 a 35 dias de idade

1-35 dias de idade				
Doses Alho	PF	GP	CR	CA
Placebo	2039,38	1996,44	2282,81	1,15
1,5%	2058,05	2015,30	2376,58	1,19
3,0%	1927,24	1884,33	2363,42	1,26
4,5%	2069,74	2026,90	2398,55	1,19
P > F	0,2167	0,2163	0,4968	0,1440
<i>Salmonella</i>				
Com	2026,55	1983,58	2397,35	1,22
Sem	2020,65	1977,90	2314,62	1,18
P > F	0,9103	0,9136	0,1486	0,2489
Doses Alho x <i>Salmonella</i>				
P > F	0,5139	0,5152	0,2664	0,2867
C.V %	7,2429	7,40	6,95	7,60

^{a,b} médias com letras diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Estes resultados corroboram com os encontrados por Freitas et al.²⁴, que também utilizaram o alho descascado e amassado como promotor de crescimento e não encontraram diferenças significativas entre as variáveis analisadas. Corroboram também, com Javandel et al.²⁶, Rahmatnejad et al.²⁷, e Choi et al.²⁸, que utilizaram alho em pó em diferentes dosagens e não observaram influência do mesmo para consumo de ração, ganho de peso e conversão alimentar.

Entretanto, alguns estudos demonstraram resultados diferentes, como Kumar et al.²⁹ que relataram que o alho fornecido a 250 ppm aumentou significativamente o peso corporal de frangos de corte com 42 dias de idade, e Elagib et al.³⁰ que observaram que o nível de 3% de alho aumentou o consumo de ração, o ganho de peso corporal, peso final e melhorou a conversão alimentar.

Os resultados encontrados neste estudo que se diferenciam de alguns autores se respaldam em Peinado et al.³¹ que citam que as discrepâncias dos resultados podem ser atribuídas às diferenças nos produtos utilizados (alho cru, alho em pó, derivados de alho) e às concentrações dos componentes ativos, que diferem consideravelmente entre os experimentos.

Verifica-se também na Tabela 4, que *Salmonella* não interferiu no desempenho dos animais em nenhum dos períodos avaliados. Uma possível causa pode ser o fato de que *Salmonella* Infantis demonstrou ter pouca capacidade de invasão no intestino, quando

comparada a outros sorovares³². Além da virulência, a dose infectante pode ter sido pequena e insuficiente para determinar lesão nas mucosas e não interferiu na absorção dos ingredientes.

Aos oito, 15 e 29 dias os intestinos delgados e os fígados de uma ave por parcela foram pesados, e posteriormente foi realizado o cálculo para peso relativo de cada órgão.

TABELA 5- Peso relativo do intestino delgado aos oito, 15 e 29 dias de idade em frangos de corte com *Salmonella* Infantis e tratados com alho

Intestino Delgado			
Doses Alho	8 dias	15 dias	29 dias
Placebo	8,36 ^b	5,94	3,87 ^b
1,5%	8,51 ^b	6,92	3,80 ^b
3,0%	8,86 ^{ab}	6,21	4,43 ^a
4,5%	10,16 ^a	6,83	4,12 ^{ab}
P > F	0,0035	0,0691	0,0151
<i>Salmonella</i>			
Com	9,16 ^a	6,54	4,22 ^a
Sem	8,83 ^b	6,41	3,89 ^b
P > F	0,4211	0,6623	0,0025
Doses Alho x <i>Salmonella</i>			
P > F	0,0165	0,1768	0,0484
C.V %	10,42	12,72	9,58

^{a,b} médias com letras diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Observa-se na Tabela 5 que ocorreu interação ($P < 0,05$) para as doses de alho administradas e a infecção por *Salmonella* aos oito e 29 dias de idade.

TABELA 6- Desdobramento das interações significativas entre agentes inoculados e utilização de diferentes níveis de alho para as variáveis de peso de intestino delgado aos oito e 29 dias de idade em frangos de corte

Intestino 8 dias		
Doses Alho	<i>Salmonella</i>	
	Com	Sem
Placebo	7,98	8,75 ^{ab}
1,5%	8,26	8,71 ^{ab}
3,0%	9,99 ^A	7,73 ^{bB}
4,5%	10,18	10,13 ^a

TABELA 6- Desdobramento das interações significativas entre agentes inoculados e utilização de diferentes níveis de alho para as variáveis de peso de intestino delgado aos oito e 29 dias de idade em frangos de corte (continuação)

Doses Alho	Intestino 29 dias	
	<i>Salmonella</i>	
	Com	Sem
Placebo	3,79 ^b	3,96
1,5%	3,95 ^b	3,64
3,0%	4,91 ^{aA}	3,94 ^B
4,5%	4,22 ^a	4,02

Médias seguidas por letras maiúsculas (minúscula) diferentes na mesma linha (coluna) indicam diferenças significativas utilizando teste de Tukey a 5%.

Verifica-se na Tabela 6 que aos oito e 29 dias de idade, a dose intermediária do alho (3,0%) promoveu um maior peso do intestino delgado nos animais que receberam *Salmonella* Infantis via oral com um dia de vida.

O maior peso do intestino encontrado nas aves inoculadas pode ser atribuído ao processo inflamatório desencadeado pelo agente inoculado, o que pode ser respaldado em Apaajlahti³³, o qual relatou que os desafios microbiológicos podem gerar inflamação intestinal, com o aumento do número de células de defesa, uma vez que o epitélio intestinal é uma barreira física, fisiológica e imunológica contra patógenos entéricos. E esse aumento da inflamação intestinal com a presença de *Salmonella* Infantis também pode ser respaldada por Setta et al.³⁴ que mostraram que *Salmonella* Infantis coloniza o intestino de forma mais eficiente quando comparada com outros sorovares.

Aos 29 dias de idade, houve interferência do alho nas aves inoculadas, em que se observa os maiores pesos dos intestinos nos tratamentos com 3,0% e 4,5% de alho, sendo os menores valores observados nos tratamentos placebo e com 1,5%.

Esses resultados são diferentes dos encontrados por Carrijo et al.²³ e Freitas Neto et al.²⁴ que não encontraram diferença no peso do intestino delgado de aves suplementadas com alho em pó e alho *in natura* respectivamente. Rahimi et al.²² também não encontraram diferença no peso do intestino nas aves que receberam 0,1% de extrato aquoso de alho em comparação com o tratamento controle, entretanto, o peso no grupo que recebeu o extrato foi maior que no grupo tratado com antibiótico.

TABELA 7- Peso relativo do fígado aos oito, 15 e 29 dias de idade em frangos de corte com *Salmonella* Infantis e tratados com alho

Doses Alho	Peso Fígado		
	8 dias	15 dias	29 dias
Placebo	3,74	3,32	2,14
1,5%	4,07	3,61	2,24
3,0%	3,44	3,26	2,42
4,5%	3,92	3,23	2,36
P > F	0,0510	0,4488	0,0778
Salmonella			
Com	92,95 ^a	3,44	2,30
Sem	92,25 ^b	3,27	2,28
P > F	0,0021	0,3634	0,7802
Doses Alho x Salmonella			
P > F	0,6951	0,3634	0,0043
C.V %	11,82	15,44	9,57

^{a,b} médias com letras diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Na Tabela 7, observa-se que aos oito dias de idade o peso do fígado foi afetado na presença da *Salmonella* ($P < 0,05$), apresentando-se mais pesado nas aves inoculadas, e aos 29 dias de idade ocorreu interação ($P < 0,05$) entre os níveis de alho administrados e a infecção por *Salmonella* (Tabela 8).

TABELA 8 - Desdobramento das interações significativas entre agentes inoculados e utilização de diferentes níveis de alho para as variáveis de peso de fígado aos 29 dias de idade em frangos de corte

Doses Alho	Fígado 29 dias	
	<i>Salmonella</i>	
	Com	Sem
Placebo	1,99 ^b	2,30
1,5%	2,26 ^{ab}	2,21
3,0%	2,69 ^{aA}	2,16 ^B
4,5%	2,27 ^{ab}	2,45

Médias seguidas por letras maiúsculas (minúscula) diferentes na mesma linha (coluna) indicam diferenças significativas utilizando teste de Tukey a 5%.

Analisando o desdobramento da interação da presença da *Salmonella* e utilização do alho (Tabela 8), a dose de 3,0% promoveu maior peso do fígado nos animais inoculados, e nesse grupo o peso foi semelhante para todos os tratamentos que receberam alho e menor nas aves do grupo placebo. Esses resultados corroboram com Raeesi et al.³⁵ que observaram peso relativo do fígado maior no grupo suplementado com 3% de alho. Mas são diferentes de Togashi et al.²⁵ que não observaram diferenças nos pesos do fígado em aves suplementadas com 0, 1,5 e 3,0% de alho *in natura*.

O fígado, baço, os intestinos e a bursa, desempenham um papel fundamental na resposta imune inflamatória³⁶. Estes órgãos estão também envolvidos na síntese de proteínas de fase aguda, na ativação de linfócitos e, portanto na produção de anticorpos³⁷. O aumento do peso do fígado observado neste estudo ocorreu nos animais inoculados sugerindo a ocorrência de um processo infeccioso nesse órgão. Pois, de acordo Roura et al.³⁶ e Xie et al.³⁸, um desafio microbiano com *Salmonella* pode aumentar o peso relativo do fígado, ou o estresse imunológico gerado pode alterar o metabolismo hepático, aumentando a síntese de proteínas de fase aguda e resultar um fígado mais pesado.

Durante os dias três, 13 e 28 dias do experimento foram realizados suabes cloacais e os valores médios de contagem de unidades formadoras de colônias (UFCs), expressos em log, de *E. coli* e *Salmonella* estão apresentados nas Tabela 9.

TABELA 9- Valores médios da contagem de unidades formadoras de colônia expressos em log, de *Escherichia coli* e *Salmonella* em suabes de cloaca de frangos de corte com três, 13 e 28 dias de idade

<i>Escherichia coli</i> (UFC/ 0,1mL) log			
Tratamentos	3 dias	13 dias	28 dias
Placebo	6,431 ^{ab}	2,892 ^c	2,894
1,5%	-	4,055 ^a	3,188
3,0%	-	3,036 ^{bc}	2,932
4,5%	-	INC	2,810
Contr positivo SI	7,521 ^{ab}	3,218 ^{ac}	3,097
1,5% +SI	8,194 ^a	4,057 ^{ab}	3,217
3,0%+SI	6,416 ^b	3,086 ^{ac}	2,988
4,5%+SI	6,498 ^{ab}	INC	3,069
P>Valor X ²	0,2822	0,1588	0,6099
<i>Salmonella</i> (UFC/ 0,1mL) log			
Controle positivo SI	3,898	3,310	-
1,5%+SI	-	3,208	-
3,0%+SI	-	2,926	-
4,5%+SI	5,900	3,398	-
P>Valor X ²	1,000	0,436	

Médias seguidas por letras diferentes na mesma coluna e em mesma faixa etária indicam diferenças significativas utilizando teste de Kruskal-Wallis a 5%. SI: *Salmonella* Infantis, (-): Sem crescimento de *E. coli* e SI; INC: Incontáveis.

Observa-se na Tabela 9, que o alho inibiu o crescimento de *E. coli* aos três dias de idade em todas as doses utilizadas. Já quando se visualizam os tratamentos que receberam *Salmonella* Infantis, este fato não ocorreu. Nota-se nesta idade que o controle com *Salmonella* Infantis foi semelhante aos tratamentos que receberam alho, indicando que as doses quando

administradas com a bactéria não afetaram a população de *E. coli*. Dentre os tratamentos, os animais inoculados que receberam a dose intermediária de alho (3,0%) registraram as menores médias de contagem para *E. coli*.

Observa-se ainda na mesma tabela, na contagem de *Salmonella* aos três dias de idade, que o alho a 1,5 e 3,0% inibiu o crescimento da bactéria, assim como aos 28 dias nas três doses utilizadas.

Aos três dias de vida a microbiota intestinal do frango ainda está em formação e com reduzida carga antimicrobiana, o que explica a ação do alho, inibindo o crescimento de *E. coli*. Sabe-se que os compostos de alho interagem com enzimas importantes dos microrganismos, como a RNA polimerase³⁹, e a menor quantidade de bactérias da microbiota normal fez com que os compostos agissem de forma mais eficaz sobre a *E. coli*. A interação dos compostos de alho com as bactérias é relatada em alguns trabalhos, onde observaram o aumento do número de colônias de bactérias consideradas benéficas, como *Lactobacillus spp.*, e redução de bactérias consideradas maléficas, como a *E. coli*^{40,41}.

Já aos 13 dias de idade verifica-se que a dose de 1,5% de alho apresentou a maior contagem de *E. coli* em relação ao placebo. Analisando os demais dados, verifica-se que o alho estimulou o crescimento de *E. coli* quando fornecido na presença de *Salmonella*. E, na mesma idade, não houve diferenças significativas na contagem de *Salmonella*, indicando que, provavelmente *Salmonella* inoculada não competiu com *E. coli* por nutrientes no intestino. Apesar disso, observou-se redução das médias de contagem nos tratamentos com 1,5 e 3,0% de alho. Aos 28 dias de idade não se observou efeito do alho na população de *E. coli*.

Estes resultados não corroboram com os resultados encontrados por Rahimi et al.²², que detectaram uma redução da contagem de *E. coli* em relação ao grupo controle ao utilizar 0,1% de extrato aquoso de alho. Entretanto, Kumar et al.²⁹ mostraram que a inclusão de alho a 250 ppm na dieta de frangos de corte reduziu a contagem de *E. coli* e *Salmonella*, quando comparado com o grupo controle.

Assim como o observado por este estudo, Ulrich-Lynge et al.⁴² relataram o crescimento de *Salmonella* Infantis em suabes de cloaca em frangos de duas linhagens diferentes até 19 dias de idade. Outro estudo, também demonstrou que a excreção de *Salmonella* Infantis persistiu até o décimo quinto dia pós-infecção em todas as amostras de suabes coletados⁴³.

Aos 28 dias, *Salmonella* Infantis não foi detectada nas amostras de suabes examinadas, em nenhum dos tratamentos. A excreção pode ter sido níveis não detectáveis, ou a *Salmonella* não foi excretada no dia da coleta das amostras considerando sua capacidade de

ser excretada de forma intermitente, ou a ação dos compostos de alho diminuiu a aderência desta bactéria a mucosa do intestino. Estes resultados também podem ser atribuídos à interação de alicina, com outras bactérias intestinais. Além do mais, a possível contribuição dos produtos fitogênicos no controle de patógenos é a estimulação na produção de muco intestinal, que diminui a aderência destas bactérias à mucosa do intestino^{44,45}.

CONCLUSÃO

A inclusão de alho *in natura* não teve efeito nas variáveis de desempenho quando observado o período de um a 35 dias, mas diminuiu a excreção fecal de *Salmonella* Infantis nas doses de 1,5 e 3,0 % de alho.

REFERÊNCIAS

1. Furlan RL, Macari M, Luquetti BC. Como avaliar os efeitos do uso de prebióticos, probióticos e flora de exclusão competitiva. Simpósio técnico de incubação, matrizes de corte e nutrição; 2004; Santa Catarina, Brasil. Balneário Camboriú. Anais. 2004. p. 6-28.
2. Boleli IC, Maiorka A, Macari M. Estrutura funcional do tratodigestório. In: Macari M, Furlan LR, Gonzáles E. editores. Fisiologia Aviária Aplicada a Frangos de Corte. Jaboticabal: FUNEP/UNESP, 2002, p. 75-92.
3. Langhout P. Alternativas ao uso de quimioterápicos na dieta de aves: A visão da indústria e recentes avanços. Conferência apinco de ciência e tecnologia avícolas, 2005. Santos, Anais. FACTA, 2005. p. 21-33.
4. Oliveira MC, Moraes VMB. Mananoligossacarídeos e enzimas em dietas à base de milho e farelo de soja para aves. Ciênc. anim. Bras. 2007; 8 (3): 339-357.
5. Jalahtii JAPA, Kettunen A.. Characteristics of the gastrointestinal microbial communities, with special reference to the chicken. Poult. Sci. 2004; 60: 223–232.
6. Baurhoo B, Ferket PR, Zhao X. Effects of diets containing different concentrations of mannanoligosaccharide or antibiotics on growth performance, intestinal development, cecal and litter microbial populations, and carcass parameters of broilers. Poult. Sci. 2009; 88: 2262–2272.
7. Eeckhaut V, Van Immerseel F, Dewulf J, Pasmans F, Haesebrouck F, Ducatelle R, Courtin CM. Arabinoxyloligosaccharides from wheat bran inhibit *Salmonella* colonization in broiler chickens. Poult. Sci. 2008; 87: 2329–2334.
8. Tsai CW, Chen HW, Sheen LY, Lii CK. Garlic: Health benefits and actions. Bio Medicine. 2012; 2: 17- 29.
9. Filocamo A, Nueno-Palop C, Bisignano C, Mandalari G, Narbad A. Effect of garlic powder on the growth of commensal bacteria from the gastrointestinal tract. Phytomedicine. 2012; 19(8-9): 707-711.
10. Kumar M, Berwal JS. Sensitivity of food pathogens to garlic (*Allium sativum*). J Appl Microbiol. 1998; 84(2): 213-5.
11. Adebolu TT, Adeoye OO, Oyetayo VO. Effect of garlic (*Allium sativum*) on *Salmonella* typhi infection, gastrointestinal flora and hematological parameters of albino rats. Afr. J. Biotechnol. 2011; 10(35): 6804-6808.
12. Araujo JMA. Química De Alimentos: Teoria E Pratica. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa; 2011. 335p
13. Guibourdenche M, Roggentin P, Mikoleit M, Fields PI, Bockemühl J, Grimont PAD, Weill, FX, Supplement 2003 e 2007 (No. 47) to the White-Kauffmann-LeMinor scheme. Res Microbiol. 2010; 161: 26-29.

- 14 Hendriksen RS, Vieira AR, Karlsmose S, Wong DMALF, Jensen AB, Wegener HC, Aarestrup FM. Global monitoring of *Salmonella* serovar distribution from the World Health Organization Global Foodborne Infections Network Country data bank: results of quality assured laboratories from 2001 to 2007. *Foodborne Pathog. Dis.* 2011; 8: 887–899.
15. Almeida F, Pitondo-Silva A, Oliveira MA, Falcão JP. Molecular epidemiology and virulence markers of *Salmonella* Infantis isolated over 25 years in São Paulo State, Brazil. *Infect Genet Evol.* 2013; 19: 145–151.
16. Borsoi A, Santos LR, Rodrigues LB, Moraes, HLS, Salle CTP, Nascimento VP. Behavior of *Salmonella* Heildelberg and *Salmonella* Enteritidis strains following broiler chick inoculation: Evaluation of cecal morphometry, liver and cecum bacterial counts and fecal excretion patterns. *Braz. J. Microbiol.* 2011; 42: 266-273.
17. Rostagno HS, Albino LFT, Donzele JL, Gomes PC, Oliveira RF, Lopes DC, Ferreira AS, Barreto SLT, Euclides RF. Tabelas Brasileiras para Aves e Suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais. 3.ed. Viçosa: EdUFV; 2011. 252p.
18. Grieves DB. Immunophysiology. In: Surkie PD. *Avian Physiology*, 4 ed. Tennessee: Kingsport Press; 1991. 685p.
19. Brasil. Instrução Normativa nº 70, de 06 de outubro de 2003, que institui o Programa de Redução de Patógenos Monitoramento Microbiológico e Controle de *Salmonella* sp. em Carcaças de Frangos e Perus. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2003.
20. Aji SB, Ignatius K, Ado AAY, Nuhu JB, Abdulkarim A, Aliyu U, Gambo MB, Ibrahim, MA, Abubakar H, Bukar MM, Iman HAMI, Numan PT. Effects of Feeding Onion (*Allium cepa*) and Garlic (*Allium sativum*) on Some Performance Characteristics of Broiler Chickens. *Res. J. Poult. Sci.* 2011; 4(2): 22-27.
21. Puvača N, Kostadinović LJ, Ljubojević D, Lukač D, Popović S, Dokmanović B, Stanačev VS. Effects of dietary garlic addition on Productive performance and blood lipid Profile of broiler chickens. *Biotechnol. Anim. Husb.* 2014; 30 (4): 669-676.
22. Rahimi S, Zadeh ZT, Torshizi MAK , Omidbaigi R , Rokni H. Effect of the Three Herbal Extracts on Growth Performance, Immune System, Blood Factors and Intestinal Selected Bacterial Population in Broiler Chickens. *J. Agr. Sci. Tech.* 2011; 13: 527-539.
23. Carrijo AS, Madeira LA, Sartori JR, Pezzato AC, Gonçalves JC, Cruz VC, Kuibida KV, Pinheiro DF. Alho em pó na alimentação alternativa de frangos de corte. *Pesq. agropec. bras.* 2005; 40(7) : 673-679.
24. Freitas R, Fonseca JB, Soares RTRN, Rostagno HS, Soares PR. Utilização do Alho (*Allium sativum* L.) como Promotor de Crescimento de Frangos de Corte. *Rev. bras. zootec.* 2001; 30(3):761-765.
25. Togashi CK, Fonseca JB, Soares RTRN, Costa APD, Ferreira KS, Detmann E. Utilização de alho e cobre na alimentação de frangos de corte. *R. Bras. Zootec.* 2008; 37(6): 1036-1041.

26. Javandel F, Navidshad B, Seifdavati J, Pourrahimi GH, Baniyaghoub S. The favorite dosage of garlic meal as a feed additive in broiler chickens ratios. *Pak. J. Biol. Sci.* 2008; 11: 1746-1749.
27. Rahmatnejad E, Roshanfekar H, Ashayerizadeh O, Mamooee M, Ashayerizadeh A. Evaluation the effect of several non-antibiotic additives on growth performance of broiler chickens. *J. Anim. Vet. Adv.* 2009; 8: 1670-1673.
28. Choi IH, Park WY, Kim YJ. Effects of dietary garlic powder and α -tocopherol supplementation on performance, serum cholesterol levels, and meat quality of chicken. *Poultry Sci.* 2010; 89 :1724–1731.
29. Kumar S, Sharadamma KC, Radhakrishna PM. Effects of a garlic active based growth promoter on growth performance and specific pathogenic intestinal microbial counts of broiler chicks. *Int. J. Poult. Sci.* 2010; 9: 244-246.
30. Elagib HAA, El-Amin WIA, Elamin KM, Malik HEE. Effect of Dietary Garlic (*Allium sativum*) Supplementation as Feed Additive on Broiler Performance and Blood Profile. *J. Anim. Sci. Adv.* 2013; 3(2): 58-64.
31. Peinado MJ, Ruiz R, Echávarri A, Rubio LA. Garlic derivative propyl propane thiosulfonate is effective against broiler enteropathogens in vivo. *Poultry Sci.* 2012; 91 (9): 2148-2157.
32. Berndt A, Wilhelm A, Jugert C, Pieper J, Sachse K, Methner U. Chicken Cecum Immune Response to *Salmonella* enterica Serovars of Different Levels of Invasiveness. *Infect Immun.* 2007; 75(12): 5993–6007.
33. Apaajlahti, J. Comparative gut microflora, metabolic challenges, and potential opportunities. *J Appl Poult Res.* 2005; 14: 444-453.
34. Setta AM, Barrow PA, Kaiser P, Jones MA. Early immune dynamics following infection with *Salmonella* enterica serovars Enteritidis, Infantis, Pullorum and Gallinarum: Cytokine and chemokine gene expression profile and cellular changes of chicken cecal tonsils. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 2012, 35: 397-410.
35. Raeesi M, Hoseini- Aliabad SA, Roofchae A, Shahneh AZ, Pirali S. Effect of Periodically Use of Garlic (*Allium sativum*) Powder on Performance and Carcass Characteristics in Broiler Chickens. *World Acad Sci Eng Technol.* 2010; 4(8); 1388-1394.
36. Roura E, Homedes J, Klasing KC. Prevention of Immunologic Stress Contributes to the Growth-Permitting Ability of Dietary Antibiotics in Chicks. *J. Nutr.* 1992; 122: 2383-2390.
37. Ferket PR, Parks CK, Grimes JL. Benefits of dietary antibiotic and mannanoligosaccharide Supplementation for poultry. Multi-State Poultry Meeting. 2002. Disponível em: <http://www.feedinfo.com/files/multi2002-ferket.pdf>
38. Xie H, Rath NC, Huff GR, Huff WE, Balog JM. Effects of *Salmonella* typhimurium Lipopolysaccharide on Broiler Chickens. *Poultry Sci.* 2000; 79: 33–40.

39. Yun HM, Ban JO, Park KR, Lee CK, Jeong HS, Han SB, Hong JT. Potential therapeutic effects of functionally active compounds isolated from garlic. *Pharmacol Therapeut.* 2014; 142(2): 183–195.
40. Rees LP, Minney SF, Plummer NT, Slater JH, Skyrme DA.. A quantitative assessment of the antimicrobial activity of garlic (*Allium sativum*). *World J. Microbiol. Biotechnol.* 1993; 9: 303-307.
41. Ramiah SK, Zulkifli I, Rahim NAA, Ebrahimi M, Meng GY. Effects of Two Herbal Extracts and Virginiamycin Supplementation on Growth Performance, Intestinal Microflora Population and Fatty Acid Composition in Broiler Chickens. *Asian Australas. J. Anim. Sci.* 2014; 27:375-382.
42. Ulrich-Lynge SL, Dalgaard TS, Norup LR, Kjærup RM, Olsen JR, Sørensen P, Juul-Madsen, HR. The consequence of low mannose-binding lectin plasma concentration in relation to susceptibility to *Salmonella* Infantis in chickens. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2015; 1-2 (163): 23-32.
43. Sousa E, Werther K, Berchieri Junior A, Almeida AM, Candioto CG, Silva AC. Infecção experimental de pintos de um dia de idade com sorotipos de *Salmonella* isolados de instalações avícolas, ave selvagem e suínos. XXII Congresso Latino-Americano de Avicultura; 2011; Buenos Aires, Argentina. Anais. Disponível em: <http://pt.engormix.com/MA-avicultura/saude/artigos/infeccao-experimental-pintos-dia-t533/165-p0.htm>
44. Robyn J, Rasschaert G, Hermans D, Pasmans F, Heyndrickx M. Is allicin able to reduce *Campylobacter jejuni* colonization in broilers when added to drinking water? *Poultry Sci.* 2013; 92 :1408–1418.
45. Windisch, W, Schedle K, Plitzner C, Kroismayr A. Use of phytogetic products as feed additives for swine and poultry. *J Anim Sci.* 2008; 86: 140-148.

CAPITULO 3- EFEITOS DO ALHO (*Allium sativum*) *in natura* SOBRE OS PARAMETROS SANGUÍNEOS DE FRANGOS DE CORTE EXPERIMENTALMENTE INOCULADOS COM *Salmonella* INFANTIS

RESUMO: O presente estudo foi desenvolvido com o objetivo de investigar a capacidade do alho de inibir a invasão de *Salmonella* Infantis experimentalmente inoculada e seus efeitos sobre os parâmetros sanguíneos em frangos de corte. Foram utilizados 256 pintos, machos, de um dia de idade distribuídos em delineamento inteiramente ao acaso com oito tratamentos e quatro repetições cada. As aves foram inoculadas via oral no primeiro dia de idade com 0,5 mL de solução salina tamponada contendo $5,0 \times 10^3$ UFC/mL de *Salmonella* Infantis. O tratamento 1 constituiu o grupo controle; os tratamentos 2, 3 e 4 constituíram os grupos que receberam o alho na dose de 1,5%, 3,0% e 4,5% na ração, respectivamente. O tratamento 5 constitui o grupo que recebeu somente *Salmonella* Infantis; os tratamentos 6, 7 e 8 receberam as mesmas doses de alho na ração mais *Salmonella* Infantis, respectivamente. Aos oito, 15 e 29 dias de idade, baço, tonsilas cecais e conteúdo de quatro aves por tratamento, foram coletados para pesquisa de *Salmonella* e para determinar o peso do baço. Aos 14 e 36 dias de idade, foi coletado sangue para determinação dos parâmetros sanguíneos. Verificou-se que o alho nas doses utilizadas não inibiu a invasão de *Salmonella* para o baço, o que aumentou o seu peso aos 29 dias, mas foi capaz de interferir nos níveis de colesterol. Conclui-se que o alho *in natura* nas doses utilizadas não impede a migração da *Salmonella* Infantis, mas é capaz de influenciar os níveis séricos de colesterol.

Palavras- Chave: baço, colesterol, componentes sanguíneos, fitoterápico, salmoneloses

CHAPTER 3: EFFECTS OF GARLIC (*Allium sativum*) *in natura* ON BLOOD PARAMETERS OF BROILER CHICKENS EXPERIMENTALLY INOCULATED WITH *Salmonella* INFANTIS

ABSTRACT: This study was conducted with the objective to investigate the ability of garlic to inhibit invasion of *Salmonella* Infantis experimentally inoculated and its effects on blood parameters in broilers. In this study 256 one-day-old, male, chicks were distributed in a completely randomized design with eight treatments and four replications each. The poultries were inoculated orally at one-day-old with 0.5 ml of buffered saline containing 5.0×10^3 CFU / mL of *Salmonella* Infantis. Treatment 1 was the control group; treatments 2, 3 and 4 were the groups that received garlic at a dose of 1.5%, 3.0% and 4.5% in the feed, respectively. Treatment 5 was the group that received only *Salmonella* Infantis; treatments 6, 7 and 8 were given the same doses of garlic in the feed more *Salmonella* Infantis, respectively. At eight, 15 and 29 days of age, spleen, cecal tonsils and contents of four birds for each treatment were collected to detect *Salmonella* and determine the weight of the spleen. At 14 and 36 days of age, blood was collected for determination of blood parameters. It was found that the garlic at the doses used did not inhibit the invasion of *Salmonella* into the spleen, which increased its weight at 29 days, but was able to affect cholesterol levels. It concluded that garlic *in natura* at the doses used did not prevent the migration of *Salmonella* Infantis, but is able to influence serum cholesterol levels.

Keywords: blood components, cholesterol, phytotherapy, salmonellosis, spleen

INTRODUÇÃO

Salmonella é um importante agente patogênico, amplamente distribuído na cadeia de produção avícola, e é responsável por provocar doenças em humanos e em animais, tornando-se de grande importância para a saúde pública¹.

As aves infectadas podem eliminar *Salmonella* de forma intermitente e em número baixo pelas fezes, contaminando o ambiente avícola e se disseminando nas unidades de produção, uma vez que a alta densidade no alojamento favorece a instalação, multiplicação e disseminação de *Salmonella*^{2,3}.

A principal via de infecção da salmonelose é a digestiva, e a mucosa intestinal é o local onde se inicia a invasão e também a primeira linha de defesa contra o patógeno. Estruturas linfoides não organizadas, também conhecidas como tecido linfóide associado ao intestino (GALT) são as responsáveis pelas respostas inflamatórias locais e desenvolve-se nos primeiros dias de vida, paralelamente à maturação do trato gastrointestinal e, a partir daí, a bactéria se instala⁴.

Nos últimos anos foram observadas significativas mudanças na predominância de alguns sorovares associados às aves e infecções em humanos, com queda significativa na ocorrência de *Salmonella* Enteritidis, e crescente ocorrência de outros sorovares como Infantis, Agona, Hadar e Virchow, os quais são comprovadamente causadores de infecções em humanos^{5,6}.

Especificamente *Salmonella* Infantis tem sido um dos 15 sorotipos mais isolados nos continentes africano, asiático, europeu, norte-americano, Oceania e países latino-americanos⁷. No Brasil, *Salmonella* Infantis foi isolado a partir de fontes humanas, surtos hospitalares e em alimentos, incluindo maionese e carne de frango⁸.

Existem diferentes medidas de controle de enteropatógenos, com destaque para os antimicrobianos promotores de crescimento, no entanto efeitos colaterais e os efeitos tóxicos residuais nocivos a estes fármacos tem sido reduzido. Pela restrição do uso destas substâncias tem aumentado o uso de aditivos fitogênicos⁹.

Dentre eles situa-se o alho (*Allium sativum*), um suplemento alimentar que tem sido apontado como uma alternativa benéfica sobre o desempenho, a fisiologia e bioquímica de aves. Efeitos benéficos foram observados sobre o crescimento, a eficiência alimentar, a produção e a qualidade dos ovos, a alteração da microbiota benéfica e ação antimicrobiana sobre patógenos, bem como a estimulação do sistema imune e redução dos níveis de colesterol no sangue nas aves¹⁰.

O alho e seu principal composto, a alicina, possui atividade antibacteriana contra bactérias como *Salmonella* e *Escherichia coli*¹¹, *Mycobacterium tuberculosis* e *Staphylococcus aureus*¹², *Helicobacter pylori*^{13,14}, *Campylobacter jejuni*¹⁵; atividade antifúngica¹⁶, atividade antiparasitária^{17,18}, e atividade antiviral¹⁹.

Além disso, de acordo com Borsa²⁰, os constituintes sanguíneos refletem as condições de saúde dos animais, e, contudo não foram verificados na literatura consultada resultados consistentes sobre os valores hematológicos e bioquímicos em frangos de corte suplementados com alho. Por isso a importância de se traçar esse perfil sanguíneo das aves nas diversas situações de experimentação, principalmente ao se utilizar um suplemento alimentar apontado com vários efeitos benéficos à saúde.

Diante disso com o presente estudo objetivou-se avaliar a inclusão de diferentes níveis de alho *in natura* na dieta e seus efeitos sobre a capacidade de inibir a invasão de *Salmonella* Infantis para o baço e trato gastrointestinal, sobre o peso do baço e nos parâmetros sanguíneos.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Núcleo Experimental de Doenças de Aves e no Laboratório de Bacteriologia do Departamento de Medicina Veterinária, Setor Preventiva da Escola de Veterinária e Zootecnia (EVZ) da Universidade Federal de Goiás (UFG).

O protocolo experimental utilizados nesse estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais/ CEUA-UFG sob o nº 093/14.

Delineamento experimental

Foram utilizados 256 pintos da linhagem Cobb, machos, de um dia de idade, divididos em oito tratamentos, com quatro repetições cada, alojados em grupos de 8 aves por unidade experimental, em um total de 32 unidades experimentais com 32 aves por tratamento distribuídas em delineamento inteiramente casualizado. Os frangos de corte de um dia de idade foram pesados, identificados e distribuídos conforme o delineamento do QUADRO 1.

QUADRO 1- Delineamento experimental detalhando os oito tratamentos

Tratamento	<i>Salmonella</i> Infantis	Alho
T1	Não - Solução salina a 0,85%	Não
T2	Não - Solução salina a 0,85%	1,5%
T3	Não - Solução salina a 0,85%	3%
T4	Não - Solução salina a 0,85%	4,5%
T5	Sim (1º dia de idade) - Via ingluvio	Não
T6	Sim (1º dia de idade) - Via ingluvio	1,5%
T7	Sim (1º dia de idade) - Via ingluvio	3%
T8	Sim (1º dia de idade) - Via ingluvio	4,5%

As aves desafiadas e não desafiadas foram alojadas separadamente, mantendo-se a mesma ambiência, em baterias com quatro andares de aço galvanizado, equipadas com comedouros e bebedouros tipos lineares e bandejas para retirada de excretas. As baterias foram aquecidas com uma lâmpada incandescente de 60 W por andar até os 15 dias de idade.

Preparação do inóculo

O inóculo foi preparado com *Salmonella* Infantis isolada de amostras oriundas de suínos cedidas pelo Laboratório de Bacteriologia, da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás e tipificada pelo Laboratório FIOCRUZ (RJ).

A cepa foi replicada em ágar Xylose-Lysine-Tergitol4 (XLT4) e incubada a 37°C por 24h. Em seguida, as células foram suspensas em solução salina tamponada a 0,85%, mantida a 4°C e a concentração de $5,0 \times 10^3$ UFC/ mL para *Salmonella* Infantis foi ajustada com auxílio da escala de Mac Farland²¹.

A concentração foi confirmada por plaqueamento das diluições decimais seriadas em ágar XLT4 com posterior incubação a 37°C e contagem das Unidades Formadoras de Colônia (UFC) de *Salmonella* Infantis.

Inoculação das aves

Com um dia de vida, antes do alojamento, utilizando seringas de 1,0 mL, os pintos foram inoculados, via oral, com 0,5 mL de solução salina tamponada a 0,85%, contendo aproximadamente $5,0 \times 10^3$ UFC (Log 3,699) de *Salmonella* Infantis.

Programa alimentar

O programa alimentar foi constituído por três rações experimentais diferentes: pré-inicial, inicial e crescimento (TABELA 1). As rações fornecidas aos animais foram à base de milho moído e farelo de soja, formuladas de acordo com a composição dos alimentos e exigências nutricionais preconizadas por Rostagno et al.²² O alho foi debulhado, descascado, triturado e pesado, depois foi incorporado à ração basal, onde foi misturado por 15 minutos em misturador em Y ou em rosca. O alho foi adicionado em substituição ao material inerte (amido), de acordo com a quantidade desejada.

Durante todo o período experimental, as aves receberam alimentação e água *ad libitum*.

TABELA 1 – Composição das rações experimentais fornecida aos frangos de corte durante todo o período experimental (1-35 dias de idade)

Ingredientes¹	Pré- Inicial (1-7dias)	Inicial (8-21 dias)	Crescimento (22- 35 dias)
Milho grão	52,838	56,968	59,573
Farelo de soja (45%)	36,243	32,749	29,545
Óleo de soja	2,207	2,174	3,167
Fosfato bicálcico	1,907	1,508	1,273
Calcário	0,898	0,911	0,854
Sal comum	0,494	0,468	0,442
L-lisina HCL	0,287	0,217	0,193
DL-metionina	0,359	0,287	0,256
L-treonina	0,113	0,063	0,043
Premix vitamínico**	0,100	0,100	0,100
Premix mineral***	0,050	0,050	0,050
Inerte (amido)	4,5	4,5	4,5
Total	100,000	100,000	100,000
Composição nutricional calculada			
Energia metabolizável (kcal/kg)	2,960	3,050	3,150
Cálcio (%)	0,942	0,899	0,837
Fósforo Disponível (%)	0,471	0,449	0,418
Sódio (%)	0,224	0,218	0,208
Lisina (%)	1,378	1,198	1,101
Metionina + cistina (%)	0,968	0,844	0,791
Metionina (%)	0,790	0,564	0,525

* Suplemento vitamínico (níveis de garantia por kg do produto): vit. A ,1.680.000UI; vit . D3, 400.000 UI; vit. E, 3500mg; vit. K, 360mg; vit.B1, 436,50mg; vit.B2, 1.200mg; vit.B6, 624mg; vit.B12, 2.400mcg; ác. Fólico, 200mg; ác. pantotênico, 3.120 mg; niacina, 8.400mg; biotina,10.000mcg.

**Suplemento mineral (níveis de garantia por kg do produto): zinco, 17.500 ppm; ferro, 12.500 ppm; cobre, 2.000 ppm; iodo, 187,50 ppm; selênio,75ppm.

*** Digestível

Concentração mínima de butirato de cálcio nas microcápsulas: 45%.

Pesquisa de *Salmonella*

Uma ave por parcela, no total de quatro aves por tratamento, aos oito, 15 e 29 dias de idade, foram insensibilizadas por inalação de CO₂ e posteriormente eutanasiadas e seus baços e tonsilas cecais foram coletados assepticamente para análise bacteriológica. Cerca de

um grama dos fragmentos dos órgãos foram macerados e transferidos para tubos de ensaio contendo água peptona na proporção 1:10 e incubados a 37°C por 24 h.

Após o período de incubação, alíquotas de 1,0 mL da água peptonada foram transferidas para o caldo selenito cistina (CS) e 0,1mL para o caldo Rappaport *Vassiliadis* e incubados a 41°C por 24 h. Posteriormente, com o auxílio de uma alça níquel-cromo, foram realizados repiques nos ágar verde brilhante (VB) e Xylose-Lysine-Tergitol4 (XLT4) e incubadas a 37°C por 24 h. De cada um dos ágar foram selecionadas de três a cinco colônias com características morfológicas de *Salmonella* e repicadas em ágar triplice açúcar-ferro (TSI), seguindo-se incubação a 37°C por 24 h.

As amostras bacterianas que apresentaram reações características compatíveis com as do gênero *Salmonella* foram submetidas aos seguintes testes bioquímicos: produção de indol, produção de H₂S, motilidade, uréase, descarboxilação da lisina, vermelho de metila, utilização do malonato e citrato de Simmons. Aqueles que apresentassem reações bioquímicas compatíveis com *Salmonella* foram submetidos ao teste sorológico com soro polivalente anti-O de *Salmonella*.

Exame biométrico do baço

Também aos oito, 15 e 29 dias de idade, quatro aves por tratamento foram pesadas, eutanasiadas e seus baços foram colhidos e pesados, sendo os valores anotados, realizando-se o cálculo relativo ao peso da ave, de acordo com Grieves²³.

Parâmetros sanguíneos

Aos 14 e 36 dias de idade, quatro aves por tratamento foram submetidas a um jejum de oito horas, insensibilizadas por inalação de CO₂ e posteriormente eutanasiadas, obtendo-se amostras de sangue por venopunção na região coxofemoral, utilizando seringas de 5mL para os animais de 14 dias de idade e de 10 mL para os animais com 36 dias de idade.

Para as aves com 14 dias de idade foram obtidos 5 mL de sangue e em seguida foram acondicionados 1 mL de sangue em tubo comercial contendo anticoagulante fluoreto de sódio e EDTA K3 para glicose, hematócrito e hemoglobina, e 2 mL em tubo sem anticoagulante contendo acelerador de retração de coágulo e gel de separação para as análises bioquímicas.

Para as aves com 36 dias de idade foram obtidos 5 mL de sangue e em seguida foram acondicionados 2 mL em tubo comercial contendo anticoagulante EDTA (EDTA K3) fluoreto de sódio e EDTA K3 para glicose, hematócrito e hemoglobina, e 3 mL de sangue em tubo sem anticoagulante contendo acelerador de retração de coagulo e gel de separação para as análises bioquímicas.

A determinação do hematócrito foi realizada pelo método do microhematócrito, utilizando-se tubo capilar centrifugado a 1200 rpm por 5 minutos, sendo o resultado expresso em porcentagem. A concentração de hemoglobina foi medida através da técnica de cianometahemoglobina.

Para a determinação da glicose o tubo contendo amostra sanguínea foi centrifugado por cinco minutos a 2800 rpm para obtenção do plasma. Imediatamente este tubo foi encaminhado para análise. A determinação dos teores séricos de proteína total, albumina, triglicerídeos, colesterol, aspartato aminotransferase (AST) e ureia foi realizada a partir das alíquotas de soro obtidos dos tubos com sangue sem anticoagulante após centrifugação a 2800 rpm. As alíquotas foram organizadas em tubos de polipropileno, tipo eppendorf e congelados até o momento da análise. O congelamento foi de - 20 °C. Todas as análises bioquímicas foram realizadas com kit comercial Labtest®, e as análises em analisador automático Wiener Lab® CM 200.

Também foram determinados os teores séricos de creatinina mediante a utilização de kits comerciais (Labtest®). As leituras dessas amostras foram realizadas no analisador bioquímico semi-automático Bio® 2000.

Para a determinação de globulina foi realizado o cálculo da diferença entre as proteínas totais e albumina.

Análise estatística

Os resultados dos parâmetros sanguíneos e dos pesos dos baços foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias foram comparadas quando necessário pelo teste de Tukey a 5%. Para isso foi utilizado o programa estatístico SAS (Statistical Analysis System 9.2).

Para os estudos de colonização de *Salmonella* Infantis foi utilizado teste descritivo considerando apenas a frequência encontrada nas variáveis.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em todo o período experimental, os sinais clínicos foram diariamente observados e anotados. Além disso, a mortalidade das aves foi ao acaso independente dos tratamentos realizados, pois se observou que o número de mortos foi semelhante nos grupos inoculados ou não.

Na Tabela 1 encontram-se os resultados da pesquisa de *Salmonella* Infantis em órgãos de frangos de corte. Não houve crescimento de *Salmonella* nas aves do grupo controle negativo.

TABELA 1 - Frequência de isolamento de *Salmonella* Infantis (SI) em tonsilas cecais e baços de frangos de corte alimentados com alho aos oito, 15 e 29 dias de idade

	Inerte+SI	Alho 1,5%+SI	Alho 3% + SI	Alho 4,5% +SI
Tonsilas cecais e conteúdo				
8 dias	50% (2/4)	0% (0/4)	75%(3/4)	66,7%(4/4)
15 dias	50% (2/4)	25%(1/4)	50%(2/4)	50%(3/4)
29 dias	25% (1/4)	75% (3/4)	25%(1/4)	0% (0/4)
Total	41,66%(5/12)	33,33% (4/12)	50% (6/12)	58,33% (7/12)
Baço				
8 dias	25% (1/4)	0% (0/4)	0% (0/4)	50%(3/4)
15 dias	100% (4/4)	100% (4/4)	75%(3/4)	75%(3/4)
29 dias	25% (1/4)	50% (2/4)	50%(2/4)	50%(2/4)
Total	50% (6/12)	50% (6/12)	41,66%(5/12)	66,66%(8/12)

Observa-se na Tabela 1, que durante toda fase experimental *Salmonella* Infantis foi recuperada em todos os tratamentos e idades com frequência variada, com exceção do dia oito no ceco e no baço com a utilização de 1,5% de alho e no baço com 3,0% de alho. Neste caso, provavelmente o alho impediu a colonização da *Salmonella*, assim como sua migração para o baço. Sabe-se que a idade é um fator de resistência da *Salmonella*²⁴, no entanto neste estudo a frequência de isolamento aumentou com a idade tanto no baço quanto na tonsila e ceco.

A detecção da bactéria no baço pode ser explicada pela patogênese de *Salmonella* no organismo das aves. Embora nesta idade as tonsilas cecais sejam imaturas, a bactéria penetra nas células epiteliais especializadas ou tecido linfóide, é fagocitada, sobrevive dentro dos macrófagos e se dissemina para órgãos internos, tais como o fígado e o baço^{25,26}.

Os dados encontrados neste estudo se respaldam em Ulrich-Lynge et al.²⁷ que observaram a ocorrência de *Salmonella* Infantis no ceco e baço de duas linhagens diferentes de frango de corte experimentalmente inoculados apenas até os seis dias de idade.

Salmonella Infantis foi recuperada em todos os tratamentos até os 29 dias de idade (Tabela 1). Este achado pode ser explicado pelas considerações de Setta et al.²⁸ que observaram a alta capacidade de *Salmonella* Infantis de colonizar o intestino, sem estimular a expressão dos mediadores da resposta imune, o que possibilita sua presença em idade mais avançada. Acrescenta-se ainda que a permanência de *Salmonella* Infantis nos órgãos de aves mais velhas foi observado por Yokoyama et al.²⁹ em aves com 60 dias de idade. A presença de *Salmonella* Infantis em baço e conteúdo cecal até os 29 dias neste estudo, corroboram os achados de Sousa et al.³⁰ que recuperaram esta bactéria no baço e ceco aos 15 e aos 21 dias.

Verifica-se ainda que o alho *in natura* nas doses utilizadas neste estudo, apresentaram resultados inconsistentes frente a inativação do patógeno, o que pode ser atribuído em concordância com Agamase et al.³¹ e Borlinghaus et al.³² que relataram que a instabilidade, o metabolismo e a baixa biodisponibilidade dos compostos do alho podem influenciar nos efeitos bactericidas.

As aves foram observadas diariamente e os sinais clínicos mais comuns foram registrados. Nas duas primeiras semanas do experimento, os sinais consistiram na presença de excretas mais liquefeitas que em determinadas situações causaram tamponamento de cloaca o que indica disfunção intestinal. Esses sinais clínicos se respaldam em Barrow³³ e Freitas Neto et al.³⁴, os quais relatam que a infecção de aves jovens por via oral é rapidamente seguida pela multiplicação rápida da *Salmonella* no intestino, culminando em um quadro de diarreia.

Após 15 dias de vida as aves não apresentaram nenhum sinal clínico, no entanto *Salmonella* se mostrou presente até os 29 dias, indicando que os frangos se tornam portadores inaparentes, e podem constituir em risco potencial a saúde pública.

Também foi realizado o peso dos baços aos oito, 15 e 29 dias (Tabela 2).

TABELA 2 - Peso relativo do baço aos oito, 15 e 29 dias de idade em frangos de corte com *Salmonella* Infantis e tratados com alho

Doses Alho	Peso Baço		
	8 dias	15 dias	29 dias
Placebo	0,07	0,07	0,09
1,5%	0,07	0,10	0,10
3,0%	0,07	0,09	0,11
4,5%	0,09	0,08	0,10
P > F	0,4201	0,2375	0,3089

TABELA 2 - Peso relativo do baço aos oito, 15 e 29 dias de idade em frangos de corte com *Salmonella* Infantis e tratados com alho (continuação)

<i>Salmonella</i>			
Com	0,08	0,09	0,11 ^a
Sem	0,07	0,09	0,09 ^b
P > F	0,6796	0,9009	0,0193
Doses Alho x <i>Salmonella</i>			
P > F	0,2655	0,3673	0,8906
C.V %	28,30	32,58	20,37

^{a,b} médias com letras diferentes diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5%

Observa-se na Tabela 2, que houve diferença significativa ($P < 0,05$) aos 29 dias em relação ao peso do baço, somente nas aves inoculadas com *Salmonella* Infantis.

O peso de órgãos linfoides é comumente utilizado para estimar a imunidade das aves, pois é facilmente medido e reflete a capacidade do organismo em produzir células linfoides durante uma resposta imune³⁵. O aumento encontrado neste estudo indica resposta à presença do patógeno no órgão, uma vez que ele faz parte do sistema macrocítico-fagocitário, e pode ser uma resposta do animal frente à infecção pela bactéria³⁶.

Assim, o aumento do baço observado aos 29 dias de idade se deve ao fato de que os órgãos linfoides como a bursa de Fabrício e o timo produzem linfócitos, que migram para outros órgãos como baço, tonsilas cecais e fígado, e atuam como mediadores inflamatórios em processos infecciosos, passando da corrente sanguínea e tecidos linfoides para o local da inflamação³⁴. Essa alteração apenas aos 29 dias de idade pode ser entendida pela fraca capacidade de *Salmonella* Infantis estimular o sistema imunológico^{28,37}, e pela maturidade dos órgãos linfoides, que respondem melhor ao agente com o avançar da idade.

Apesar de não ter ocorrido efeito do alho neste estudo, Elagib et al.³⁸ e Raeesi et al.³⁹ observaram peso menor e maior do baço, respectivamente, em dietas suplementadas com alho em pó.

Aos 14 e 36 dias de idade foram coletadas amostras de sangue para a determinação dos níveis de parâmetros bioquímicos sanguíneos, além da determinação de hemoglobina e hematócrito (Tabelas 3 e 4)

TABELA 3- Valores de ureia, creatinina, glicose, aspartato aminotransferase (AST), hematócrito (Ht) e hemoglobina (Hb) de frangos de corte com 14 e 36 dias de idade, suplementados com alho e inoculados ou não com *Salmonella* Infantis

14 dias de idade						
Doses Alho	Ureia (mg/dL)	Creatinina (mg/dL)	Glicose (mg/dL)	AST (UI/L)	Ht (%)	Hb (g/dL)
Placebo	4,17	0,21	250,98	340,30	32	7,29
1,5%	4,41	0,22	271,97	349,08	33	8,09
3,0%	3,69	0,24	243,28	354,66	32	7,57
4,5%	4,13	0,24	256,50	341,94	32	7,19
P > F	0,0851	0,7547	0,1306	0,9590	0,8957	0,2644
<i>Salmonella</i>						
Com	5,84 ^a	0,29 ^a	260,74	352,38	32	7,29
Sem	2,18 ^b	0,17 ^b	248,45	340,92	33	7,68
P > F	<0,0001	<0,0001	0,7648	0,6497	0,1594	0,2177
Doses Alho x <i>Salmonella</i>						
P > F	0,2558	0,1105	0,9356	0,2850	0,2870	0,7605
C.V %	40,02	28,29	20,30	13,76	8,78	10,84

36 dias de idade						
Doses Alho	Ureia (mg/dL)	Creatinina (mg/dL)	Glicose (mg/dL)	AST (UI/L)	Ht (%)	Hb (g/dL)
Placebo	4,59	0,32	249,98	330,35	34	7,10
1,5%	3,10	0,35	226,36	334,80	36	7,70
3,0%	3,03	0,22	238,49	319,48	36	7,74
4,5%	4,41	0,26	242,98	291,59	35	7,66
P > F	0,0871	0,1690	0,0737	0,7797	0,1833	0,0471
<i>Salmonella</i>						
Com	3,75	0,27	234,25	314,30	36 ^a	7,71
Sem	3,72	0,31	244,65	322,53	34 ^b	7,39
P > F	0,9524	0,2586	0,9796	0,7651	0,0403	0,0723
Doses Alho x <i>Salmonella</i>						
P > F	0,0733	0,8896	0,4051	0,3461	0,2639	0,2349
C.V %	37,67	43,21	31,89	26,59	5,84	6,48

^{a,b} médias com letras diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Observa-se na Tabela 3, que para os parâmetros bioquímicos estudados, houve diferença significativa ($P < 0,05$) nos valores de ureia e creatinina somente aos 14 dias.

O aumento da taxa de ureia foi significativo ($P < 0,05$) nas aves com *Salmonella*. Como já mencionado anteriormente, a bactéria é capaz de invadir órgãos linfoides e provocar infecção sistêmica promovendo lesão hepática, que pode levar ao aumento da ureia. Este

achado pode ser respaldado em Campbel⁴⁰ e Lumeij⁴¹ que citaram que as aves são uricotélicas, e a ureia se forma no fígado como subproduto do metabolismo de proteínas, portanto sua concentração é influenciada pelo estado fisiológico do fígado, que provavelmente estava sendo colonizado pela *Salmonella*.

A semelhança dos resultados deste estudo, Onu⁴², Jimoh et al.⁴³ e Oleforuh-Okoleh et al.⁴⁴ também não encontraram diferenças nos níveis de ureia e creatinina em aves que receberam dietas contendo diferentes doses de alho.

A creatinina também se apresentou aumentada nas aves que receberam *Salmonella*, mas se manteve dentro dos padrões considerados normais, 0,1 e 0,4 mg/dL⁴⁵. Ela tem pouco valor diagnostico em aves, uma vez que seu precursor, a creatina, é excretada pelos rins antes de se transformar em creatinina. Neste estudo, não se observou a correlação entre a idade e a creatinina, mas isso foi relatado por Rajman et al.⁴⁶ que observaram que as concentrações de creatinina são diretamente proporcionais à massa muscular e inversamente à idade.

Como pode ser visualizado na Tabela 3, houve influencia da *Salmonella* no valor do hematócrito aos 36 dias de idade, em que se observa maior valor nas aves inoculadas, apesar de estar dentro dos valores considerados normais para a espécie, que para frangos de corte clinicamente saudáveis podem sofrer uma variação de 30,6 a 37%⁴⁷. E os valores de hemoglobina podem variar de 7,0 a 13,0 g/dL²⁰.

Neste estudo as aves inoculadas apresentaram maiores valores de hematócrito, dentro dos padrões normais, mostrando que as aves estavam bem nutridas e com capacidade imune adequada até os 36 dias de idade⁴², sugerindo que *Salmonella* Infantis não possui nenhum efeito sobre as hemácias e não possui características patológicas de outros sorovares, como *Salmonella* Galinarum⁴⁸.

Apesar de não ter sido observado efeito do alho neste estudo, há relatos da influencia do mesmo sobre o hematócrito e a hemoglobina. Oleforuh-Okoleh et al.⁴⁴ encontraram aumento nos valores de hemoglobina e hematócrito das aves alimentadas com extrato aquoso de alho. Todavia, Prasad et al.⁴⁹ e Elagib et al.³⁸ observaram redução da hemoglobina nas aves suplementadas com alho e atribuíram esses achados à presença de alguns componentes hemolíticos bioativos do alho e /ou seus metabólitos. E também, corroborando com os achados deste estudo, Onu⁴² não encontrou diferenças para esses parâmetros em aves tratadas com alho.

As aves deste estudo não apresentaram diferenças significativas ($P>0,05$) nos níveis de glicose, mesmo estando em jejum o que corrobora com Rajman et al.⁴⁶ que

observaram que as concentrações de glicose se mantinham as mesmas em longos períodos de restrição alimentar em frangos de corte. Além disso, estavam dentro dos valores normais para aves saudáveis, que de acordo com Campbell⁴⁰, varia de 200 a 500 mg/dL.

Como pode ser visualizado na Tabela 3, não houve diferença significativa ($P>0,05$) entre os valores de AST, embora se apresentassem elevados em todos os tratamentos. A AST não é específica para dano hepatocelular nem para lesão muscular, pois ela apresenta alta atividade no fígado, músculo esquelético e cardíaco, cérebro e rins, mas em caso de suspeitas de lesão hepática, a alteração dos valores pode auxiliar no diagnóstico⁵⁰. Neste estudo verificou-se um aumento leve a moderado (acima de 275 e 350 UI/L, respectivamente) como o proposto por Campbell⁴⁰ e Capitelli e Crosta⁵¹.

Estudos relatam que o alho não produziu efeito nos valores de AST em aves⁴³ e em suínos⁵², mas a suplementação de alho em pó reduziu numericamente os níveis séricos de ALT e AST e sugeriram que o alho não tem efeito tóxico no fígado.

TABELA 4 - Valores de proteínas totais, albumina, globulina, colesterol e triglicerídeos de frangos de corte com 14 e 36 dias de idade, suplementados com alho e inoculados ou não com *Salmonella* Infantis

14 dias de idade					
Doses Alho	Proteínas (g/dL)	Albumina (g/dL)	Globulina (g/dL)	Colesterol (g/dL)	Triglicerídeos (mg/dL)
Placebo	2,77	1,43	1,34	159,05	45,35
1,5%	3,17	1,60	1,57	172,33	43,92
3,0%	2,84	1,40	1,44	158,50	43,41
4,5%	3,01	1,46	1,54	150,63	35,43
P > F	0,1310	0,0815	0,2192	0,0899	0,4979
<i>Salmonella</i>					
Com	3,05	1,41 ^b	1,64 ^a	158,26	42,11
Sem	2,81	1,52 ^a	1,29 ^b	160,37	41,44
P > F	0,0787	0,0336	0,0006	0,7828	0,3273
Doses Alho x <i>Salmonella</i>					
P > F	0,6311	0,8486	0,4995	0,1822	0,9312
C.V %	11,22	9,83	15,80	9,32	13,66

TABELA 4 - Valores de proteínas totais, albumina, globulina, colesterol e triglicerídeos de frangos de corte com 14 e 36 dias de idade, suplementados com alho e inoculados ou não com *Salmonella* Infantis (continuação)

36 dias de idade					
Doses Alho	Proteínas (g/dL)	Albumina (g/dL)	Globulina (g/dL)	Colesterol (g/dL)	Triglicerídeos (mg/dL)
Placebo	3,24	1,33	1,91	112,57 ^{ab}	23,33
1,5%	3,34	1,31	2,03	108,64 ^b	25,27
3,0%	3,24	1,41	1,83	127,80 ^a	32,69
4,5%	3,14	1,30	1,84	112,33 ^{ab}	21,38
P > F	0,7525	0,2729	0,4448	0,0430	0,6021
<i>Salmonella</i>					
Com	3,36	1,34	2,02 ^a	108,27 ^b	25,69
Sem	3,12	1,34	1,79 ^b	122,40 ^a	25,18
P > F	0,0809	0,9182	0,0290	0,0069	0,4133
Doses Alho x <i>Salmonella</i>					
P > F	0,5373	0,2785	0,7451	0,0663	0,5894
C.V %	11,16	8,91	14,65	11,72	14,75

^{a,b} médias com letras diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Observa-se na Tabela 4, que houve diferenças significativas ($P < 0,05$) dos valores de albumina aos 14 dias de idade, onde os maiores valores ocorreram em aves não inoculadas. Observa-se ainda, que os valores de globulina foram maiores nas duas idades nos tratamentos que receberam a bactéria.

No presente estudo, os valores de proteínas séricas totais em todos os tratamentos variaram entre 2,81 e 3,36 nas duas idades analisadas. Esses valores observados estão de acordo com os estabelecidos por Campbell⁴⁰ que afirmou que concentrações das proteínas plasmáticas totais nas aves variam de 2,5 a 4,5 g/dL.

Aos 14 dias os valores de albumina se apresentaram menores em aves inoculadas, mas ainda assim permaneceram entre 35% e 50% da concentração total de proteínas como o estabelecido por Lumeij⁴¹. A semelhança dos dados observados neste estudo, Onu⁴² e Fadlalla et al.⁵³ não encontraram diferenças nos valores de proteínas totais e albumina, ao suplementarem frangos com diferentes doses de alho em pó. Apesar desses resultados, também foi relatado diferenças com a presença de alho na dieta, onde os maiores valores de proteínas e albumina foram observados em frangos tratados com 50 mL de extrato aquoso de alho, quando comparado à dieta controle⁴⁴.

Verificou-se também maiores concentrações de globulinas em aves inoculadas com *Salmonella* aos 14 e 36 dias de idade, o que sugere reação inflamatória, imune ou

infecciosa e provavelmente, maior atividade do sistema imune, uma vez que as imunoglobulinas são anticorpos produzidos por plasmócitos quando estimulados por antígenos. Essa resposta é fundamental para restringir a invasão intestinal de *Salmonella* e sua posterior disseminação para outros órgãos^{54,55}, mas ela pode ter sido fraca, o que é uma característica do sorovar, pois a bactéria foi isolada até os 29 dias de idade.

Neste estudo não foi observado efeito significativo do alho nos teores de globulina, o que corrobora com Onu⁴² e Fadlalla et al.⁵³ que também não observaram diferenças nos teores de globulina em frangos alimentados com alho em pó. Entretanto, Oleforuh-Okoleh et al.⁴⁴ encontraram maiores valores de globulinas em dietas com extrato aquoso de alho.

Os valores dos níveis de colesterol mostrados na Tabela 4 variaram entre 108,27 e 172,33 g/ dL nas duas idades analisadas e todos os tratamentos. Esses valores observados estão de acordo com os estabelecidos por Campbell⁴⁰ e Capitelli e Crosta⁵¹ que afirmaram que as concentrações séricas de colesterol totais nas aves variam de 100 a 250 mg/ gL, e podem ser afetadas pela hereditariedade, nutrição, sexo, idade e condições ambientais.

Aos 36 dias de idade observou-se na Tabela 4 que as taxas de colesterol foram afetadas tanto pelas doses de alho quanto pela presença de *Salmonella*. O menor valor foi observado no tratamento com 1,5% de alho, porém não diferiu significativamente dos tratamentos placebo e com 4,5% de alho. Estes resultados são diferentes dos observados por Choi et al.⁵⁶ que verificaram a redução do colesterol total conforme o nível de alho em pó na ração foi aumentado. Já Mansoub⁵⁷ e Oleforuh-Okoleh et al.⁴⁴ relataram reduções no colesterol total quando os frangos foram suplementados com 1 g / kg de alho em pó e extrato aquoso de alho, respectivamente.

Neste trabalho, apesar da diferença nos níveis de colesterol, o mesmo não ocorreu com os triglicerídeos. Esses resultados foram observados por Issa e Omar⁵⁸ que relataram a diminuição de colesterol e triglicerídeos quando fornecidos 0,2 e 0,4% de alho em pó, em comparação ao controle. Resultados idênticos também foram relatados por Rahimi et al.⁵⁹ e Puvača et al.⁶⁰ quando forneceram extrato aquoso de alho e alho em pó, respectivamente. Outros trabalhos também relatam o efeito do alho apenas na redução dos triglicerídeos Jimon et al.⁴³ ou em nenhum dos dois níveis⁶¹.

Em relação aos menores valores encontrados no nível sérico de colesterol nas aves inoculadas (Tabela 4), pode ser devido ao comprometimento hepático causado pela presença de *Salmonella* no fígado, uma vez que o colesterol é sintetizado nesse órgão, o que pode ser respaldado em Garcia⁶², ressaltando que o mesmo trabalhou com *Salmonella Gallinarum*.

CONCLUSÃO

Nos níveis estudados, o alho *in natura* não impede a migração da *Salmonella* Infantis para o baço e a mantém no trato gastrointestinal. O alho *in natura* interferiu nos níveis de colesterol, assim como *Salmonella* Infantis.

REFERENCIAS

1. Brenner FW, Villar RG, Angulo FJ, Tauxe R, Swaminathan B. *Salmonella* nomenclature J Clin Microbiol. 2000; 38 (7): 2465-2467.
2. Back A. Por que os programas de controle para salmonela em aves falham?, 2009. [acesso em 20 de janeiro de 2015] Disponível em: <http://pt.engormix.com/MA-avicultura/saude/artigos/por-programas-controle-salmonela-t207/165-p0.htm>
3. Barancelli GV, Martin JGP, Porto E. *Salmonella* em ovos: relação entre produção e consumo seguro. Seg Alim Nutri. 2012; 19 (2): 73-82.
4. Montassier HJ. Fisiologia do sistema imune. In: Berchieri Jr A, Silva EN, Fábio J, Sesti L, Zuanaze MAF, editores. Doença das Aves. 2ª ed. Campinas: FACTA; 2009. p.391-434.
5. Freitas Neto OC, Penha Filho RAC, Barrow P, Berchieri Junior A. Sources of human non-typhoid salmonellosis: a review. Rev. Bras. Cienc. Avic. 2010; 12 (1): 1-11.
6. Foley SL, Nayak R, Hanning IB, Johnson TJ, Han J, Ricke SC. Population dynamics of *Salmonella* enterica serotypes in commercial egg and poultry production. Appl Environ Microb. 2011; 77 (13): 4273-4279.
7. Hendriksen RS, Vieira AR, Karlsmose S, Wong DMALF, Jensen AB, Wegener HC, Aarestrup FM. Global monitoring of *Salmonella* serovar distribution from the World Health Organization Global Foodborne Infections Network Country data bank: results of quality assured laboratories from 2001 to 2007. Foodborne Pathog. Dis. 2011; 8: 887–899.
8. Almeida F, Pitondo-Silva A, Oliveira MA, Falcão JP. Molecular epidemiology and virulence markers of *Salmonella* Infantis isolated over 25 years in São Paulo State, Brazil. Infect Genet Evol. 2013; 19: 145–151.
9. Dhama K, Latheef SK, Mani S, Samad HA, Karthik K, Tiwari R, Khan RU, Alagawany M, Farag MR, Alam GM, Laudadio V, Tufarelli V. Multiple Beneficial Applications and Modes of Action of Herbs in Poultry Health and Production-A Review. Int. J. Pharmacol. 2015; 11: 152-176.
10. Khan RU, Nikousefat Z, Tufarelli V, Naz S, Javdani M, Laudadio V. Garlic (*Allium sativum*) supplementation in poultry diets: effect on production and physiology. Worlds Poult Sci J. 2012; 68 (3): 417-424.
11. Johnson MG, Vaughn RH. Death of *Salmonella* typhimurium and *Escherichia coli* in the Presence of Freshly Reconstituted Dehydrated Garlic and Onion. Applied Microbiology. 1969;17(6): 903-905.
12. Viswanathan V, Phadatare AG, Mukne A. Antimycobacterial and Antibacterial Activity of *Allium sativum* Bulbs. Indian J Pharm Sci. 2014; 76(3): 256–261.
13. O’Gara EA, Hill DJ, Maslin DJ. Activities of garlic oil, gar- lic powder, and their diallyl constituents against *Helicobacter pylori*. Appl Environ Microbiol. 2000; 66: 2269–2273.

14. Sivam GP. Protection against *Helicobacter pylori* and other bacterial infections by garlic. *J Nutr.* 2001; 131(3):1106-1108.
15. Robyn J, Rasschaert G, Hermans D, Pasmans F, Heyndrickx M. Is allicin able to reduce *Campylobacter jejuni* colonization in broilers when added to drinking water? *Poultry Sci.* 2013; 92 (5): 1408-1418.
16. Kim YS, Kim KS, Han I, Kim MH, Jung MH, Park HK. Quantitative and Qualitative Analysis of the Antifungal Activity of Allicin Alone and in Combination with Antifungal Drugs. *PlosOne.* 2012; 7(6): 1-8.
17. Corral MJ, Serrano DR, Moreno I, Torrado JJ, Domínguez M, Alunda JM. Efficacy of low doses of amphotericin B plus allicin against experimental visceral leishmaniasis. *J Antimicrob Chemother.* 2014; 69(12): 3268-3274.
18. Feng Y, Zhu X, Wang Q, Jiang Y, Shang H, Cui L, Cao L. Allicin enhances host pro-inflammatory immune responses and protects against acute murine malaria infection. *Malar J.* 2012; 11(268): 1-9.
19. Ankri S, Mirelman D. Antimicrobial properties of allicin from garlic. *Microbes Infect.* 1999; 2: 125-129.
20. Borsa A. Valores hematológicos em frangos de corte de criação industrial. *Colloquium Agrariae.* 2009; 5(1): 25 – 31.
21. Borsoi A, Santos LR, Rodrigues LB, Moraes, HLS, Salle CTP, Nascimento VP. Behavior of *Salmonella Heidelberg* and *Salmonella Enteritidis* strains following broiler chick inoculation: Evaluation of cecal morphometry, liver and cecum bacterial counts and fecal excretion patterns. *Braz. J. Microbiol.* 2011; 42: 266-273
22. Rostagno HS, Albino LFT, Donzele JL, Gomes PC, Oliveira RF, Lopes DC, Ferreira AS, Barreto SLT, Euclides RF. Tabelas Brasileiras para Aves e Suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais. 3.ed. Viçosa: EdUFV; 2011. 252p.
23. Grieves DB. Immunophysiology. In: Surkie PD. *Avian Physiology*, 4 ed. Tennessee: Kingsport Press; 1991. 685p.
24. Andrade MA, Mesquita AJ, Stringhini JH, Chaves LS, Mattos MS, Moraes DMC. Excreção fecal de *S. Enteritidis* em duas linhagens de frangos de corte. *Ci. Anim. Bras.* 2007; 8(4): 757-765.
25. Barrow, PA & Freitas Neto, OC. Pullorum disease and fowl typhoid—new thoughts on old diseases: a review. *Avian Pathol.* 2011; 40 (1):1-13
26. Rocha TM, Santana ES, Chaves LS, Mendes FR, Andrade, MA. Inoculação experimental de *Salmonella enteritidis* fagotipo 4, via oral em pintos de corte de um dia da linhagem gris barre cou plume. *Enciclopedia Biosfera.* 2013;16(9):1309-1319.
27. Ulrich-Lynge SL, Dalgaard TS, Norup LR, Kjærup RM, Olsen JR, Sørensen P, Juul Madsen, HR. The consequence of low mannose-binding lectin plasma concentration in

- relation to susceptibility to *Salmonella* Infantis in chickens. Vet. Immunol. Immunopathol. 2015; 1-2 (163): 23-32.
28. Setta AM, Barrow PA, Kaiser P, Jones MA. Early immune dynamics following infection with *Salmonella* enterica serovars Enteritidis, Infantis, Pullorum and Gallinarum: Cytokine and chemokine gene expression profile and cellular changes of chicken cecal tonsils. Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis. 2012, 35: 397-410.
 29. Yokoyama E, Ando N , Ohta T , Kanada A, Shiwa Y , Ishige T , Murakami K , Kikuchi T, Murakami S. A novel subpopulation of *Salmonella enterica* serovar Infantis strains isolated from broiler chicken organs other than the gastrointestinal tract. Vet. Microbiol. 2015; 175: 312-318.
 30. Sousa E, Werther K, Berchieri Junior A, Almeida AM, Candioto CG, Silva AC. Infecção experimental de pintos de um dia de idade com sorotipos de *Salmonella* isolados de instalações avícolas, ave selvagem e suínos. XXII Congresso Latino-Americano de Avicultura; 2011; Buenos Aires, Argentina. Anais. Disponível em: <http://pt.engormix.com/MA-avicultura/saude/artigos/infeccao-experimental-pintos-dia-t533/165-p0.htm>
 31. Amagase H, Petesch BL, Matsuura H, Kasuga S, Itakura Y. Intake of garlic and its bioactive components. J. Nutr. 2001; 131(3): S955-S962.
 32. Borlinghaus J , Albrecht F, Gruhlke MCH , Nwachukwu ID, Slusarenko AJ. Allicin: Chemistry and Biological Properties. Molecules. 2014; 19: 12591-12618.
 33. Barrow PA. The paratyphoid salmonellae. Rev. sci. tech. Off. int. Epiz. 2000; 19(2): 351-375.
 34. Freitas Neto OC, Arroyave WH, Alessi AC, Fagliari JJ, Berchieri Júnior A. *Salmonella* Gallinarum: Clinical, anatomopathological and haematological studies. Rev. Bras. Cienc. Avic. 2007; 9 (2): 133-141.
 35. Vogt LK. Avaliação da imunocompetência e alternativas para a modulação nutricional de frangos de corte. [Tese]. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Agronomia; 2005.
 36. Chaves LS. Frangos de corte de crescimento lento e rápido, oriundos de ovos inoculados com probiótico, submetidos a desafio com *Salmonella* Enteritidis e jejum após a eclosão. [Dissertação]. Goiânia: Universidade Federal de Goiás, Escola de Veterinária; 2007.
 37. Berndt A, Wilhelm A, Jugert C, Pieper J, Sachse K, Methner U. Chicken Cecum Immune Response to *Salmonella* enterica Serovars of Different Levels of Invasiveness. Infect Immun. 2007; 75(12): 5993–6007.
 38. Elagib HAA, El-Amin WIA, Elamin KM, Malik HEE. Effect of Dietary Garlic (*Allium sativum*) Supplementation as Feed Additive on Broiler Performance and Blood Profile. J. Anim. Sci. Adv. 2013; 3(2): 58-64.
 39. Raeesi M, Hoseini- Aliabad SA, Roofchae A, Shahneh AZ, Pirali S. Effect of Periodically Use of Garlic (*Allium sativum*) Powder on Performance and Carcass Characteristics in Broiler Chickens. World Acad Sci Eng Technol. 2010; 4(8): 1388-1394.

40. Campbell TW. Clinical Chemistry of Birds. In: Thrall MA, Baker DC, Campbell TW, DeNicola D, Fettman MJ, Lassen ED, Rebar A, Weiser G. Veterinary Hematology and Clinical Chemistry. Philadelphia: Lippincott: Williams & Wilkins; 2004. p 479-491.
41. Lumeij JT. Avian clinical biochemistry. In: Kaneko JJ, Harvey JW, Bruss ML. Clinical Biochemistry of Domestic Animals [online] 6 ed. Waltham: Academic Press. 2008. P 839-872 [acesso 10 junho 2015]. Disponível em: <https://umkcarnivores3.files.wordpress.com/2012/02/clinical-biochemistry-of-domestic-animals-sixth-edition.pdf>
42. Onu, PN. Evaluation of two herbal spices as feed additives for finisher broilers. Biotechnol. Anim. Husb. 2010; 26 (5-6): 383-392.
43. Jimoh AA, Olorede BR, Abubakar A, Fabiyi JP, Ibitoye EB, Sulaiman N, Garba S. Lipids profile and Haematological Indices of Broiler Chickens fed Garlic (*Allium sativum*)-Supplemented Diets. J. Vet. Adv. 2012; 2(10): 474-480.
44. Oleforuh-Okoleh VU, Ndofo-Foleng HM, Olorunleke SO, Uguru JO. Evaluation of Growth Performance, Haematological and Serum Biochemical Response of Broiler Chickens to Aqueous Extract of Ginger and Garlic. J Agr Sci. 2015; 7 (4) : 167- 173.
45. Hochleithner M. Biochemistries In: Ritchie BW, Harrison GJ, Harrison LR. Avian medicine: principles and application.[online] Lake Worth: Wingers Publishing, 1994. p. 176-198. Disponível em : http://avianmedicine.net/publication_cat/avian-medicine/
46. Rajman M, Juráni M, Lamosova D, Macajova M, Sedlackova M, Kostal L, Jezova D, Vyboh P. The effects of feed restriction on plasma biochemistry in growing meat type chickens (*Gallus gallus*). Comp. Biochem. Physiol. Part A. 2006; 145: 363-371.
47. Cardoso ALSP, Tessari ENC. Estudo dos parâmetros hematológicos em frangos de corte. Arq. Inst. Biol. 2003; 70(4): 419-424
48. Cardoso ALSP, Tessari ENC, Castro AGM. Estudo hematológico em aves inoculadas com *Salmonella Gallinarum*. Arq. Inst. Biol. 2003; 70(1): 35-42.
49. Prasad R, Rose MK, Virmani M, Garg SL, Puri JP. Effect of Garlic (*Alium sativum*) supplementation on haematological parameters in chicken (*gallus domesticus*). Indian J. Anim. Res. 2009; 43 (3): 157-162.
50. Schmidt EMS, Locatelli-Dittrich R, Santin E, Paulillo AC. Patologia clínica em aves de produção – Uma ferramenta para monitorar a sanidade avícola – revisão. Arch. Vet. Sci. 2007; 12 (3): 9-20.
51. Capitelli R, Crosta L. Overview of psittacine blood analysis and comparative retrospective study of clinical diagnosis, hematology and blood chemistry in selected psittacine species. Vet Clin North Am Exot Anim Pract. 2013; 16 (1): 71–120.
52. Onyimonyi AE, Omeje MU. Bioevaluation of garlic on growth, haematological and serum characteristics of growing pigs. Afr. J. Biotechnol. 2013; 12(25): 4039-4043.

53. Fadlalla IMT, Mohammed BH, Bakhiet AO. Effect of feeding garlic on the performance and immunity of broilers. *Asian J. Poult. Sci.*, 2010; 4: 182-189.
54. Mastroeni P, Chabacagoity SJ, Dunstan SJ, Maskell DJ, Dougan G. *Salmonella*: Immune responses and vaccines. *Vet J.* 2001; 161 (2): 132-164.
55. Mittrücker HA , Raupach B , Köhler A, Kaufmann SHE. Cutting Edge: Role of B Lymphocytes in Protective Immunity Against *Salmonella typhimurium* Infection. *J Immunol.* 2000; 164 (4): 1648-1652.
56. Choi IH, Park WY, Kim YJ. Effects of dietary garlic powder and α -tocopherol supplementation on performance, serum cholesterol levels, and meat quality of chicken. *Poultry Sci.* 2010; 89 :1724–1731. Mansoub HN. Comparative Effects of Using Garlic as Probiotic on Performance and Serum Composition of Broiler Chickens. *Ann Biol Res.* 2011; 2 (3):486-490.
57. Mansoub HN. Comparative Effects of Using Garlic as Probiotic on Performance and Serum Composition of Broiler Chickens. *Ann Biol Res.* 2011; 2 (3):486-490.
58. Issa KJ , Omar JMA. Effect of garlic powder on performance and lipid profile of broilers. *Open J Anim Sci.* 2012; 2(2): 62-68.
59. Rahimi S, Zadeh ZT, Torshizi MAK , Omidbaigi R , Rokni H. Effect of the Three Herbal Extracts on Growth Performance, Immune System, Blood Factors and Intestinal Selected Bacterial Population in Broiler Chickens. *J. Agr. Sci. Tech.* 2011; 13: 527-539.
60. Puvača N, Kostadinović LJ, Ljubojević D, Lukač D, Popović S, Dokmanović B, Stanačević VS. Effects of dietary garlic addition on Productive performance and blood lipid Profile of broiler chickens. *Biotechnol. Anim. Husb.* 2014; 30 (4): 669-676.
61. Carrijo AS, Madeira LA, Sartori JR, Pezzato AC, Gonçalves JC, Cruz VC, Kuibida KV, Pinheiro DF. Alho em pó na alimentação alternativa de frangos de corte. *Pesq. agropec. bras.* 2005; 40(7) : 673-679.
62. Garcia, KO. Infecção experimental de aves de postura (*Gallus gallus domesticus*) por cepas de *Salmonella enterica* sorovar Gallinarum (SG), SGNalr, SG $\square$ cobS e SG $\square$ cobS $\square$ cbiA: anatomopatologia, hemograma e perfil bioquímico sérico.[Dissertação]. São Paulo: Universidade Estadual Paulista, Faculdades de Ciencias Agrarias e Veterinárias; 2010.

CAPITULO 4- CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nos últimos anos a avicultura industrial tem alcançado excelentes resultados na produção de frangos de corte em decorrência de vários fatores. Dentre eles, o controle e a prevenção sanitária se destacam como requisitos fundamentais para garantir à avicultura brasileira o mercado internacional para seus produtos. Assim, a presença de bactérias como a *Salmonella* Infantis em produtos de origem animal pode representar barreira sanitária ao comércio de produtos avícolas.

A utilização de antimicrobianos moduladores de crescimento na dieta de frangos de corte pode ser apontada como uma importante ferramenta para o controle desses patógenos, mas possíveis implicações em saúde pública, principalmente com o aparecimento de microrganismos resistentes, fez com que se questionasse a utilização dos mesmos em animais de produção. Assim, cientistas e indústrias buscam aditivos alternativos cuja ação proporcione melhor desempenho das aves, com preocupação em controlar agentes nocivos aos processos de digestão e absorção de nutrientes. Assim sendo, o alho *in natura* foi estudado como produto alternativo aos antimicrobianos promotores de crescimento, na tentativa de controlar *Salmonella* Infantis buscando melhoria sanitária dos plantéis avícolas.

A partir do estudo realizado, constatou-se que o alho *in natura* nas doses estudadas não afetou o desempenho e também não mostrou eficácia na redução de excreção fecal de *E. coli*, mas reduziu a população de *Salmonella*. Além disso, não impediu a migração da *Salmonella* para o baço, mas foi capaz de interferir nos níveis de colesterol sérico das aves. Portanto, mais estudos são necessários para elucidar a ação do alho em aves com desafio sanitário.

ANEXO A- Parecer de aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E INOVAÇÃO
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS/CEUA



Goiânia, 03 de outubro de 2016.

PARECER CONSUBSTANCIADO REFERENTE AO RELATÓRIO FINAL DO PROTOCOLO Nº. 093/14

I. IDENTIFICAÇÃO:

1. **Título do projeto:** Efeitos do alho (*Allium Sativum*) *in natura* sobre *Salmonella* Infantis experimentalmente inoculada em frangos de corte
2. **Pesquisador Responsável:** Bárbara de Paiva Mota
3. **Unidade/Órgão:** EVZ/UFG
4. **Pesquisadores Participantes:** Bárbara de Paiva Mota, Maria Auxiliadora Andrade, Nadja Susana Mogyca Leandro, Marcos Barcellos Café, Gisele Mendanha Nascimento
5. **Unidade onde será realizado:** EVZ/UFG
6. **Data de apresentação do protocolo ao CEUA:** 09/10/14
7. **Data de Apresentação do Relatório Final:** 06/09/16

II - Parecer da CEUA:

Produtos resultantes deste projeto de pesquisa:

1. **Ata de defesa de dissertação de mestrado em 15/07/2015.**

Os pesquisadores apresentaram produtos resultantes da pesquisa, com comprovantes em anexo.

Informamos que a *Comissão de Ética no Uso de Animais/CEUA* da Universidade Federal de Goiás, **APROVOU** o Relatório Final do projeto acima referido, por estar de acordo com a Resolução nº1 da Lei 11.794/08 e estar em consonância com os princípios éticos vigentes. Desta forma, a execução do projeto encontra-se concluída.

III - Data da reunião: 03/10/2016.


Dra. Marina Pacheco Miguel
Coordenadora da CEUA/PRPI/UFG

Comissão de Ética no Uso de Animais/CEUA
Pró-Reitoria de Pesquisa e Inovação/PRPI-UFG, Caixa Postal: 131, Prédio da Reitoria, Piso 1, Campus Samambaia (Campus II) -
CEP:74001-970, Goiânia – Goiás, Fone: (55-62) 3521-1876.
Email: ceua.ufg@gmail.com