

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**PROBIÓTICOS E SIMBIÓTICO SOBRE O DESEMPENHO ZOOTÉCNICO E  
MORFOMETRIA INTESTINAL DE FRANGOS DE CORTE DESAFIADOS COM  
*SALMONELLA ENTERITIDIS***

**JOSÉ RODOLFO DOS SANTOS**

**DOIS VIZINHOS**

**2013**

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**PROBIÓTICOS E SIMBIÓTICO SOBRE O DESEMPENHO ZOOTÉCNICO E  
MORFOMETRIA INTESTINAL DE FRANGOS DE CORTE DESAFIADOS COM  
*SALMONELLA ENTERITIDIS***

**JOSÉ RODOLFO DOS SANTOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Zootecnia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Zootecnia - Área de Concentração: Produção e Nutrição Animal.

Orientação: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Sabrina Endo Takarashi.

**DOIS VIZINHOS**

**2013**

S237p Santos, José Rodolfo dos.  
Probióticos e simbiótico sobre o desempenho zootécnico e morfometria intestinal de frangos de corte desafiados com *Salmonella enteritidis* / José Rodolfo dos Santos – Dois Vizinhos :[s.n], 2013.

86 f.;il.

Orientadora: Sabrina Endo Takarashi  
Dissertação (Mestrado) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. Dois Vizinhos, 2012.  
Inclui bibliografia.

1. Avicultura. 2.Segurança alimentar. I.Takarashi, Sabrina Endo, orient.II.Universidade Tecnológica Federal do Paraná–Dois Vizinhos.III.Título

Ficha catalográfica elaborada por Rosana Oliveira da Silva CRB: 9/1745



---

## TERMO DE APROVAÇÃO

Título da Dissertação n° 005

**Probióticos e simbióticos sobre o desempenho zootécnico e morfometria intestinal de frangos de corte desafiados com Salmonella Enteritidis**

por

**José Rodolfo dos Santos**

Dissertação apresentada às quatorze horas do dia vinte de fevereiro de dois mil e treze, como requisito parcial para obtenção do título de MESTRE EM ZOOTECNIA, Linha de Pesquisa – Produção e Nutrição Animal, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia (Área de Concentração: Produção animal), Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Dois Vizinhos. O candidato foi argido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho aprovado.

Banca examinadora:

---

**Dr. Sabrina Endo Takahashi**

UTFPR

---

**Dr. Angélica Signor Mendes**

UTFPR

---

**Dr. Edna Tereza de Lima**

UFPR

Visto da Coordenação: \_\_\_\_\_

**Prof. Dr. Luis Fernando G. de Menezes**

Coordenador do PPGZO

\*A Folha de Aprovação assinada encontra-se na Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia.

## AGRADECIMENTO

Meus agradecimentos em primeiro lugar à Deus pelo dom da vida e de me oferecer a oportunidade de realizar este trabalho.

À Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), pelo mérito de oferecer o curso de Mestrado em Zootecnia.

Aos Professores Sabrina Endo Takahashi, Ricardo Nunes e Angélica Signor Mendes, pelos ensinamentos que facilitaram a elaboração dos trabalhos.

Ao Laboratório Mercolab principalmente ao setor de Histopatologia do departamento de Morfologia, em especial ao patologista, professor, médico veterinário e mestre Edmilson Freitas, pelos serviços prestados e pelo apoio na conclusão desta dissertação.

À minha família em especial à minha mãe Tânia Maria Ortega dos Santos, meu pai José Pedro dos Santos e minha namorada Hellen Marina Prunzel, que sempre me deram apoio nas horas mais árduas para ter forças e continuar com o trabalho.

Enfim, a todos meus colegas que me ajudaram para que de uma maneira ou de outra o projeto pudesse ocorrer. Em especial ao amigo Erich Helfer Carvalho.

Muito Obrigado!

SANTOS, José Rodolfo. **Probióticos e simbiótico sobre o desempenho zootécnico e morfometria intestinal de frangos de corte desafiados com *Salmonella* Enteritidis**. 2013. 87 folhas. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Dois Vizinhos, 2013.

## RESUMO

No Brasil, nas últimas décadas uma das grandes preocupações são as toxinfecções alimentares, sendo que uma das mais preocupantes vem a estar relacionada com as salmonellas. Esta doença destaca-se com grande importância pela sua ampla e variada ocorrência no homem e em animais; em que as aves ocupam o ponto central na epidemiologia das *Salmonellas* entéricas, representando um reservatório de grande importância sanitária e difícil controle. A *Salmonella* Enteritidis que é um patógeno entérico pertencente à família Enterobacteriaceae, vindo a ser entre os mais de 2.500 sorotipos de *Salmonellas spp.*, uma das mais frequentes de origem alimentar descrita na literatura. Uma das medidas profiláticas que tem sido empregada para controlar a infecção desta doença na produção de aves inclui o uso de antibióticos, seleções genéticas de linhagens de frangos para melhor resposta imunológica, desenvolvimento de vacinas e uso de produtos probióticos por meio de inclusão competitiva. A principal preocupação com o uso contínuo de antibióticos, principalmente pelas diversas organizações mundiais, é quanto ao surgimento e disseminação de populações bacterianas patogênicas, que trazem riscos tanto para a saúde animal quanto humana. Procurando alternativas que garantam o desempenho produtivo e a segurança alimentar dos consumidores, temos os probióticos que são suplementos alimentares, normalmente presentes no trato gastrointestinal (ex.: *Bacillus subtilis* e *Bacillus licheniformis*). Quando administrados de forma correta produzem efeitos benéficos ao hospedeiro, favorecendo o equilíbrio de sua microbiótica intestinal, podendo ser constituídos por microorganismos de culturas definidas, indefinidas ou simbióticos. Contudo não dispomos de estudos que possam comprovar qual das constituições de probióticos é a mais eficaz no combate as salmonellas entéricas e na melhor obtenção do desempenho zootécnico, o que requer maiores estudos em relação as diferentes constituições de probióticos disponíveis e suas formas de utilização. O objetivo do presente estudo foi abordar por meio de uma revisão bibliográfica a utilização de probióticos e simbióticos como auxiliares na qualidade intestinal e ferramenta no combate a *salmonella*. Um segundo objetivo é elaborar um capítulo com um artigo intitulado: “Probióticos e Simbiótico sobre o desempenho zootécnico e morfometria intestinal de frangos de corte desafiados com *Salmonella* Enteritidis”.

Palavras-chave: Avicultura. Segurança Alimentar. Vilosidades intestinais.

SANTOS, Jose Rodolfo. **Probiotics and synbiotic about performance and intestinal morphometry of broilers challenged with *Salmonella* Enteritidis**. 2013. 87 folhas. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Dois Vizinhos, 2013.

## ABSTRACT

In Brazil, in the last decades a of great concerns have been about the food poisoning, being that a of the most worrying comes to be related with the *Salmonella*. This disease stands out with great importance for its wide and varied occurrence in the man and animals; in which birds occupy the central point the epidemiology of *Salmonella* Enteric, representing a reservoir of great importance health and difficult to control. *Salmonella* Enteritidis is a pathogen belonging to the family intérico Enterobacteriaceae, it comes to be among the more than 2,500 serotypes *Salmonellas* sp., one of the most common foodborne described in the literature. An prophylactic measures that is has been used to control the infection of the disease in poultry production, including antibiotics, selection of genetic strains of chickens to better immune response, development of the vaccine and use of probiotic products by inclusion competitive. The main concern with the continuous use of antibiotics, especially by various organizations worldwide is on the emergence and spread of pathogenic bacterial populations, bringing risks to both animal and human health. Seeking alternatives to ensure the production performance and food safety for consumers, we probiotcs foods supplements that are normally present in the gastrointestinal tract (ex.: *Bacillus Subtilis* e *Bacillus Licheniformis*), when they are administered correctly produce beneficial effects to the host, favoring the balance of their intestinal microbiota, may consist of microorganisms defined, undefined or synbiotics culture. However we do not have studies to prove which of the constitutions of probiotics is most effective in combating the *Salmonella* Enteric and in obtaining the best zootechinical performance, which requires larger studies regarding the different constitutions of probiotics available and ways of use. The aim of this study was approach by means of a bibliographic review the use of probiotics and synbiotics acting as auxiliary tool in combating intestinal *Salmonella*. A second goal is to develop a chapter with an article entitled: "Probiotics and synbiotic about zootechinical performance and intestinal morphometry of broilers challenged with *Salmonella* Enteritidis."

Keywords: Poultry. Food Safety. Intestinal Villi.

## LISTA DE TABELAS

### Capítulo 1

Tabela 1 - Médias e desvio padrão de peso corporal (g) de frangos de corte nas diferentes idades submetidos aos tratamentos com probióticos de flora definida e indefinida experimentais .....82

Tabela 2 - Médias e desvio padrão de conversão alimentar e mortalidade no período de 1 a 31 dias de idade nos diferentes tratamentos.....83

Tabela 3 - Média e desvio padrão da altura de vilo ( $\mu\text{m}$ ), profundidade de criptas ( $\mu\text{m}$ ), relação vilo/cripta, em duodeno, jejuno, íleo (5 dias de idade e 4 dias pós inoculação com *Salmonella* Enteritidis) nos diferentes tratamentos.....84

Tabela 4 - Média e desvio padrão da altura de vilo ( $\mu\text{m}$ ), profundidade de criptas ( $\mu\text{m}$ ), relação vilo/cripta, em duodeno, jejuno, íleo (21 dias de idade e 20 dias pós inoculação com *Salmonella* Enteritidis) nos diferentes tratamentos.....85

Tabela 5 - Média e desvio padrão da altura de vilo ( $\mu\text{m}$ ), profundidade de criptas ( $\mu\text{m}$ ), relação vilo/cripta, em duodeno, jejuno, íleo (31 dias de idade e 30 dias pós inoculação com *Salmonella* Enteritidis) nos diferentes tratamentos.....86

Tabela 6 - Descamação intestinal no Duodeno, Jejuno e Íleo aos 5, 21 e 31 dias de idade.....87

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – As bactérias patogênicas e não patogênicas geralmente competem por nutrientes. As não patogênicas têm maior poder de competição, colonizando melhor o intestino.....34

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL.....	11
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	14
2.1 <i>SALMONELLA</i> .....	14
2.2 <i>SALMONELLA</i> ENTERITIDIS .....	16
2.3 FORMAS DE CONTROLE.....	17
2.4 PROBIÓTICOS: CARACTERÍSTICAS GERAIS.....	26
2.4.1 SIMBIÓTICOS: CARACTERÍSTICAS GERAIS .....	31
2.4.2 MECANISMO DE AÇÃO.....	32
2.4.3 IMUNOMODULAÇÃO .....	34
2.4.4 MORFOLOGIA INTESTINAL.....	36
REFERÊNCIAS .....	39
CAPÍTULO 1 .....	51
PROBIÓTICOS E SIMBIÓTICOS SOBRE O DESEMPENHO ZOOTÉCNICO, MORFOMETRIA INTESTINAL DE FRANGOS DE CORTE DESAFIADOS COM <i>SALMONELLA</i> ENTERITIDIS.....	52
RESUMO .....	52
DESCRIÇÃO DO PROBLEMA .....	53
MATERIAL E MÉTODOS.....	54
LOCAL E PERÍODO DO EXPERIMENTO .....	54
ANIMAIS E DIETA DO EXPERIMENTO .....	55
MANEJO, INSTALAÇÕES E EQUIPAMENTOS.....	55
DELINEAMENTO EXPERIMENTAL .....	56
PREPARAÇÃO DO INÓCULO DE <i>SALMONELLA</i> ENTERITIDIS E DESAFIO DAS AVES.....	57
DESEMPENHO ZOOTÉCNICO .....	57
AVALIAÇÃO DA ALTURA DAS VILOSIDADES INTESTINAIS .....	58
NECROPSIA.....	58
HISTOPATOLOGIA E MORFOLOGIA INTESTINAL.....	58
ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	59
RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	60
DESEMPENHO ZOOTÉCNICO .....	60
MORFOMETRIA INTESTINAL .....	62
MORFOLOGIA INTESTINAL.....	70
CONCLUSÕES.....	72
REFERÊNCIAS .....	73
TABELAS.....	82

## CAPÍTULO 1

### 1. INTRODUÇÃO

A avicultura de corte possui grande importância na economia brasileira, gera grande número de empregos e renda para o país.

O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de carne de frango, cuja produção média soma 12,600 milhões de toneladas. O aumento nas exportações e no consumo de carne gerou este crescimento. Do volume total de frangos produzidos pelo país, 69% foi destinado ao consumo interno e 31% para exportação. Sendo assim, o consumo per capita de carne de frango é de aproximadamente 44 quilos (UBABEF, 2011).

No Brasil os Ministérios da Saúde e da Agricultura (portaria nº1428/93), estabelecem a utilização dos programas BPP (Boas Práticas de Produção) e APPCC (Análise dos Perigos e Pontos Críticos de Controle) para inspeção de todo o processo de produção da indústria de alimentos. Nas últimas décadas notamos um grande envolvimento por parte da indústria e do governo no quesito de envolvimento na produção de produtos de origem animal, garantindo a qualidade e a segurança para o consumo humano, principalmente em relação aos produtos avícolas. No *Codex Alimentarius* constam as normas, diretrizes, padrões e recomendações relacionados à qualidade e inocuidade dos alimentos (CARDOSO & TESSARI, 2008).

Segundo Cardoso & Tessari (2008), as toxinfecções alimentares que ocorrem na indústria alimentícia geram grande preocupação entre as principais encontra-se a salmonelose a qual é uma das mais frequentes. Nas aves estas infecções são causadoras de uma variedade de doenças agudas e crônicas.

As salmonelas no âmbito da saúde pública, destacam-se com grande importância pela sua ampla e variada ocorrência no homem e em animais (mamíferos, répteis e aves), neste contexto as aves ocupam o ponto central na epidemiologia das salmoneloses entéricas, são reservatórios de grande importância sanitária e difícil controle (BORSOI et al., 2010). Os membros deste gênero, apresentam grande quantidade de espécies hospedeiras, servindo como transmissores e reservatórios para a difusão destes agentes nos animais e seres humanos, Sorovares de *Salmonella* entérica estão incluídos em todo o mundo, entre os mais importantes patógenos de origem alimentar, com consideráveis taxas de morbidade humana (TELLEZ et al., 2012).

O principal local de colonização da *Salmonella* em aves é o ceco. As aves se infectam por via oral em função da presença da bactéria no ambiente. Quando chega ao intestino a bactéria invade as células epiteliais iniciando a fase sistêmica da infecção. Ocorre assim a distribuição para outros órgãos como o fígado, baço onde a bactéria pode ser isolada. Outra via importante para a infecção é a transmissão vertical, em que as galinhas positivas transmitem o microorganismo através do oviduto a sua progênie (MUNIZ, 2012).

Uma das consequências da importância da *Salmonella* Enteritidis é devido a sua prevalência significativa em casos na saúde pública e devido a sua fácil distribuição mundial em lotes de frangos de corte. Considerado um patógeno entérico, pertencente à família Enterobacteriaceae, de origem alimentar, mais frequentemente descrito na literatura nas ocorrências de toxinfecções em seres humanos (GAST, 2003).

Várias medidas profiláticas têm sido empregadas para controlar a infecção de *Salmonella* na produção de aves, incluindo o uso de antibióticos, exclusão competitiva e produtos probióticos, a seleção genética de linhas de frango para uma melhor

resposta imunológica e o desenvolvimento de vacinas para *Salmonella* (LILLEHOJ et al., 2000).

Visando a alta produtividade na produção avícola com baixos custos e alta produtividade, torna-se necessário a utilização de aditivos alimentares com objetivo de prevenção de doenças. Para contornar os efeitos negativos gerados neste processo é utilizado os “promotores de crescimento”. Geralmente, antibióticos de forma contínua na ração, em doses subterapêuticas (OTUTUMI, 2006; LOURENÇON et al., 2007).

Contudo, este uso contínuo de antibióticos gera grande preocupação no que se refere ao desenvolvimento e disseminação de populações bacterianas resistentes, e que esta resistência venha a ser transferida aos microorganismos patogênicos, vindo a ser um risco, tanto para a saúde animal quanto humana (DAWSON & PIRVULESCU, 1999; MENTEN & LODDI, 2003).

Diversas organizações manifestam-se contra o uso desse aditivo (antibiótico) em rações avícolas, estimulando a restrição por parte do mercado consumidor de carne e ovos. Desde 2006 a comunidade europeia proíbe o uso de alguns antibióticos e o Brasil, obedecendo às normas internacionais, manifestou-se contra o uso deste aditivo em rações avícolas (ALBINO et al., 2006)

Na busca de opções que assegurem o desempenho produtivo e a segurança alimentar dos consumidores, fez surgir um novo conceito de aditivo chamado de “probiótico”, os quais tem constituição de microorganismos vivos e viáveis. Geralmente presentes no trato gastrointestinal ou por vezes, administrados por via exógena (ex. *Bacillus subtilis* e *Bacillus licheniformis*) (SCHREZENMEIR & VRESE, 2001).

Os probióticos são suplementos alimentares vivos, também considerados culturas únicas ou mistas de microorganismos, que produzem efeitos benéficos na microbiota intestinal do hospedeiro (FULLER, 1989; HAVENAAR & HUIS IN'T VEL, 1992).

A combinação de prebióticos e probióticos é denominada simbiótico e constitui um novo conceito na utilização de aditivos em dietas de aves. Esta associação é uma alternativa interessante no sentido de melhorar a sanidade do intestino delgado e cecos dos frangos de corte, proporcionando estabilidade e harmonia biológica através dos mecanismos fisiológicos e microbiológicos, com aumento de bactérias benéficas produtoras de ácido láctico (FURLAN et al, 2004).

Neste contexto o objetivo do presente estudo é abordar por meio de uma revisão bibliográfica a utilização de probióticos e simbióticos como auxiliares na qualidade intestinal e ferramenta no combate a *Salmonella*. Um segundo objetivo é elaborar um capítulo com um artigo intitulado: “Probióticos e Simbióticos sobre o desempenho zootécnico, morfologia e morfometria intestinal de frangos de corte desafiados com *Salmonella* Enteritidis”.

## **2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1 SALMONELLA**

Algumas características como uma ampla propagação de espécies de *Salmonellas spp.* entre os animais, sua permanência no ambiente, contribuem para que este patógeno, seja uma zoonose de importância mundial e assumam um papel importante como agente de origem alimentar na saúde pública (WEISS et al., 2002).

*Salmonella* é um bacilo Gram negativo, aeróbio ou anaeróbio facultativo, não formador de esporos, oxidase positivo, catalase negativo, fermenta açúcares com produção de gás, produção de H<sub>2</sub>S, comporta-se como patógeno intracelular facultativo e é normalmente móvel com flagelos peritríqueos, exceto para *Salmonella Pullorum* e *Salmonella Gallinarum* que são imóveis (FORSHELL & WIERUP, 2006). O

gênero *Salmonella* está dividida em duas espécies: *Salmonella enterica* e *Salmonella bongori*. A espécie *Salmonella enterica* é composta de seis subespécies: *enterica*, *salamae*, *arizonae*, *diarizonae*, *houtenae* e *indica* (GRIMONT & WEILL, 2007).

De acordo com o esquema clássico de Kauffman-White, cada subespécie são conhecidos diferentes sorovares ou sorotipos, com base na caracterização de seus antígenos H (flagelares), O (somático) e ocasionalmente Vi (capsular) é a seguinte: *Salmonella enterica* subsp. *enterica* (1.547 sorotipos); *Salmonella enterica* subsp *salamae* (513 sorotipos); *Salmonella enterica* subsp *arizonae* (100 sorotipos); *Salmonella enterica* subsp *diarizonae* (341 sorotipos); *Salmonella enterica* subsp *houtenae* (73 sorotipos); *Salmonella enterica* subsp. *Indica* (13 sorotipos); *Salmonella bongori* (23 sorotipos); os quais não reconhecem a espécie proposta *Salmonella subterranea* tendo sido a mesma inserida como sorotipo da espécie *bongori* (GUIBOURDENCHE et al., 2010).

Na infecção das aves temos três formas distintas de desenvolvimento: a pulrose, causada pela *S. Pullorum*; o tifo aviário, causado pela *S. Gallinarum*; e o paratifo aviário, o qual é provocado por qualquer outra subespécie de *S. enterica* que são hospedeiro-específicas, igual a outras que afetam diferentes espécies como *Salmonella Typhi* e *Salmonella Paratyphi* em humanos, *Salmonella Cholerae-suis* em suínos e *Salmonella Dublin* em bovinos estão relacionados à infecção em humanos e não tem um hospedeiro específico (LOVATO et al. 2009; REVOLLEDO, 2008).

Alguns fatores de risco encontrados na produção em confinamentos das aves, podem contribuir para maior prevalência de *Salmonella* spp. tais como: a contaminação dos alimentos e da água, falta de higiene na granja, presença de pragas nos locais de criação, o uso indiscriminado de promotores de crescimento e a presença de animais portadores (HERMANN, 2012).

A *Salmonella* tem vários sorotipos os quais causam infecções fatal em muitas aves jovens e infecções não fatais em aves adultas. O percentual de 40% de salmoneloses é encontrado em galinhas, perus e outras aves. As principais fontes de reservatórios deste patógeno vem a ser as carnes e ovos oriundos destes animais, proporcionando um grande risco aos humanos, pois estes alimentos são consumidos pela população (PORTER & CURTISS 1997; DUCHET-SUCHAUX et al, 1995).

As formas de transmissão da *Salmonella*, pode ser vertical (matriz para progênie) e horizontalmente entre lotes. Isto pode ocorrer através do canibalismo de aves infectadas, presença de aves silvestres, ou entrada de pessoas não autorizada para visitação, principalmente aquelas vindo de outras granjas onde tenha ocorrido problemas ( PALMU & CAMELIN, 1997; GAST, 1997);

O *habitat* natural das *Salmonellas* pode ser dividido em três categorias com base na especificidade do hospedeiro e padrão clínico por ele determinado: altamente adaptadas ao homem incluindo *Salmonella* Typhi e *Salmonella* Paratyphi A, B e C, agentes da febre entérica; altamente adaptadas aos animais, *Salmonella* Dublin (bovinos), *Salmonella* Choleraesuis e *Salmonella* Typhisuis (suínos), *Salmonella* Pullorum e *Salmonella* Gallinarum (aves), responsáveis pelo paratifo animal. A terceira categoria inclui a maioria dos sorovares que atingem o homem e animais, designadas *Salmonellas* zoonóticas, responsáveis por doenças de transmissão alimentar, de distribui o mundial, sendo detectadas na maioria das espécies animais utilizados para consumo humano, além de animais silvestres e domésticos (RODRIGUES, 2011).

## 2.2 SALMONELLA ENTERITIDIS

É o patógeno entérico, pertencente à família Enterobacteriaceae, de origem alimentar, mais frequentemente descrito na literatura nas ocorrências de toxinfec es em seres humanos. A importância deste microrganismo decorre de sua prevalência

significativa com distribuição mundial nos lotes de frango de corte e suas implicações na saúde pública (GAST, 2003).

Os estudos epidemiológicos, incluindo a fagotipagem e sonda complementar de RNA, sugerem a entrada do sorovar Enteritidis no Brasil via importação de material genético avícola contaminado, provavelmente no final da década de 80, com a hipótese de que as primeiras cepas foram introduzidas dos Estados Unidos e rapidamente seguidas por cepas europeias (SILVA & DUARTE, 2002).

Na década de 90, o grande desenvolvimento da avicultura brasileira propiciou condições favoráveis para a manutenção e multiplicação da bactéria nos lotes avícolas, sendo um dos maiores problemas para avicultura moderna. Neste mesmo período em alguns países desenvolvidos a febre tifoide foi motivo de morbidade e mortalidade alta em muitas aves. Em Hong Kong a incidência observada foi de 2,7 casos por 100.000 habitantes (LING et al., 2000).

Foi realizado um levantamento de amostras de animais de janeiro de 1996 a dezembro de 2000 pelo laboratório do Instituto Adolfo Lutz em São Paulo, onde se observou que a *Salmonella* Enteritidis foi a mais prevalente em 32,7% e a maionese caseira foi a principal causa dos surtos de salmoneloses humanas, onde 95% das ocorrências estavam ligadas a SE nesse produto (TAVECHIO et al., 2002).

Em estudo realizado por SANTOS et al. (2000), foi utilizado uma quantidade de 150 carcaças de frangos congeladas, de quatro diferentes marcas comerciais, no comércio varejista de Jaboticabal, São Paulo. Observou-se um percentual de 32% de contaminação por *Salmonella* spp., sendo identificados 11 sorotipos diferentes, dos mesmos apenas um sorotipo o S. Quakam não foi descrito como agente de toxinfecção alimentar em seres humanos. Também pode ser observado que o sorotipo S. Enteritidis o mais encontrado, com isolamentos em 29 carcaças de 48 contaminadas.

A disseminação global da *Salmonella* Enteritidis em aves (WARD et al., 2000), deu origem a uma epidemia internacional de toxinfecção alimentar, isto comprova a facilidade que este patógeno tem em causar uma infecção prolongada, que acomete o trato reprodutivo das aves. Por este motivo *Salmonella* Enteritidis é considerada o principal fator na transmissão vertical da bactéria nos lotes de matrizes, ampliando sua difusão (GUARD-PETTER, 2001; ALMONACID et al., 2002).

Para evitar a contaminação dos produtos oriundos da avicultura e destinados ao consumo humano, devem ser tomadas precauções para evitar infecções sistêmicas das aves no abate e o processamento destes produtos, contatos com locais contaminados e contaminação cruzada na manipulação dos alimentos (NAGARAJA et al. 1991; NASCIMENTO 1996; SILVA, 1996).

Considera uma doença silenciosa, pela capacidade de infectar os lotes das aves e invadir lotes vizinhos sem os mesmos apresentarem qualquer sintomatologia. A *Salmonella* Enteritidis, torna-se uma infecção inaparente, não ficando apenas limitada ao intestino do infectado, mas também estendendo-se aos órgãos internos, incluindo sistema reprodutivo e como consequência de tal infecção vindo a comprometer a progênie, seja ela frangos de corte ou poedeiras de ovos comerciais de consumo humano (LOZANO, 1996). De 2004 a 2010 a *Salmonella* Enteritidis foi o sorovar mais prevalente, representando 42% do total dos sorovares identificados em carne de frango (FREITAS, 2011).

Alguns fatores como a globalização e o próprio crescimento da indústria avícola aumentaram o consumo e distribuição da carne de frango, ovos e seus subprodutos, proporcionando também uma maior dificuldade no controle desta zoonose a Salmonelose, produzida pela *Salmonella* Enteritidis, vindo a tornar cada vez mais importante seu controle (SAGPyA, 2009).

## 2.3 FORMAS DE CONTROLE

As doenças entéricas se tornaram nos últimos anos um dos maiores desafios para a avicultura industrial mundial, acarretando perdas de produtividade, aumento de mortalidade entre as aves e a contaminação de alimentos para o consumo humano. Vindo a ser uma barreira sanitária para exportação dos produtos brasileiros nos últimos cinco anos, representando cerca de 8% do total das reclamações internacionais ocorridas, os produtos feitos com carne de aves, ovos e derivados vem a ser um grande fonte destas infecções causadas, principalmente, por *Salmonella spp.*, (NASCIMENTO, 2010).

A contaminação pelas Salmoneloses difere entre as diversas regiões geográficas brasileiras, devido ao tipo de criação dos animais de criação dos animais, padrões de higiene e biossegurança, nível de contaminação do alimento, fatores socioeconômicos e fatores ambientais. O controle deste patógeno é um desafio, para a saúde pública bem como ao setor avícola, principalmente pela diversidade e emergência de novos sorovares (MUNIZ, 2012).

A ocorrência de surtos de Salmonelose humana, relacionada aos produtos avícolas pode ser causada por vários sorotipos. Dentro da espécie *S. entérica* subespécie *entérica* se destacam os sorotipos Gallinarum, Pullorum, Enteritidis e Typhimurium (FLORES, et al., 2010). Estes sorotipos são monitorados pelo Plano Nacional de Sanidade Avícola - PNSA (BRASIL, 2003a) sendo que os sorotipos Enteritidis e Typhimurium, vem a ser isolados com maior frequência nos produtos avícolas envolvidos com infecções alimentares, um bom exemplo desta afirmação é o aumento sensível do isolamento de *Salmonella* Enteritidis, seja em humanos ou em aves, com representação de índices superiores a 50% das ocorrências em diversos países (ANDREATTI FILHO, 2006).

A contaminação por *Salmonella spp.*, desde o sistema de produção de frangos, nas matrizes, incubatórios, transportes, aves silvestres e roedores, nos abatedouros, até mesmo pela localização de abate. Estas etapas relatadas são de grande importância, porém o que devemos realizar é a identificação em cada uma delas, se há ou não presença de *salmonella* (CARDOSO & TESSARI, 2008; BAILEY et al., 2001).

Outro ponto importante a ser considerado como as caixas de carregamento de frango, as quais devem ser lavadas com desinfetante com boa ação residual sobre matéria orgânica. Quando isso não ocorre de maneira correta levam contaminação de uma granja para outra. O ato de molhar as aves após o carregamento também aumenta a contaminação cruzada, pois, esse procedimento faz com que as fezes acumuladas nas caixas de transporte sejam espalhadas por todas as aves da carga. Recomenda-se a utilização de nebulizadores de gota fina para baixar a temperatura ambiente, o ideal é que a água não escorra (HERMANN, 2012).

O estresse causado durante o transporte ao abatedouro aumenta a contaminação de *Salmonella* das aves antes do abate. Pesquisas de *Salmonella* nas caixas de transporte de frangos demonstram que os sorovares identificados à campo e sorovares isolados das caixas de transporte são frequentemente encontrados nas análises de carcaças após o processamento no abatedouro (CORY et al., 2002; ROY et al., 2002).

Algumas vezes não é possível isolar a *Salmonella spp.*, com os métodos microbiológicos convencionais, mesmo com toda a consolidação e desenvolvimento ocorrido após os anos 80, de novos meios de culturas para os métodos convencionais de diagnósticos. Pois esta bactéria, ao ser feita uma comparação com às demais enterobactérias, apresenta relação de menor competitividade em meios de cultivos convencionais, vindo a proporcionar diagnósticos falsos positivos ou negativos, constituindo assim um problema maior em saúde coletiva (FLÔRES, 2001).

Nos resultados laboratoriais de pesquisa de *Salmonella* apresenta resultados definidos (como a presença ou ausência de um determinado sorovar de *Salmonella* em um tipo particular da amostra) e têm valor limitado para a previsão e resolução de problemas emergentes que envolvem, por exemplo, novos reservatórios. O tipo de amostra selecionada e tipo de ensaio são elementos críticos para determinar a utilidade dos resultados obtidos por meio dos testes (bacteriologia, sorologia ou análise de material genético). A quantidade de material a ser coletado para estabelecer confiança e validar os resultados, deve ser relacionado com o tamanho do lote e não a proporção da doença dentro do plantel (AHO, 1992).

Com todo o empenho tanto dos órgãos governamentais, como da indústria, levantamentos em diferentes países tem mostrado que 30% a 50% das carcaças de frangos congelados ou refrigerados estão contaminados por *Salmonella* (SILVA, 1998; SILVA & DUARTE, 2002).

Através do “Programa de redução de patógenos – Monitoramento microbiológico e controle de *Salmonella* spp. em carcaças de frangos e perus”, o governo visa diminuir ainda mais a ausência de determinados microorganismos causadores de zoonoses em produtos de origem animal. Este programa tem como objetivo realizar um monitoramento constante do nível de contaminação por este patógeno em estabelecimentos de abate de aves. Esse plano foi estabelecido por meio da Instrução Normativa nº. 70 (Brasil, 2003b). A qual confere um controle minucioso sobre o processo de abate e atende as exigências de segurança do alimento baseado nos princípios de Boas Práticas de Fabricação (BPF), no Procedimento Padrão de Higiene Operacional (PPHO) e na Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC).

Como algumas formas de controle de *Salmonella* temos os aditivos medicamentosos alimentares que incluem antimicrobianos de uso profilático e curativo, ácidos orgânicos, óleos essenciais, prebióticos, probióticos e simbióticos. Sendo que

os promotores de crescimento tem definição de “aditivos alimentares aplicados normalmente durante um determinado período do ciclo de vida das aves, que agem como substâncias antimicrobianas, na tentativa da melhora no desempenho fisiológico (VAN IMMERSEEL et al., 2003; PHILLIPS et al., 2004).

Desde o início de seu uso na produção animal, a conversão alimentar positiva e ganho de peso corroboram para a confirmação da hipótese de que os antimicrobianos tenham ação bacteriostática sobre a microbiota intestinal dos frangos de corte. Isto porque aves produzidas em condições “*germ-free*”, ou seja, num ambiente livre de qualquer contaminação microbiana, não se beneficiam do efeito promotor de crescimento e ganho de peso desses fármacos, e apresentam desempenho produtivo maior quando comparados aos dos animais criados em ambiente da avicultura industrial convencional (MUIR, 1985).

Com o grande aparecimento de bactérias patogênicas, tanto nos animais quanto nos humanos, presentes em produtos de origem animal; o aumento de sua resistência aos antimicrobianos utilizados como suplementos alimentares; bem como uma procura por métodos de criação na produção animal, mais natural, obtida em condições de saúde e bem-estar animal adequado, levaram a questionar o uso indiscriminado de antibióticos como aditivos em rações animais (GIL DE LOS SANTOS & GIL-TURNES, 2005).

A proibição do uso de certos antimicrobianos na criação de frangos, fez com que os ácidos orgânicos e óleos essenciais de plantas tivessem pesquisas mais intensas nos últimos anos. Ácidos orgânicos são considerados todos os ácidos orgânicos carboxílicos, incluindo ácidos graxos e aminoácidos, com a estrutura geral R-COOH. Nem todos os ácidos têm ação antimicrobiana sobre a microbiota intestinal (DIBNER & BUTTIN, 2002).

Temos como ácidos mais relevantes no desempenho zootécnico e no controle de *Salmonella* das aves os ácidos orgânicos de cadeia curta, com 1 a 7 carbonos (*short-chain fatty acids* - SCFA), representados pelos ácidos fórmico, acético, propiônico e butírico; e os triglicerídios de cadeia média, com 6 a 12 carbonos (*medium-chain fatty acids* - MCFA), representados pelos ácidos capróico, caprílico e cáprico (VAN IMMERSSEEL et al., 2004).

Compostos produzidos como sendo um mecanismo de defesa das plantas contra fatores externos como estresse fisiológico, fatores ambientais e proteção contra predadores e patógenos, os óleos constituem-se em complexas misturas de substâncias voláteis, geralmente lipofílicas, os quais seus componentes são compostos por : hidrocarbonetos terpênicos (óleo cítrico), álcoois simples (linalol), aldeídos (cinamaldeído), cetonas (óleo de cânfora), fenóis (timol, eugenol e carvacrol), ésteres (óleo de lavanda) dentre outros, em diferentes concentrações, nos quais um composto farmacologicamente ativo é majoritário (SANTURIO et al., 2007; HUYGHEBAERT, 2003).

Tanto os ácidos orgânicos como os óleos essenciais não se encaixam na classificação de probiótico porque não contém microorganismos vivos, ou dentro da classificação de prebiótico porque não há um alimento ou substrato para as bactérias que fazem parte da microbiota benéfica. Embora sendo constituídos de ácidos orgânicos não estejam na classificação de produtos acidificantes, pois os volumes utilizados são muito baixos e seu mecanismo de ação não é somente a redução do pH intestinal. São complexos orgânicos, oriundos da reação dos ácidos: ascórbico, cítrico e láctico, com a glicerina, que aumentam a capacidade antimicrobiana dos ingredientes individuais do produto (CONTRERAS 2007).

A microbiota da mucosa intestinal presente no homem, animais, incluindo as próprias aves é diversificada em quantia de bactérias, bem como em variedade. Esta

variedade de espécies encontradas pode ser tanto benéfica quanto maléfica para o hospedeiro, o que acaba proporcionando alguns efeitos maléficos os quais são: diarreia, infecções, distúrbios hepáticos, carcinogênese, putrefação intestinal, redução da digestão e absorção de nutrientes. Também efeitos benéficos como: o não crescimento de bactérias patogênicas, estímulos ao sistema imune, produção de vitaminas, menor produção de gases e maior digestão e absorção dos nutrientes (GONZALES, 2004; FURLAN et al, 2004).

Para que a colonização ocorra e sua persistência mantenha-se é necessário fatores tais como, temperatura, pH adequado e oferta de substratos. Dentre os gêneros de bactérias mais importantes que podem ser encontrados na microbiota cecal das aves, observam-se invariavelmente a presença de *Bacterioides*, *Bifidobacterium*, *Citrobacter*, *Clostridium*, *Enterobacter*, *Enterococcus*, *Escherichia*, *Eubacterium*, *Fusobacterium*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Pediococcus*, *Peptostreptococcus*, *Propionibacterium*, *Ruminococcus*, *Serratia*, *Veillonella*, *Streptococcus*, entre outros (SANTOS & TURNES, 2005; SILVA & ALVES FILHO, 2000b).

Grande número de bactérias como *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Bacterioides*, *Bifidobacterium*, *Bacillus* e *Streptococcus* são utilizadas como probióticos. Para manter a boa qualidade na produção dos mesmo faz-se necessária um bom controle na qualidade e na verificação da eficácia destes produtos que os compõe (GHADBAN, 2002).

A utilização de probióticos pode ocorrer nos seres humanos e animais, são considerados como alternativas a substituir o uso dos antibióticos e utilizados como promotores de crescimento (HONG et al., 2005).

Segundo Dale (1992) citado por Pedroso (2003), a base para utilização de probióticos em animais é que os microorganismos presentes na microbiota intestinal

natural não são suficientes para se alcançar um bom rendimento. Seguindo este princípio, a inclusão de bactérias benéficas pode propiciar uma saúde melhor ao animal, proporcionando melhor digestão dos alimentos e resistência a infecção de bactérias prejudiciais por exclusão competitiva.

De acordo com Schneitz (2005), a exclusão competitiva é o “fenômeno pelo qual a microbiota intestinal normal protege o hospedeiro contra patógenos invasores”. Ainda segundo a autora, os resultados de diversos estudos sugerem que a proteção por exclusão competitiva é um fenômeno predominantemente físico, e essas características são mais relevantes que a síntese de ácidos graxos voláteis ou outros metabólitos aos quais são delegados funções protetoras.

Para Mulder et al., (1997), um balanceamento dos microorganismos do trato gastrointestinal pode trazer uma melhora na digestão e aumentar a resistência a doenças infecciosas, principalmente em casos de estresse como os ocorridos na indústria atual de produtos de origem animal.

Como mais uma alternativa no controle da *Salmonella* o uso de vacinas como medida preventiva tornou-se mais uma opção. Primeiramente tal ferramenta foi desenvolvida para o controle dos quadros de Pulorose (*Salmonella Pullorum*) e Tifo aviário (*Salmonella Gallinarum*), com vacinas vivas feitas a partir de uma cepa rugosa de *Salmonella Gallinarum*, de baixa patogenicidade. Somente a utilização desta ferramenta não obteve controle suficientes no controle dos quadros clínicos. O sacrifício de lotes contaminados e adoção de medidas de vazío sanitário adequado e desinfecção, também foram necessárias (CARDOSO & ROCHA, 2006).

Com o controle destas *Salmonellas* começaram a ter importância as *Salmonellas* paratíficas. Pelo fato de que o uso de medidas de biossegurança e tratamentos com antimicrobianos não serem suficientes para controlar as *Salmonellas*

paratíficas, houve a necessidade de outras medidas de controle e o desenvolvimento de vacinas teve mais atenção (CARDOSO & ROCHA, 2006).

Seja a vacinação das aves com vacinas vivas atenuadas ou com vacinas inativadas (oleosas), as duas possuem o bom histórico de aplicação para redução da suscetibilidade das aves à infecção por *Salmonella*. Ambas demonstram habilidade de promover proteção, contudo, não são capazes de prevenir completamente as aves da infecção, especialmente em situações de alto desafio (ROLAND et al., 2004).

Ao procurar algumas estratégias na diminuição de *Salmonella* como antibióticos, probióticos, prebióticos, simbióticos, ácidos orgânicos, biossegurança e vacinas, não se pode deixar de salientar que todos estes meios devem ser utilizados em conjunto. Várias estratégias têm sido utilizadas para controlar a infecção de *Salmonella* na carne de frango. Porém, apesar da importância de cada uma destas ferramentas e seus mecanismos de ação diferentes, é importante ressaltar que nenhum deles agindo, isoladamente é suficiente, porém é uma abordagem e solução eficaz quando usadas em combinação (BUIRAGO, 2011).

## 2.4 PROBIÓTICOS: CARACTERÍSTICAS GERAIS

A muito tempo a palavra probiótico vem sendo utilizada com vários significados. No início foi usada para definir substâncias produzidas por protozoários que estimulavam o crescimento de outros organismos. A palavra probiótico também foi usada com a definição de qualquer produto que auxilia-se a microbiota normal a dominar organismos patogênicos. Tais variações conceituais referente aos probióticos, pode ter sido influenciado pelas dúvidas que existiam naquele período, tais como se os microorganismos probióticos deveriam ser veiculados vivos ou não (MENTEN & PEDROSO 2005).

A definição atual para o termo, foi redefinido por Parker (1974), onde o mesmo define como sendo um suplemento microbiano capaz de exercer um efeito benéfico sobre a microbiota intestinal do hospedeiro.

A séculos os probióticos tem sido consumidos sob a forma de alimentos fermentados. Nos estudo publicados por Metchnikoff em 1907, o mesmo afirma que a ingestão de bactérias lácteas agem de forma positiva, na microbiota natural do trato gastrointestinal (ROLFE, 2000).

Segundo Patterson & Burkholder (2003), desde que foi feito esse postulado, vários estudos foram feitos, demonstrando que a microbiota intestinal pode aumentar a vulnerabilidade e a infecções, e que o uso de probióticos diminui a probabilidade de ocorrência das mesmas. Por esse motivo, uma variedade de microorganismos vêm sendo testadas e utilizadas como probióticos e, de acordo com Menten & Pedroso (2005), não ocorre um pré-requisito para avaliar corretamente a eficácia de tais microorganismos, os quais estão sendo impostos, baseados em ensaios com resultados de desempenhos muito variáveis.

Um conceito mais atual sobre probióticos foi dado na Alemanha em 1995, sendo definido como uma preparação de microorganismos vivos ou estimulantes microbianos que afetam a microbiota indígena de um animal, planta ou alimento receptor de uma forma benéfica. Neste evento, surgiu outra definição de probiótico como sendo uma preparação microbiana possuindo bactérias vivas ou mortas, incluindo seus componentes e produtos, que administrada por via oral ou por outra superfície (mucosa), melhora o equilíbrio da flora microbiana e enzimático nessas superfícies, além de estimular o sistema imune (JANSEN & VAN DER WAAIJ, 1995).

Salminen (1999), definiu os probióticos como preparados de microorganismos, ou seus constituintes que têm efeito benéfico sobre a saúde e o bem-estar do hospedeiro. Atualmente, a definição de probióticos utilizada pela Organização Mundial de Saúde e Organização de Agricultura e Alimentos é a seguinte: “microorganismos vivos, que quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefício à saúde do hospedeiro” (JOINT FAO/WHO, 2002).

Neste sentido, temos a definição de probióticos como sendo microorganismos vivo que são incluídos à alimentação de humanos e animais, para reforçar ou restabelecer o equilíbrio microbiano intestinal, vindo a proporcionar uma melhor saúde ao hospedeiro. Antes do uso comercial destes microorganismos probióticos, os mesmos devem passar por diferentes testes para conhecimento e garantia de sua segurança e ação como aditivo alimentar aos animais e humanos (O'TOOLE; COONEY, 2008).

As características essenciais para um microorganismo ser considerado probiótico são: ser um habitante normal do trato gastrointestinal do hospedeiro; atóxico e não-patogênico para seu hospedeiro, modulação da atividade imunológica, sobreviver, sendo cultivável em escala industrial, crescer e se fixar ao epitélio intestinal; enfrentar condições adversas, como a produção de sais biliares, sucos gástricos, pancreáticos e entéricos; colonizar o intestino e ter capacidade antagonista às bactérias prejudiciais e apresentar efeito benéfico comprovado no animal hospedeiro (GOLDIN, 1998 citato por LIMA et al., 2003; JOINT WHO/FAO/OIE, 2003).

As bactérias mais utilizadas na composição probióticas pertencem aos gêneros *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus*, *Bacillus* e *Streptococcus*. Algumas espécies de leveduras também são usadas como o *Saccharomyces* (GUPTA & GARG, 2009). Bactérias, culturas mistas de microorganismos e fungos particularmente cogumelos e leveduras têm sido utilizados como probióticos, como o cogumelo

comestível *shiitake Lentinula edodes* que foi utilizado como probiótico para frangos de corte (WILLIS et al., 2011).

Contendo em sua composição microorganismos definidos e em quantidade definida, adequada a cada espécie animal, ou não ter nem os microorganismos definidos em si, nem as suas quantidades, temos os probióticos. As espécies mais utilizadas no preparo de probióticos são: *Lactobacillus bulgaricus*, *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. lactis*, *L. salivarius*, *L. plantarium*, *L. reuteri*, *L. johonsii*, *Streptococcus thermophilus*, *Enterococcus faecium*, *E. faecalis*, *Bifidobacterium* spp., *Bacillus subtilis* e *B. toyoi*. Sendo que ainda temos as mais utilizadas extensivamente em humanos que são as espécies de *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*, enquanto que as espécies de *Bacillus*, *Enterococcus*, e levedura *Saccharomyces* como organismos mais usados em animais de produção (RAMOS, 2009; SIMON et al., 2001).

Na relação de importância dos probióticos encontra-se a relação dos seguintes:

- benefícios positivo na microbiota intestinal: auxílio no crescimento de bactérias da microbiota encontrada no intestino, o que vem a proporcionar equilíbrio ao local;
- precaução no surgimento de infecções intestinais: atua com diferentes mecanismos na ação das bactérias patogênicas, evita que as mesmas colonizem os sítios de ligação no trato intestinal;
- instigação da imunidade local: ação dos probióticos no aumento da síntese IgA secretada no intestino, esta por sua vez impede que bactérias patogênicas venham a povoar o meio;
- diminui as reações inflamatórias: protege o intestino da invasão de agentes patogênicos, evita o surgimento de enterites;
- ajuste da motilidade intestinal: facilita a absorção de nutrientes (FERREIRA et al., 1998).

Porém, resultados de pesquisa com a utilização de probióticos, (FARIA et al., 2009), não encontraram alterações nas características de desempenho dos frangos de corte de 1 a 7, 1 a 21, e 1 a 42 dias de idade. Contudo, de 1 a 42 dias de idade, os frangos alimentados com probióticos (A – *Streptococcus faecium*, *Lactobacillus*

*acidophilus* e *Saccharomyces cerevisiae*, B – *Bacillus subtilis*) apresentaram menor mortalidade em comparação aos que receberam a ração-controle.

O autor ao estudar uso de probiótico em rações para frangos de corte, para avaliar o ganho de peso destas aves com ração de fase inicial, não verificou efeito algum (SILVA, 1999), sem encontrar alteração alguma na parte de desempenho (PELICANO et al 2004 a, b). Porém em contradição, encontra-se os dados com maior ganho de peso na utilização de rações complexas a base de farinha de carne, ossos e farinha de peixe, em frangos de corte (LIMA, 1988). E melhora na conversão alimentar aos 42 dias de idade quando comparado frango que receberam probióticos a base de *Streptococcus faecium*, *Lactobacillus acidophilus* e *Saccharomyces cerevisiae*, com aqueles frangos que receberam ração sem aditivos (BERTECHINI & HOSSAIN 2005).

Outro fator, a ser assimilado é que nem sempre os probióticos apresentam resultados positivos em relação a ganho de peso e conversão alimentar das aves, isso se deve a diversas variantes, tais como: sanidade das aves, tempo de desocupação do galpão e nível de contaminação ambiental. Aves alojadas em locais que se apresentam há bastante tempo desocupados tendem a apresentar resultados pouco significativos em relação à utilização de probióticos, ocorrendo o mesmo para locais com baixo nível de contaminação ambiental. Com isso, devemos considerar que o uso de probióticos na alimentação de frangos de corte, não é algo milagroso, mas sim, como um aditivo que poderá auxiliar em problemas de diversas naturezas e ainda com o fator de não deixar resíduos indesejáveis na carcaça das aves (SANTOS, 2010).

A eficácia ou ineficácia de um produto probiótico pode ser relacionada com a sua composição microbiana e viabilidade, método de administração e frequência, a idade das aves, higiene das instalações, composição alimentar (cereais e seu

sinergismo ou antagonismo em relação à composição microbiana do produto), bem como fatores ambientais de estresse (SANTOS, 2010).

#### 2.4.1 SIMBIÓTICOS: CARACTERÍSTICAS GERAIS

Defenido como a combinação de probióticos e prebióticos e com finalidade de constituir uma alternativa na busca de efeito aditivo, e potencialização da utilização dos mesmos, temos os simbióticos. Esta combinação deve possibilitar a sobrevivência da bactéria probiótica no alimento e nas condições do meio gástrico, possibilitando sua ação no intestino grosso, sendo que os efeitos destes ingredientes podem ser adicionados ou sinérgicos. (CAPRILES et al., 2005; JUNQUEIRA et al., 2009).

Os simbióticos vem com um novo conceito, podem ter a função de substituir os antibióticos nas dietas dos animais de produção aves e suínos. Provocam ações benéficas ao atuarem como melhoradores de desempenho nas aves, agem em várias regiões do trato gastrointestinal, delgado e grosso, melhoram a sanidade dos mesmos através de mecanismos fisiológicos e microbiológicos, atuam como catalizadores nas reações químicas ao não deixarem resíduos nos produtos de origem animal, por serem naturais e não provocarem resistência às drogas medicamentosas (SAAD, 2006; RAMOS, 2009; CANTARELLI et al., 2005; FLEMMING, 2005).

Mais uma ação dos simbióticos que pode ser descrita é que através da ligação com as fimbrias das bactérias patogênicas, conduz as mesmas junto ao bolo fecal, estimula desta forma o crescimento e acelera o metabolismo das bactérias não patogênicas. Este mecanismo facilita a nutrição de células (enterócitos), que recobrem o trato digestório vindo a dar mais equilíbrio a saúde intestinal das aves (FURLAN et al., 2004).

Dessa forma, através de todos os benefícios já citados e pelo fato de não apresentarem diferenças significativas no desempenho das aves quando comparados

com uso de antibióticos, é recomendado o uso dos mesmos para as aves (MAIORKA et al., 2001).

#### 2.4.2 MECANISMO DE AÇÃO

A maior parte da microbiota intestinal é representada por bactérias facultativas com números próximos a 90% produtoras de ácido láctico (*Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Bifidobacterium* etc) e bactérias anaeróbicas estritas (*Bacteróides*, *Fusobacterium*, *Eubacterium*). Representando 10% do restante da microbiota do intestino temos as *E. coli*, *Clostridium*, *Staphylococcus*, *Blastomyces*, *Pseudomonas*, *Proteus* e outros. As mudanças que ocorrem nesta proporção acarretam uma diminuição do desempenho produtivo e infecções intestinais (GHADBAN, 2002).

A microbiota intestinal tem efeito protetor e preserva o equilíbrio dos diversos microorganismos intestinais, impedindo o domínio de determinadas bactérias exógenas (incluindo bactérias patogênicas), impede que as mesmas fixem estabelecimento no ecossistema intestinal (ROLFE, 2000).

As atuais formas de produção de escalas industriais das aves em incubatórios, preconiza uma exclusão do contato direto dos pintos com a matriz, impedindo o acesso desta progênie com microorganismos benéficos o seriam adquiridos pelo contato direto com a mãe. Nos locais de alojamento, as aves são expostas a morbidades do meio ambiente onde são encontrados diferentes microorganismos, estes que podem ser os benéficos (microbiota normal), ou até os patogênicos como é o caso de bactérias dos gêneros *Clostridium*, *Salmonella*, *Escherichia coli*, entre outros (MENTEN & PEDROSO, 2005).

O trato intestinal na sua forma de equilíbrio, absorve nutrientes, impede a fixação e multiplicação de agentes patogênicos na mucosa intestinal proporciona um equilíbrio entre a microbiota intestinal e o hospedeiro, e diminui o potencial invasivo dos microorganismos que estão no meio ambiente dos aviários e instalações avícolas. Caso atuação do mesmo ocorra dessa forma ocorre uma prevenção as instalações de doenças entéricas, vindo a proporcionar uma melhora na produtividade e diminui a mortalidade e a contaminação dos produtos de origem animal (FLEMMING, 2005; EDENS, 2003; PATTERSON; BURKOLDER, 2003).

A aplicação de probióticos nas aves recém nascidas implica na manutenção de uma microbiota intestinal estável não patogênica, na restauração de uma microbiota intestinal após o desequilíbrio sofrido por motivos de stress, e pelo fato de serem naturais não deixam resíduos prejudiciais na carne, traz ainda o benefício de poder melhorar o crescimento e as características de produção (SANTOS & TURNES, 2005; FEDALTO et al., 2001).

A ação dos probióticos pode ser por vários mecanismos, sendo o principal a exclusão competitiva, em que um organismo probiótico compete com bactérias patogênicas pelos sítios de ligação na superfície intestinal, assim excluindo o patógeno e impedindo a produção de toxinas (SILVA, 2000a; RUTZ & LIMA, 2001; PEDROSO, 2003; CANTARELLI et al., 2005).

Os microorganismos conhecidos como “probióticos” ao realizarem sua função no intestino, provocam uma rápida metabolização de substratos (açúcares, vitaminas, aminoácidos, proteínas), não disponibilizando mais os mesmos aos patógenos e, por consequência, impedindo a proliferação destes (FOX, 1988 citado por FERREIRA, et al 2002).(Figura 1).

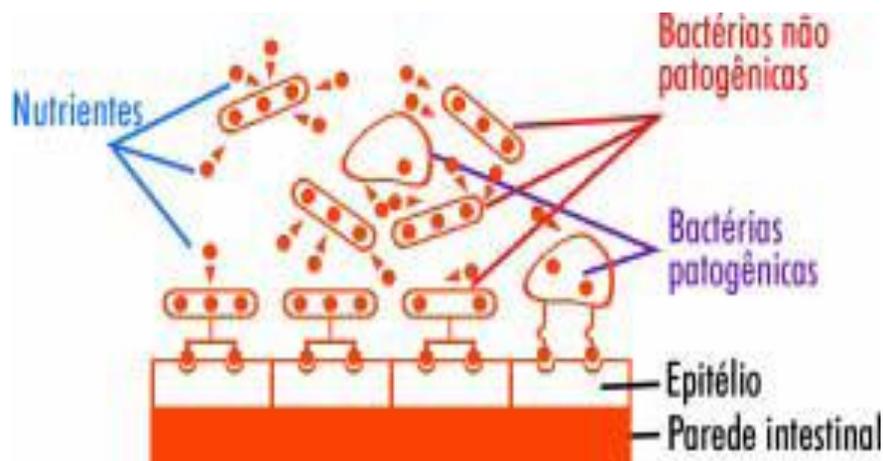


Figura 1 – As bactérias patogênicas e não patogênicas geralmente competem por nutrientes. As não patogênicas têm maior poder de competição, colonizando melhor o intestino.

Fonte: (FOX, 1988 citado por FERREIRA, et al., 2002).

As bactérias probióticas tem uma ação produtiva de substâncias antibacterianas e enzimas que agem diminuindo o pH e/ ou através da criação de um ambiente químico desfavorável as bactérias patogênicas, principalmente em relação ao *Campylobacter*, *Clostridium* e *Salmonella*. Estas também secretam proteínas “bacteriocinas”, com ação inibitoria e destrutiva contra uma cepa de bactéria específica (SILVA 2000 a).

Algumas bactérias secretam enzimas que liberam compostos como ácidos biliares com ação inibitória sobre outras bactérias (SILVA, 2000b). Com a interação destes mecanismos ocorre um equilíbrio na microbiota intestinal, trazendo diversos benefícios ao animal.

### 2.4.3 IMUNOMODULAÇÃO

O bom funcionamento do sistema imunológico das aves que possibilita a defesa do organismo dos patógenos, também vem a influenciar diretamente nos parâmetros

produtivos. Uma preocupação crítica da indústria avícola, está relacionada à sanidade dos lotes, as aves comerciais precisam ter um sistema imune com boa capacidade para realizar sua proteção contra a invasão realizada por agentes infecciosos e resistir à sua proliferação que resulta em doenças (FERKET, 1999)

Uma das ações do sistema imune é proteger o organismo animal contra agentes estranhos, tais como bactérias e vírus. Em alguns casos, a resposta imune não pode apresentar um papel protetor na fisiologia animal, quando inadequada é capaz de causar doença, podendo representar risco à saúde do indivíduo, como no caso das doenças imunomediadas (MORGULIS, 2002).

O órgão de maior responsabilidade no desenvolvimento de imunidade nas aves trata-se do sistema digestivo. As aves não apresentam linfonodos, seus órgãos linfóides estão espalhados ao longo do trato intestinal e incluem: bursa de Fabricius, tonsilas cecais e placas de Peyer. O estresse imunológico provoca na ave aumento da taxa metabólica, diminuição do apetite e redirecionamento dos nutrientes para atender às necessidades energéticas da resposta imune em vez do crescimento do músculo esquelético (QURESHI, 2002 citado por NUNES, 2008).

Com estudos feitos em sistemas *in vitro* e de modelos animais e humanos para saber o efeitos dos probióticos sobre a resposta imune, temos evidências que os mesmos podem estimular tanto a resposta imune não-específica quanto específica. Acredita-se que os macrófagos através de sua ativação provocam efeitos como: aumento nos níveis de citocinas e aumento da atividade das células natural *Killers* ou dos níveis de imunoglobulinas (SAAD, 2006).

Nem todas as cepas de bactérias probióticas são igualmente efetivo. Ao realizar o consumo concomitantemente de um ou mais probióticos e eles atuam sinergisticamente, como por exemplo dos *Lactobacillus* administrados em conjunto com *Bifidobacterium*, a resposta imune pode ser aumentada. Estes por sua vez estão

relacionados com o aumento da produção de anticorpos, ativação de macrófagos, modulação de respostas imunes (sintetizando o número e a atividade das células gâtocíticas), proliferação de células T e produção de interferon. Um dos Efeitos positivos da ação dos probióticos sobre o sistema imunológico que merece destaque é o fato de não ocorrer o desencadeamento de uma resposta inflamatória (CALDER & KEW, 2002; QURESHI, 2002; FERREIRA & ASTOLFI-FERREIRA, 2006).

Os estudos feitos em animais e no homem com probióticos, mais especificamente bactérias ácido-lácticas, tem comprovado o efeito imunoestimulante dos mesmos, apesar que ainda não estarem esclarecidos como funciona tal mecanismo pelos quais isto ocorre (CROSS, 2002). Algumas explicações relacionam isto com a capacidade dos microorganismos presentes nos probióticos interagirem com as placas de Peyer e as células intestinais, estimulando a produção de IgA pelas células B e a migração de células T do intestino (PERDIGÓN & HOLGADO; 2000).

#### 2.4.4 MORFOLOGIA INTESTINAL

O maior processo de maturação do sistema digestório das aves, assim como o sistema termorregulador e o imunológico, ocorre no período pós-eclosão. Caso ocorra o bom desenvolvimento do trato digestório, proporcionando boa obtenção de energia e nutrientes, vindo a apresentar características estruturais funcionais que vão desde a ingestão dos alimentos até sua absorção, vamos ter além da sobrevivência o bom desempenho das aves (PELICANO et al., 2003).

Para demonstrar a grande importância dos primeiros dias de vida das aves, além da grande atividade pancreática ao digerir substratos no lúmen intestinal, vamos ter o maior desenvolvimento do intestino delgado (duodeno, jejuno e íleo) neste período. Estas porções do intestino tem função primordial nos processos de digestão e, principalmente na absorção de nutrientes, nestes locais encontramos outras funções

digestivas como ação das enzimas (proteínas) pancreáticas: tripsina, quimiotripsina, amilase, lipase. (LEEDLE, 2000).

A composição da microbiota intestinal consiste numa mistura complexa de bactérias, protozoários, ciliados e flagelados, fungos e bacteriófagos estes por sua vez ajudam a desempenhar importância vital no quesito nutrição, fisiologia e imunologia do animal hospedeiro (LEEDLE, 2000).

Quando observado o número e tamanho dos vilos notou-se que estas características dependem do número de células que o compõem. Dessa forma, para ter uma maior área de absorção de nutrientes ao longo do vilos é necessário um maior número de células que o compõem. A função de absorção das células dos vilos somente ocorre, quando este estiver funcionando normalmente, tanto na membrana luminal quanto na membrana basolateral. Um dos fatores muito importante para o bom funcionamento de absorção de nutriente na membrana luminal, é que haja uma quantidade adequada de microvilos nos enterócitos (MURAROLLI, 2008).

Após a eclosão, as aves apresentam seu sistema digestório anatomicamente completo, porém ainda imaturo. Este encontra-se em processo de formação, onde sofre grandes alterações morfológicas e fisiológicas na procura da melhor forma de absorção de nutrientes e aumento na área de superfície de digestão. As principais alterações morfológicas são: aumento no comprimento do intestino, na altura e densidade dos vilos. E nas alterações fisiológicas é encontrado: maior capacidade de digestão, que vem a ocorrer pela maior produção de enzimas digestíveis. (MURAROLLI, 2008).

Quanto mais cedo ocorrer o uso de probióticos nas aves, o efeito benéfico de suas bactérias, como a rápida multiplicação e colonização no trato intestinal, irá ocorrer com melhor efetividade, impedindo que as bactérias patogênicas estabeleçam colonização do meio (FILHO & SAMPAIO, 2000).

Como exemplos de trabalhos indicando o efeito dos aditivos na mucosa intestinal, mostrando um efeito trópico e um melhor desempenho das aves temos os relatados por (MACARI; MAIORKA, 2000; LODDI, 2003).

Alguns mecanismos desenvolvidos através da utilização de probióticos nas aves pode ser relacionado como a melhora do sistema imune, proteção das vilosidades intestinais e das áreas de absorção contra ação de toxinas produzidas por bactérias patogênicas, bem como produção de substâncias antimicrobianas e ácidos orgânicos (DOBROGOSZ et al., 1991).

Para ocorrer o equilíbrio no crescimento de vilos e na profundidade de criptas do epitélio intestinal, é necessário que ocorra um equilíbrio da microbiota normal residente neste epitélio intestinal, onde não haja somente o predomínio de um tipo de bactéria seja ela patogênica ou benéfica (PELICANO et al., 2003).

Temos uma grande quantia de trabalhos mostrando a ação dos probióticos sobre a morfologia intestinal, onde os seus resultados apresentam-se de forma contraditória, incluindo os prebióticos e simbióticos, já seus mecanismos de ação sobre a mucosa intestinal ainda não são totalmente elucidados. Entretanto, o uso desses aditivos, ainda são uma alternativa que podem trazer benefícios à saúde das aves (MURAROLLI, 2008).

## REFERÊNCIAS

AHO, M. Problems of *Salmonella* sampling. **Journal of Food Microbiology**, v.15, p.2461-2468, 1992.

ALBINO, L. F. T., FERES, F. A., DIONOZIO, M. A., ROSTAGNO, H. S., VARGAS JÚNIOR, J. G., CARVALHO, D. C. O., GOMES, P. C., COSTA, C. H. R. Uso de prebióticos a base de mananoligossacarídeo em rações para frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.3, p.742-749, 2006.

ALMONACID, S. Salmonella Enteritidis Hisk assessment: a Kinetic analysis. **Food Science**, v.67, p.1115-1120, 2002.

ANDREATTI FILHO, R. L., Alimentos funcionais na produção avícola. **Saúde aviária e doenças**. São Paulo: Rocca Cap.6, p.41-51, 2006.

BAILEY, L. B., MOYERS, S., GREGORY J. F. Folate. In: Present Knowledge in Nutrition, Bowman, B.A. and R.M. Russell (Eds.). **International Life Sciences Institute**, Washington, DC., p:214-229, 2001.

BERTECHINI, A. G., HOSSAIN, S . M. Utilização de um tipo de probiótico como promotor de crescimento em rações de frangos de corte. **Revista Brasileira de Ciência Avícola** (Premio Lamas 2005 – APINCO), Santos, Suplemento 7, p.85, 2005.

BORSOI, A., MORAES, H. L. S, SALLE, C. T. P., NASCIMENTO, V. P. Número mais provável de *Salmonella* isoladas de carcaças de frango resfriadas. **Ciência Rural**, v.40, n.11, nov, 2010.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria da defesa Agropecuária. **Instrução Normativa SDA N.62, de 26 de agosto de 2003**. Métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água. In: Diário da República Federativa do Brasil. Brasília, 2003a.

BRASIL, Ministério da Agricultura e Abastecimento. **Instrução Normativa nº. 70, de 06 de outubro de 2003**. Programa de Redução de Patógenos – Monitoramento Microbiológico e Controle de *Salmonella sp.* em Carcaças de Frangos e Perus, 2003b. Seção 1, p.9.

BUITRAGO, Laura Yaneth Villarreal. Safe Management Model for the Use Of Killed Vaccines Against Salmonella. In: Seminário Internacional sobre Salmoneloses Aviárias. Rio de Janeiro. **Anais...** 2011.

CALDER, P. C., KEW, S. The immune system: a target for functional foods? **British Journal of Nutrition**, Wallingford, v.88, n.1, p.S165-S176, 2002.

CANTARELLI, V. S., FIALHO, E. T., ZANGERONIMO et al. Aditivos e coadjuvantes biológicos na alimentação de suínos. **Texto acadêmico**. UFLA, p.5-87, 2005.

CAPRILES, V. D., SILVA, K. E. A., FISBERG, M. Prebióticos, probióticos e simbióticos: nova tendência no mercado de alimentos funcionais. *Nutrição Brasil*, v.4, nº6, p.327-335, 2005.

CARDOSO, A. L. S. P., TESSARI, E. N. C. **Salmonela na Segurança dos Alimentos e na Avicultura**. Centro Avançado de Pesquisa Tecnológica do Agronegócio Avícola. São Paulo, SP. Número 80. 27/08/2008. Disponível em: [http://www.biologico.sp.gov.br/artigos\\_ok.php?id\\_artigo=80](http://www.biologico.sp.gov.br/artigos_ok.php?id_artigo=80). Acesso em: 09/06/2012.

CARDOSO, B., ROCHA, L. C. Controle de salmonelas em avicultura através do uso de vacinas. V Simpósio de Sanidade Avícola da UFSM. **Anais...** Santa Maria, RS, p. 95-98, 2006.

CONTRERAS, M., Prevención de la salmonelosis aviar. **Albítar Publicación para Veterinarios y Técnicos del Sector de Animales de Producción**, nº104, p.48-49, 2007.

CORRY, J. L. E., ALLEN, V. M., HUDSON, W. R., BRESLIN, M. F., DAVIES, R. H. 2002. Sources of *Salmonella* on broiler carcasses during transportation and processing: modes of contamination and methods of control. **Journal of Applied Microbiology**, 92:424-432, 2002.

CROSS, M. L. Microbes versus microbes: immune signals generated by probiotic lactobacilli and their role in protection against microbial pathogens. **FEMS Immunology and Medical Microbiology**, Amsterdam, v.34, n.4, p.245-253, 2002.

DAWSON, K. A., PIRVULESCU, M. Mananoligossacarídeos derivados de leveduras como moduladores da respostas imunológica e alternativas ao promotores de crescimento antimicrobianos. In: RONDA LATINO AMERICANA DA ALLTECH, 9.,1999, Curitiba, Paraná. **Anais...** Curitiba: Alltech, p.33-41, 1999.

DIBNER, J. J., BUTTIN, P. Use of organic acids as a model to study the impact of gut microflora on nutrition and metabolism. **Journal Applied Poultry Research**. 11:453-463, 2002.

DOBROGSZ, W. J., BLACK, B. L., CASAS, I. A. Delivery of viable *Lactobacillus reuteri* to the gastrointestinal tract of poultry. **Poultry Science**, v.70, p.158, 1991.

DUCHET-SUCHAUX, M., LÉCHOPIER, P, MARLY, J., BERNARDET, R D and PARDON, P. Quantification of experimental *Salmonella enteritidis* carrier state in B13 leghorn chicks. . **Avian Diseases**, v.39, p.796-803, 1995.

EDENS, F. W. Na alternative for antibiotic use in poultry: probiotic. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v.5, n.2, p.75-97, 2003.

FARIA, D. E., HENRIQUE, A. P. F., NETO, R. F. et al. Alternarivas ao uso de antibióticos como promotores de crescimento para frangos de corte: 2. Ácidos orgânicos e probióticos. **Ciência Animal Brasileira**, v.10, n.1, p.29-39, 2009.

FEDALTO, L. M., TKACZ, M., ADER, L. P. Uso de probióticos na alimentação de leitões em fase inicial de crescimento. **Anais...: X Congresso Brasileiro de Veterinários Especialistas em Suínos**, 2001, p.321-322.

FERKET, P. R. Fatores que afetam a resposta imunológica: nutrição. In: CONGRESSO DE PRODUÇÃO E CONSUMO DE OVOS, 1.,I, 1999, **Anais...** São Paulo: Associação Paulista de Avicultura, p.53-69, 1999.

FERREIRA, A. J. P., FERREIRA, C. A., PETRELLA NETO, R, OLIVEIRA, D. R., NUREMBERGER JÚNIOR, R., LOPES, V. C. B. A. Probiotics: benefits and efficiency in poultry production. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.65, p.139-149, 1998.

FERREIRA, F.A.B.; KUSSAKAWA, K.C.K. Probióticos. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, n. 16, p. 40-43, 2002.

FERREIRA, A. P., ASTOLFI-FERREIRA, C. S. Medidas inespecíficas para o controle bacteriano. In: Simpósio Brasil Sul de Avicultura, **Anais...** Chapecó, p.56-66, 2006.

FLEMMING, J. S. Utilização de leveduras, probióticos e mananoligossacarídeos (MOS) na alimentação de frangos de corte. 2005. 109 f. **Tese. (Doutorado em Tenologia de Alimentos)** – Universidade Federal do Paraná, Paraná, 2005.

FLÔRES, M. L., Avaliação da técnica em cadeia pela polimerase na detecção de *Salmonella* sp em ovos de galinhas artificialmente contaminados, em ovos comerciais do tipo colonial e em alimentos a base de ovos, envolvidos em surtos de infecções alimentares. **Tese de Doutorado**. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2001.

FLORES, F., VIVIAN, L. R. e LOVATO M. Os desafios da Salmonelose na saúde pública – **Boletim Informativo** Ano 4 - Número 4. Centro de Ciências Rurais/DMPV, Universidade Federal de Santa Maria, 2010.

FORSHELL, L.P., WIERUP, M. *Salmonella* contamination: a significant challenge to the global marketing of animal foods products. **Revue Scientifique Technique Office International des Epizooties**, Paris, v.25, n.2, p.541-554, 2006.

FREITAS, Josinete Barros de. Evolução de sorovares - Modelo de Banco de Cepas. In: Seminário Internacional sobre Salmoneloses Aviárias, Rio de Janeiro, RJ. **Anais...**, CD-ROM, 2011.

FULLER, R. Probiotics in man and animals. **Journal of Applied Microbiology**. Oxford, v.66, p.365-378, 1989.

FURLAN, R. L., MACARI, M., LUQUETTI, B. C. Como avaliar os efeitos do uso de prebióticos, probióticos e flora de exclusão competitiva. In: SÍMPOSIO TÉCNICO DE INCUBAÇÃO MATRIZES DE CORTE NUTRIÇÃO, 5., 2004, Balneário Camboriú, Santa Catarina. **Anais...** Balneário Camboriú, p.6-28, 2004.

GAST, R. K. *Salmonella* infections. In: SAIF, Y.M. et al. Diseases of poultry. 11.ed. **Ames**: Iowa State University. Cap.16, p.567-599, 2003.

GHADBAN, G. S. Probiotics in Broiler production – a review. Arch. Geflugelk. v.66, n.2, p.49-58, 2002.

GIL DE LOS SANTOS, J. R., GIL-TURNES, C. Probióticos em avicultura. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.35, n.3, p.741-747, maio/jun. 2005.

GONZALES, E. Ação pró-nutritiva dos aditivos alimentares. Curso de fisiologia da digestão e metabolismo dos nutrientes em aves. Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP. Jaboticabal, 2004.

GRIMONT, P. A. D., WEILL, F. X. Antigenic Formulae of the *Salmonella* Serovars. **WHO Collaborating Center for Reference and Research on Salmonella**. France: Institute Pasteur. 2007.

GUARD-PETTER, J. The chicken, the egg and *salmonella enteritidis*. Environmental microbiology, v.3, p.421-430, 2001.

GUIBOURDENCHE, M., ROGGENTIN, P., MIKOLEIT, M., FIELDS, P. I., BOCKEMÜHL, J., GRIMONT, P. A. D., WEIL, F.-X. Supplement 2003 – 2007 (No. 47) to the White – Kauffmann – Le Minor scheme. **Research in Microbiology**. v.161, p. 26 – 29, 2010.

GUPTA, V., GARG, R. Probiotics. **Indian Journal Med. Microbiol.** 27 (3): 202-209, 2009.

HAVENAAR, R., HUIS IN'T VELD, M. J. H. Probiotics: a general view. In: WOOD, B. J. B. **Lactic acid bacteria in health and disease 1**. Amsterdam : Elsevier Applied Science, p.151-170, 1992.

HERMANN, S. Principais pontos críticos de controle de ciclo da Samonella na cadeia de produção avícola. XIII Simpósio Brasil Sul de Avicultura, 2012. Chapecó (SC). **Anais...Chapecó**,p.13-26, 2012.

HONG, H. A., DUC, L. H., CUTTING, S. M. The use of bacterial spore formers as probiotics. **FEMS Microbiology Review, Amsterdam**, v.29, p.813-835, 2005.

HUYGHEBAERT, G. Replacement of antibiotics in poultry, In: EASTERN NUTRITION CONFERENCE, v.80, Quebec City. **Anais...** Quebec City: UON, p.1-23, 2003.

JANSEN, G. J. & VAN DER WAAIJ, D. Old herboren university seminar on probiotics: prospects of use in opportunistic infections - review of the internal discussion. In: OLD HERBORN UNIVERSITY SEMINAR MONOGRAPH, 1995, Herborn-Dill. *Probiotics: Prospects of Use in Opportunistic Infections*. Herborn-Dill: **Institute for Microbiology and Biochemistry**, p.173-184, 1995.

JOINT FAO/WHO. Food and Agricultural Organization/World Health Organization *Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food*. London, Ontario, Canada. April 30 and May 1, 2002, 11p.

JOINT WHO/FAO/OIE. Food and Agricultural Organization/World Health Organization Background document for the Joint WHO/FAO/OIE expert. In: **Workshop on nonhuman antimicrobials usage and antimicrobials resistance scientific assessment**. Geneva, Switzerland, December 1-5, 117 p., 2003.

JUNQUEIRA, O. M. Uso de aditivos em rações para suínos nas fases de creche, crescimento e terminação. Revista Brasileira de Zootecnia. Viçosa v.38, n. 12 Dezembro de 2009.

LEEDLE, J. Probiotics and DFMs – Mode of action in the gastrointestinal tract. In: SIMPÓSIO SOBRE ADITIVOS ALTERNATIVOS NA NUTRIÇÃO ANIMAL, 2000, Campinas. **Anais...** Campinas, p.17-27, 2000.

LILLEHOJ, E. P., YUN, C. H, LILLEHOJ, H. S. Vaccines against the avian enteropathogens *Eimeria*, *Cryptosporidium* and *Salmonella*. *Anim. Health Res. Rev.* 1:47–65, 2000.

LIMA, C. A. R. Planos de alimentação e tipos de dieta para frangos de corte. 1988. 88 f. Dissertação (Mestrado em Nutrição de Monogástrico) Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1988.

LIMA, A. C. F. et al. Efeito do uso de probióticos sobre o desempenho e atividade de enzimas digestivas de frangos de corte. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.32, n.1, p.200-207, 2003.

LING, J. M., LO, N. W. S., HO, Y. M., KAM, K. M., HOA, N. T. T., PHI, L. T, CHENG, A. F. Molecular methods for the epidemiological typing of *Salmonella enterica* serotype typhi from Hong Kong -Vietnam. **Journal of Clinical Microbiology**. v.38. n.1, p.292 - 300, 2000.

LOODDI, M. M. Probióticos , prebióticos e acidificantes orgânicos em dietas para frangos de corte, 2003. 52 f. **Tese (Doutorado em Zootecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias**. Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Jabotical, 2003.

LOURENÇON, L., NUNES, R. V., POZZA, P. C., POZZA, M. S. S., APPELT, M. D., SILVA, W. T. M. Utilização de promotores de crescimento para frangos de corte em rações fareladas e peletizadas. **Acta Scientiarum Animal Science**, v.29, n.2, p.151-158, 2007.

LOVATO, M.. **Doenças das Aves**, Coleção Ciências Rurais, UFSM, Santa Maria, p.167, 2009.

LOZANO, F. Uso de uma bacterina contra *Salmonella enteritidis* como parte integral de um programa de controle na indústria avícola. In: SIMPÓSIO TÉCNICO DE PRODUÇÃO DE OVOS – APA, 6, 1996, São Paulo. **Anais...** São Paulo: Associação Paulista de Avicultura, p. 107 – 126, 1996.

MACARI, M., MAIORKA, A. Função gastrointestinal e seu impacto no rendimento avícola. **Anais...**: Conferência APINCO, p. 162-174, v.2. 2000.

MAIORKA, A., SANTIN E., SUGETA S. M. Utilização de Prebióticos, Probióticos ou Simbióticos em Dietas para Frangos. *Revista Brasileira de Ciências Avícola*, v.3, n.1, p.75-82, 2001.

MENTEN, J. F. M., LODDI, M. M. Probióticos, prebióticos e aditivos fitogênicos na nutrição de aves. In: SIMPÓSIO DE NUTRIÇÃO DE AVES E SUÍNOS, 2003, Campinas, São Paulo. **Anais...** Campinas: Colégio Brasileiro de Nutrição Animal, p.107-138, 2003.

MENTEN, J. F. M., PEDROSO, A. A. Fatores que interferem na eficácia de probióticos. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIAS AVICOLAS, 2005, Santos, São Paulo. **Anais...** Campinas: FACTA, p.41-52, v. 1, 2005.

MORGULIS, M. S. Imunologia aplicada. In: MACARI, M., FURLAN, R. L., GONZALES, E. Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte. Jaboticabal: FUNEP/UNESP, p. 375, 2002.

MUIR, L. A. Mode of action of exogenous substances on animal growth: an overview. **Journal Animal Science**, n.61, p.154-180, 1985.

MULDER, R. W. A. W., HAVENAAR, R., MUIS IN'T VELD, J. M. J. Intervention strategies: The use of probiotics and competitive exclusion microfloras against contamination with pathogens in pigs and poultry. In FULLER, R. Probiotics 2: applications and practical aspects. London: Chapman & Hall, 1997, p.160 – 200.

MUNIZ, E. C. Atualidades no estudo das salmoneloses aviárias. XIII Simpósio Brasil Sul de Avicultura, 2012. Chapecó (SC). **Anais...** Chapecó, p.13-26, 2012.

MURAROLLI, V. D. A. Efeito de Prebiótico, Probiótico e Simbiótico sobre o Desempenho, Morfologia Intestinal e Imunidade de Frangos de Corte. 2008. 101p. **Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária)** – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassuninga, 2008.

NAGARAJA, K.V., POMEROY, B. S., WILLIAMS, J.E. Paratyphoid infections. In: CALNEY, B. W. et al. **Diseases of Poultry**, 9 ed., Iowa: Iowa State University Press, 929 p., cap.3, p. 99 – 129, 1991.

NASCIMENTO, V. P. Salmoneloses paratíficas: Uma revisão e situação atual. In: SIMPÓSIO TÉCNICO DE PRODUÇÃO DE OVOS – APA, 6, 1996, São Paulo. **Anais**. São Paulo: Associação Paulista de Avicultura, p. 93- 116, 1996.

NASCIMENTO, V. P., A legislação internacional para *Salmonella* em carne de frango e suas implicações na exportação brasileira. XI Simpósio Brasil Sul de Avicultura e II Brasil Sul Poultry Fair, 6 a 8 de abril de 2010. Chapecó, SC, **Anais...**, p-17-27, 2010.

NUNES, A. D. Influência do uso de aditivos alternativos a antimicrobianos sobre o desempenho, morfologia intestinal e imunidade de frangos de corte. 2008. 111f. **Tese (Mestrado em Medicina Veterinária)** – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga – SP, 2008.

O'TOOLE, P. W., COONEY, J. Review Article: Probiotic bacteria influence the composition and function of the intestinal microflora. Interdisciplinary perspectives on infectious disease, 9p, 2008.

OTUTUMI, L. K. **Uso de probiótico para codorna de corte.** 2006. 80 f. **Tese (Doutorado em Zootecnia)** – Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2006.

PALMU, L., CAMELIN, I. The use of competitive exclusion in broilers to reduce the level of Salmonella contamination on the farm and at the processing plant. *Poultry Science*, v. 76, p. 1501 – 1505, 1997.

PARKER, R. B. Probiotics, the other half of the antibiotic story. **Animal Nutritional Health**, v.29, p.4-8, 1974.

PATTERSON, J. A., BURKHOLDER, K. M. Application of prebiotics and probiotics in poultry production. **Poultry Science**, v.82, p.627-631, 2003.

PEDROSO, A. A. Estrutura da comunidade de *Bacteria* do trato intestinal de frangos suplementados com promotores de crescimento. 2003. 75f. **Dissertação (Doutorado em agronomia)** - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba – SP.

PELICANO, E. R. L., SOUZA, P. A., SOUZA, H. B. A., NORKUS, E. A., KODAWARA, L. M., DE LIMA, T. M. A. Morfometria e Ultra-Estrutura da Mucosa Intestinal de Frangos de Corte alimentados com Dietas contendo diferentes Probióticos. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v.98, n.547, p.125-134, 2003.

PELICANO, E. R. L., SOUZA, P. A., SOUZA, H. B. A., LEONEL, F. R., ZEOLA, N. M. B. L., BOIAGO, M. M. Productive traits of broiler chickens fed diets containing different growth promoters. **Brazilian Journal of Poultry Science**, Campinas, v.6, n.3, p.177-182, 2004 a.

PELICANO, E. R. L., SOUZA, P. A., SOUZA, H. B. A., OBA, A., NORKUS, E. A., KODAWARA, L. M., LIMA, T. M. A. Performance of broilers fed diets containing natural growth promoters. **Brazilian Journal of Poultry Science**, Campinas, v.6, n.4, p.231-236, 2004 b.

PERDIGÓN, G., HOLGADO, A. P. R. Mechanisms involved in the immunostimulation by lactic acid bacteria. In: FULLER, R., PERDIGÓN, G. Probiotics 3: Immunodulation by the Gut Microflora and Probiotics. Dordrecht : Kluwer Academic, 2000, p.213-233.

PHILLIPS, I., CASEWELL, M., COX, T., DE GROOT, B., FRIIS, C., JONES, R., NIGHTINGALE, C., PRESTON, R., WADDEL, J. Does the use of antibiotics in food animals pose a risk to human health?. A critical review published data. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, London, v.53, p.28-52, 2004.

PORTER, S. B., CURTISS, R.. Effect of inv Mutations on *Salmonella* Virulence and Colonization in – Day – Old White Leghrn Chicks. **Avian Diseases**, v. 41, p. 45 – 57, 1997.

QURESCHI, M. D. A. Interação entre nutrição e o sistema imune e produtividade das aves. In: CONFERÊNCIA APINCO 2002 DE CIÊNCIA E TENOLOGIA AVÍCOLA, 2002. Campinas. **Anais...** Campinas: Fundação APINCO de Ciências e Tecnologias Avícolas, p.243-251,v.2, 2002.

RAMOS, L. S. N. Aditivos alternativos a antibióticos em rações para frangos de corte. 2009. 86 folhas. **Tese (Doutorado em Ciência Animal)** – Centro de Ciências Agrárias/Universidade Federal do Piauí. 2009.

REVOLLEDO, L. Alternativas para o controle de *Salmonella*. IX Simpósio Brasil Sul de Avicultura, 2008. Chapecó (SC). **Anais...**Chapecó, p.95-110, 2008.

RODRIGUES, D. P. Perspectivas atuais e falhas no diagnóstico antigênico de *Salmonella* spp: importância no reconhecimento dos sorovares circulantes, emergentes e exóticos In: Seminário Internacional Sobre Salmoneloses Aviárias, 2011, Rio de Janeiro, RJ. **Anais...**, 1 CD -ROM.

ROLAND, K., TINGE. S., WARNWER, E., SIZEMORE, D. Comparison of different attenuation strategies in development a *Salmonella* Hadar vaccine. **Avian Disease**, v.48, p.445-452, 2004.

ROLFE, R. D. The role of probiotic cultures in the control of gastrointestinal health. *J. Nutr.*, v.130, p.396-402, 2000.

ROY, P.; DHILLON, A.S.; LAUERMAN, L.H.; SCHABERG, D.M.; BANDLI, D.; JOHNSON, S. Results of *Salmonella* isolation from poultry products, poultry, poultry environment, and other characteristics. *Avian Diseases*, v.47, p.17-24, 2002.

RUTZ, F., LIMA, G. J. M. M. Uso de antimicrobianos como promotores de crescimento no Brasil. **Anais...: X Congresso Brasileiro de Veterinários Especializados em Suínos**, 2001, p.68-77.

SAAD, S. M. Probióticos e prebióticos: o estado da arte. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 42, nº1, 2006.

SAGPyA (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación). Área avícola-Dirección de Animales Menores y Granja. 2009.

SALMINEN, S. Probiotics: how should they be defined? **Trends Food Sci. Technol.**, v. 10, p.107- 110, 1999.

SANTOS, Ione Iolanda dos. Efeitos de probiótico, óleos essenciais, e enzimas em parâmetros produtivos e sanitários de frangos de corte. 2010. 207f. **Tese (Doutorado em Zootecnia)** - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 2010.

SANTOS, D.M.S.; JUNIOR, A.B.; FERNANDES, S.A.; TAVECHIO A.T.; AMARAL L.A. Salmonella em Carcaças de Frango Congeladas. Pesquisa Veterinária Brasileira. Seropédica, vol. 20. n.1. 2000.

SANTOS, J. R. G., TURNES, C. G. Probióticos em avicultura. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.35, n.3, p.741-747, 2005.

SANTURIO, J. M., SANTURIO, D. F., FRANCHIN, P. R., POZZATTI, P., ALVES, S. H., MORAES, C. Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de orégano, tomilho e canela, frente a sorovares de *Salmonella enterica* de origem avícola. **Ciência Rural**, v. 37, n.3, p.803-808, 2007.

SCHREZENMEIR, J., VRESE, M. Probiotics, prebiotics and synbiotics – approaching a definition. **Am J Clin Nutr.** v.73, n.2, Suppl. (361-64), 2001.

SCHNEITZ, C. Competitive exclusion in poultry – 30 years of research. **Food control, Guildford**, v.16, p.657 – 667, 2005.

SILVA, E.N. *Salmonella enteritidis* em avicultura, o que de prático podemos fazer?In: CONFERENCIA APINCO 96 DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 1996, Curitiba. **Anais...** Campinas: associação dos Produtores de pintos de corte. 210p, p.207 – 210, 1996.

SILVA, E. N. *Salmonella Enteritidis* em aves e saúde pública. **Higiene Alimentar.** v.9, p.9-12, 1998.

SILVA, E. N. Probióticos em ração para frangos de corte. 1999. 66 p. Dissertação (Mestrado em Nutrição de Monogástricos) Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1999.

SILVA, E. N. Probióticos e prebióticos na alimentação de aves. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLA, 2000, Campinas, São Paulo. **Anais...** Campinas: FACTA, v. 2, p.241-251, 2000a.

SILVA, E. N., ALVES FILHO, R. L. Probióticos e prebióticos na avicultura. **II Simpósio de Sanidade Avícola**, Santa Maria, RS. 2000b.

SILVA, E. N., DUARTE, A. Salmonella Enteritidis em aves: Retrospectiva no Brasil. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**. São Paulo, v.4, n.2, maio – agosto, p. 85-100, 2002.

SIMON, O., JADAMUS, A., VAHJEN, W. Probiotic feed additives - effectiveness and expected modes of action. **Journal Animal Feed Science**. 10:51–67, 2001.

TAVECHIO, A. T.; GHILARD, A. C. R.; PERESI, J. T. M.; FUZIHARA, T. O.; YONAMINE, E. K.; JAKABI, M.; FERNANDES, S. A. Salmonella serotypes isolated from nonhuman sources in São Paulo, Brazil, from 1996 through 2000. *Journal of Food Protection*, Ames, v.65, n. 6, p.1042-1044; 2002.

TELLEZ, G., PIXLEY, C., WOLFENDEN, R. E., Layton, S. L., HARGIS, B. M. Probiotics/direct fed microbials for Salmonella control in poultry. **Food Research International** 45, p.628–633, 2012.

UBABEF. União Brasileira de Avicultura. Relatório **Anual UBABEF** 2010/2011. Disponível em: [http://www.abef.com.br/ubabefnovo/publicacoes\\_relatoriosanuais.php](http://www.abef.com.br/ubabefnovo/publicacoes_relatoriosanuais.php). Acesso em: 25/10/2012.

VAN IMMERSEEL, F., DE BUCK, J., MEULEMANS, G., PASMANS, F., VELGE, P.; BOTTREAU, E., HAESBROUCK, F., DUCATELLE, R. Invasion of *Salmonella* Enteritidis in avian intestinal epithelial cells in vitro is influenced by short-chain fatty acids, **International Journal of Food Microbiology**, v.85, p.237 – 248, 2003.

VAN IMMERSEEL, F., DE BUCK, J., PASMANS, F., HUYGHEBAERT, G., HAESBROUCK, F., DUCATELLE, R.. *Clostridium perfringens* in poultry: an emerging threat for animal and public health. **Avian Pathology**, v.33, p.537-549, 2004.

WARD, L. R. *Salmonella enteritidis* epidemic. **Science**, v.287, p.1754, 2000.

WEISS, L. H. N., NONIG, R., CARDOSO, M., COSTA, M. Occurrence of *Salmonella* sp in finishing pigs in Rio Grande do Sul, Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v.22, n.3, p.104-108, 2002.

WILLIS, W. L., ISIKHUEMHEN, O. S., HURLEY, S., OHIMAIN, E. I. Effect of phase feeding of fungus Myceliated grain on oocyst excretion and performance of boiler chicken. **International Journal Poultry Science**,10(1): 1-3. 2011.

## **CAPÍTULO 1**

### **PROBIÓTICOS E SIMBIÓTICOS SOBRE O DESEMPENHO ZOÓTECNICO, MORFOMETRIA INTESTINAL DE FRANGOS DE CORTE DESAFIADOS COM *SALMONELLA* ENTERITIDIS**

## **PROBIÓTICOS E SIMBIÓTICO SOBRE O DESEMPENHO ZOÓTECNICO E MORFOMETRIA INTESTINAL DE FRANGOS DE CORTE DESAFIADOS COM *SALMONELLA ENTERITIDIS***

José Rodolfo dos Santos, Médico Veterinário

Laboratório de Inovações Avícolas, Departamento de Zootecnia, Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Campus Dois Vizinhos, Paraná, Brasil.

### **RESUMO**

O objetivo deste trabalho foi avaliar probióticos e simbiótico sobre o desempenho zootécnico e morfometria intestinal de frangos de corte desafiados com *salmonella enteritidis*. Foram utilizados 468 frangos de corte fêmeas, com peso médio inicial de  $47,37 \pm 0,31$ g da linhagem Cobb 500, com 31 dias. Foi utilizado delineamento experimental de blocos causalizados (DBC) com seis tratamentos e seis repetições, com 13 aves/box no início do experimento. Os tratamentos utilizados foram: T1 - Controle sem probiótico (solução salina estéril); T2 – Probiótico flora definida 7 cepas; T3 - Probiótico flora definida 11 cepas; T4 - Probiótico flora indefinida líquida; T5 - Probiótico flora indefinida liofilizada; T6 Simbiótico. A água de bebida foi a via utilizada para fornecimento dos probióticos, sendo fornecida durante 12 horas ao dia por três dias consecutivos. Semanalmente, foi realizada a pesagem de todas as aves, das sobras de ração e da conversão alimentar. A mortalidade era contabilizada em cada box e ao final calculou-se a porcentagem de mortalidade em cada tratamento. Os resultados obtidos foram submetidos a ANOVA utilizando o programa estatístico *R Development Core Team* e as médias de peso, mortalidade e conversão alimentar foram comparadas pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade. Para os parâmetros de altura de vilosidade e profundidade de cripta, avaliados no duodeno, jejuno e íleo, utilizou-se à análise de variância com teste de Tukey, ao nível de 5% de significância. Não foram observadas diferenças ( $p \geq 0,05$ ) entre os tratamentos no desempenho zootécnico (conversão alimentar, mortalidade e peso médio) das aves em nenhuma das idades avaliadas. Um dos probióticos de flora indefinida e o simbiótico apresentaram diferenças ( $p \geq 0,05$ ) na altura de vilosidade do duodeno aos 5 dias.

**Palavras-Chave:** Avicultura. Vilosidade Intestinal. Segurança Alimentar.

## DESCRIÇÃO DO PROBLEMA

Na indústria alimentícia as toxinfecções alimentares são muito preocupantes e a salmonelose é considerada uma das mais frequentes. Em aves essas infecções são responsáveis por uma variedade de doenças agudas e crônicas Cardoso et al [1].

Em saúde pública, as salmonelas destacam-se com grande importância pela sua ampla e variada ocorrência no homem e em animais (mamíferos, répteis e aves), sendo que as aves ocupam o ponto central na epidemiologia das salmoneloses entéricas, representando um reservatório de grande importância sanitária e difícil controle Borsoi et al. [2]. Dentre os diversos sorovares de salmonellas existentes, os Sorovares de *Salmonellas* entéricas continuam presentes entre os mais importantes patógenos de origem alimentar em todo o mundo, devido as consideráveis taxas de morbidade humanas, as grandes espécies hospedeiras que são colonizadas pelos membros deste gênero, que serve como vetor e reservatório para a difusão destes agentes para animais e populações humana Tellez et al. [3].

Diversas medidas profiláticas têm sido utilizadas para controlar a infecção de *Salmonella* na produção de aves incluindo o uso de antibióticos, exclusão competitiva e produtos probióticos, a seleção genética de linhas de frango para uma melhor resposta imunológica e o desenvolvimento de vacinas de *Salmonella* Lillehoj et al. [4].

Buscando alternativas, a fim de garantir o desempenho produtivo e a segurança alimentar dos consumidores, surgiu um novo conceito de aditivo chamado de “probiótico”. Culturas probióticas têm sido avaliadas para esta finalidade com algum sucesso Hijjins et al. [5]

Os probióticos são constituídos por microrganismos vivos e viáveis Schrezenmeir et al [6]. São culturas únicas ou mistas de microrganismos que, administrados a animais ou humanos, produzem efeitos benéficos no hospedeiro por incremento das propriedades da microbiota nativa Havenaar et al [7]. Normalmente presentes no trato gastrointestinal ou por vezes, de vida exterior (ex. *Bacillus subtilis* e *Bacillus licheniformis*). Estes podem ser constituídos por culturas

indefinidas em que nem todos os seus microrganismos são conhecidos, ou culturas definidas, nas quais a sua composição é completamente conhecida Schrezenmeir et al [8].

A combinação de prebióticos e probióticos é denominada simbiótico e constitui um novo conceito na utilização de aditivos em dietas de aves. Esta associação é uma alternativa interessante no sentido de melhorar a sanidade do intestino delgado e cecos dos frangos de corte, através dos mecanismos fisiológicos e microbiológicos. A ação simbiótica estabiliza o meio intestinal e aumenta o número de bactérias benéficas produtoras de ácido láctico, favorecendo a situação de eubiose Furlan et al [9].

O objetivo do presente estudo é elaborar um artigo verificando qual a Influência dos probióticos de diferentes constituições: de culturas definidas, culturas indefinidas e simbióticos sobre o desempenho e morfologia intestinal dos frangos de corte após contaminação por *Salmonella* Enteritidis.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **Local e Período do Experimento**

Este trabalho foi desenvolvido no aviário experimental do Laboratório de Inovações Avícolas/LINAV da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Câmpus Dois Vizinhos. As análises laboratoriais de morfometria intestinal foram realizadas no departamento de histopatologia do laboratório Mercolab, localizado na cidade de Cascavel-PR, no período de outubro de 2011 a fevereiro de 2012. Os procedimentos da pesquisa foram submetidos e aprovados pelo Comitê de ética e pesquisa animal da referida Universidade, seguindo as determinações do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

## **Animais e Dieta do Experimento**

Utilizaram-se 468 frangos de corte da linhagem Cobb Slow, com peso médio inicial de  $47,37 \pm 0,31$ g, fêmeas, vacinados no incubatório contra doença de Marek, Bouda Aviária e Bronquite Infecciosa.

As aves foram mantidas do 1° ao 31° dia de vida em temperatura ideal de conforto em função da idade, com fornecimento de água e ração *ad libitum*, sendo a dieta balanceada a base de milho e farelo de soja e utilizadas quatro fases de rações experimentais: fase pré-inicial (1 a 8 dias), a fase inicial (9 a 18 dias de idade), fase de crescimento (19 a 26 dias de idade) e fase final (27 a 31 dias de idade). Nas rações definidas pelas fases pré-inicial e inicial continham medicamento coccidiostático e promotor de crescimento (Nicarbazina, Narasina e Enramicina), na fase de crescimento foi utilizado como coccidiostático a Salinomicina e a Enramicina como promotor de crescimento. Sendo que, a fase final, diferente das demais, não possuiu promotor de crescimento e nem medicamento coccidiostático. As dietas foram formuladas de acordo com as exigências nutricionais indicadas por Rostagno et al [10].

## **Manejo, Instalações e Equipamentos**

O experimento foi conduzido em um galpão de alvenaria, com pé direito de 3,00m, com cobertura de telha de barro; piso de cimento; muretas laterais de 1,00m de altura, fechado lateralmente com tela de arame de malha 2 cm e cortinado externo móvel de polietileno trançado.

O galpão possuía divisões internas (box) de 2m<sup>2</sup>. Cada box foi equipado com bebedouro tipo *nipple*, contendo 5 bicos por box e comedouro tubular com capacidade para 25 kg, onde na primeira semana de vida das aves, os equipamentos eram colocados em contato com a cama, um pouco pressionados sobre a maravalha, favorecendo o acesso das aves a comida e a bebida. O sistema de limpeza dos bebedouros foi realizado através do “*flushing*”, os comedouros manejado para a ração estavam sempre à disposição das aves. Para o aquecimento inicial das aves, instalou-se um forno a lenha manual com reposições de 3 em 3 horas. A cama empregada

às aves, era cama nova e de cepilho de madeira (maravalha) com aproximadamente 7 cm de espessura para todos os box. A ventilação utilizada foi do tipo natural sem utilização de ventiladores.

Para prevenir que os microorganismos dos tratamentos suplementados com probióticos, colonizadores do trato gastrointestinal das aves e conseqüentemente do meio ambiente, contaminassem os ambientes ausentes destes microorganismos, foram adotadas algumas medidas de biosseguridade durante o manejo diário dos tratamentos. Entre elas, foi ordenado o manejo de forma que os boxes dos tratamentos com probióticos fossem sempre os últimos a serem manejados. Também foi empregado o uso de diferentes sacos plásticos protetores nos calçados para o manejo de cada box dos diferentes tratamentos, sendo eles com probióticos ou sem probióticos.

### **Delineamento Experimental**

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados com 6 tratamentos e 6 repetições cada, totalizando 36 boxes medindo 1,02 m<sup>2</sup> cada box, com 13 aves/box (densidade inicial de 13 aves/m<sup>2</sup>). As 468 aves foram distribuídas aleatoriamente nas unidades experimentais. Os seis tratamentos foram: T1(identificado como A) - Controle sem probiótico; T2 - Probiótico B (flora definida, forma liofilizada, 7 cepas: *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Bifidobacterium bifidum*, *Streptococcus thermophilus*, *Enterococcus faecium*); T3 - Probiótico C (flora definida, forma liofilizada, 11 cepas: *Lactobacillus bulgaricus* (3 cepas), *Lactobacillus casei* (2 cepas), *Lactobacillus cellobiosus* (2 cepas), *Lactobacillus fermentum* (3 cepas) e *Lactobacillus helveticus* (1 cepa); T4 - Probiótico D (flora indefinida, forma líquida, microflora intestinal de aves SPF (*Specific Pathogen Free*) bactérias anaeróbicas, bactérias do gênero *Enterococcus* e bactérias produtoras de ácido láctico); T5 - Probiótico E (flora indefinida, forma liofilizada, microflora intestinal de aves SPF (*Specific Pathogen Free*); T6 – Probiótico F (simbiótico, promovem uma microbiota de intestino benéfica através de ações combinadas de microorganismos probióticos cuidadosamente selecionados e prebióticos frutooligossacarídeos).

Todos os probióticos utilizados são produtos comerciais disponíveis no mercado brasileiro e registrados no Ministério da Agricultura. A via de aplicação utilizada foi a água de bebida das aves. Os probióticos foram fornecidos 1 hora após a inoculação de *Salmonella* Enteritidis, com 12 horas de tratamento com probióticos, durante 3 dias consecutivos (1º, 2º e 3º dia de idade das aves).

### **Preparação do inóculo de *Salmonella* Enteritidis e desafio das aves**

A cepa de *Salmonella* Enteritidis, isolada de uma amostra de campo resistente ao ácido nalidíxico (100µg/mL de meio), foi recuperada a partir de culturas liofilizadas. A cultura foi semeada em xilose ágar desoxicolato lisina (XLD, Difco) e incubadas a 37° C durante 24 horas. Para o preparo do inóculo uma colônia foi retirada do Agar estoque e incubada em solução de BHI (Brain Heart Infusion) por 24h a 37°C. Em seguida, semeou-se esta solução em uma placa de Ágar Mueller Hinton por 24h a 37°C. A placa foi lavada, com solução fisiológica estéril, e retirou-se o líquido que foi diluído até a concentração 4 da escala de MacFarlad, que corresponde a concentração de  $1,2 \times 10^9$  de Unidades Formadoras de Colônias (UFC) de *Salmonella* Enteritidis/ml. Foram realizadas diluições seriadas para a determinação das unidades formadoras de colônia.

No momento do alojamento todas as aves foram desafiadas com 1 ml de uma solução contendo  $1,2 \times 10^9$  UFC de *Salmonella* Enteritidis/ml, através de uma pipeta estéril de 3 ml por via oroesofágica.

### **Parâmetros Avaliados**

#### **A) Desempenho Zootécnico**

As variáveis zootécnicas analisadas foram: peso médio ao 1º, 7º, 14º, 21º e 31º dias de idade, mortalidade e conversão alimentar total conforme metodologia proposta por Miragliotta [11].

## **B) Avaliação da Altura e das Vilosidades Intestinais**

### **Necropsia**

Em cada uma das idades 5, 21 e 31 dias de idade, dos 6 box existentes foram sorteados 5 box aleatoriamente para coleta das amostras. Depois foram retiradas 1 ave de cada box sorteado onde estas sofreram eutanásia por deslocamento cervical e necropsia.

As amostras de intestino delgado para a observação e análise da morfologia do trato intestinal, foram devidamente colhidas em fragmentos de 2 cm do duodeno, jejuno e íleo, sendo estes cortes na forma circular sem a abertura longitudinal das porções coletadas.

Para a porção do duodeno a coleta ocorreu cerca de 4 cm após o final do pâncreas, para referência na coleta do jejuno e íleo foi tomado o divertículo de Meckel, para a coleta da porção do jejuno foi realizada após 4 cm da porção distal do ponto de referência e para o íleo a coleta foi 4 cm após a identificação do divertículo.

Imediatamente após o sacrifício das aves, as porções intestinais foram coletadas, lavadas em solução fisiológica e posteriormente fixadas em formalina (10%) Tomasi [12].

### **Histopatologia e Morfologia Intestinal**

No laboratório, foram separados dois fragmentos de cada porção intestinal coletada. Posteriormente esses fragmentos foram desidratados em uma série de concentrações crescentes de álcool, diafinizados em xilol e incluídos em parafina para obtenção dos cortes histológicos longitudinais e semi-seriados. Na confecção das lâminas, cada fragmento foi dividido em um total de cinco cortes semi-seriados em uma espessura de três a cinco micrômetros de espessura e posteriormente corados pelo método de Hematoxilina-Eosina (HE).

As lâminas foram avaliadas, morfometricamente, por meio de um microscópio óptico para a observação do desenvolvimento intestinal. A morfometria foi realizada por meio de uma régua micrométrica acoplada à ocular do microscópio onde foi mensurada a altura das vilosidades e a profundidade das criptas, randomicamente, em um total de 10 por porção

intestinal em um aumento de 4x. Esses valores obtidos foram convertidos em micrômetro e avaliados estatisticamente conforme o tipo de tratamento realizado no experimento.

Para avaliação dos parâmetros da morfologia intestinal foram separados dois fragmentos de cada porção intestinal coletada, onde foi ocupado somente um fragmento de cada lâmina, a qual representou uma ave por tratamento. No final obteve-se 5 aves com suas porções intestinais analisadas para cada tratamento.

Os parâmetros avaliados foram feitos por meio de um microscópio óptico com aumento de 4x, onde foram feitas análises visuais observando a presença ou ausência de alguns parâmetros, tais como: Descamação, inflamação, necrose, parasitas, congestão e criptas císticas, segundo parâmetros de Tomasi [12].

Foram analisados seis parâmetros na morfologia intestinal dos quais temos os seguintes: Descamação, inflamação, necrose, parasitas, congestão e criptas císticas. Sendo que o único parâmetro onde foi observada alguma alteração foi em relação à descamação intestinal para as três idades analisadas. Estes dados para a descamação intestinal podem ser vistos na tabela 6, onde teremos dados para os seis tratamentos distribuídos nas três porções do intestino que foram duodeno, jejuno e íleo, nas idades 5, 21 e 31 dias.

### **Análise Estatística**

Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) utilizando o programa estatístico *R Development Core Team* [13] e as médias de peso médio, mortalidade e conversão alimentar foram comparadas pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade.

Para os parâmetros de altura de vilosidade e profundidade de cripta, avaliados no duodeno, jejuno e íleo. Foram submetidos à análise de variância com teste de Tukey, ao nível de 5% de significância. As variáveis que não apresentaram normalidade foram transformadas aplicando-se a transformação de boxcos (lâmbda). Foi realizada a correção linear entre as variáveis: altura de vilosidades e profundidade de criptas.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Desempenho Zootécnico

Os resultados de desempenho zootécnico (peso médio, conversão alimentar e mortalidade) de frangos de corte de 1º ao 31º dia de idade estão apresentados nas Tabelas 1 e 2. Para os valores de peso médio das aves nas diferentes idades submetidas aos tratamentos com diferentes probióticos de flora definida e indefinida, observados na Tabela 1, não foram observadas diferenças ( $p \geq 0,05$ ) em nenhuma das idades avaliadas.

Para os dados sobre conversão alimentar e mortalidade descritos na Tabela 2, no período de 1 a 31 dias de idade, também não foram observadas diferenças significativas ao nível de 5% em nenhuma das variáveis analisadas.

Nas Tabelas 1 e 2 para os dados de peso corporal, conversão alimentar e mortalidade não ocorreu diferenças estatísticas, porém observa-se que houve diferenças numéricas expressivas, nos três parâmetros avaliados. O fato de não ter ocorrido esta diferença estatística pode nos três parâmetro avaliados, pode ser explicado pelo baixo número de aves coletadas para amostragem o que ocasionou um grande desvio padrão.

Para os resultados obtidos neste experimento, quanto ao desempenho zootécnico em relação a outros experimentos onde também ocorreu um desafio com *Salmonella* patogênica, temos situações de tratamentos realizadas com produtos a base de probióticos e com ácidos orgânicos.

Nos tratamentos com probióticos podemos citar as observações descritas por Rossi et al. [14], que relataram que a maioria das publicações existentes com desafios feitos com *Salmonella* patogênica, não apresentam diferenças nos resultados de desempenho zootécnico das aves, e os que apresentam, não submetem os animais a um desafio sanitário. Esta diferença, entre os dados zootécnicos e sanitários, dificulta a comparação dos resultados obtidos, com os dados de outros autores.

Referindo-se aos estudos com ácidos orgânicos para controle de *Salmonella*, segundo Pickler et al. [15], no desempenho de frangos de corte apresentam resultados contraditórios, provavelmente devido aos diferentes mecanismos de ação, condições ambientais, dose e produto utilizado e parâmetros avaliados.

Desempenhos produtivos obtidos pela utilização de probióticos de culturas definidas e indefinidas foi constatado dados controversos. Sintetizando as citações de alguns autores quanto ao efeito positivo para o desempenho produtivo, referente à utilização de probióticos de culturas definidas Vila et al. [16]; Ashayerizadeh et al. [17]; Mountzouris et al. [18]; Mallo et al. [19]; Saadia et al [20].

A administração de probióticos de culturas definidas relacionados ao gênero *Lactobacillus* em frango e perus melhorou o desempenho zootécnico e reduziu os custos de produção como demonstrado pelos autores Tellez et al [21]. Estes relatam que a seleção de culturas de probióticos com eficácia terapêutica promove benefícios no desempenho das aves, podendo ser uma alternativa para a terapia antimicrobiana através de antibióticos convencionais.

Correia et al. [22], utilizando frangos alimentados com dietas com Estibion (Suplemento Alimentar Simbiótico e Nutracêutico) tiveram melhor conversão alimentar do que os alimentados com as dietas testemunhas ou que continha bacitracina de zinco. Resultados semelhantes foram encontrados por Lima et al. [23]; Moreira et al. [24], os quais também obtiveram melhores resultados de conversão alimentar em aves que receberam probióticos comparadas com as que receberam antibióticos.

Pickler et al. [25], verificaram melhor conversão alimentar de frangos de corte no período inicial (1-21 dias) quando alimentados com probiótico na ração assim como Appelt et al. [26], embora para a fase pré-inicial (1-7 dias de idade) não houve efeito do probiótico sobre o desempenho das aves.

Otutumi [27], utilizando probióticos para codornas de corte dos sete aos 14 dias, os animais do tratamento (probiótico na ração) apresentaram melhora na conversão alimentar quando comparados com tratamento (probióticos na água de bebida).

Entretanto, diversos autores não observaram efeito algum sobre o desempenho de aves suplementadas com uso de probióticos na ração Chen et al. [28]; Fonseca et al. [29]; Silva et al [30].

Bittencourt et al. [31], ao analisar a adição do produto probiótico contendo *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus faecium* e *Bifidobacterium bifidum* de 1 a 42 dias de idade para frangos de corte não encontraram influência sobre o desempenho. Silva et al. [32], utilizaram o mesmo produto probiótico nas mesmas concentrações, porém encontraram melhor desempenho zootécnico no período de 0 - 21 dias nos frangos alimentados com os melhoradores de crescimento já citados.

A inclusão de probióticos indefinidos não afeta o desempenho como pode ser observado em trabalhos realizado por Al-Zenki et al [33].

Para Wolfenden et al [34], verificaram que a variação dos dados pode ser devida a fatores relacionados com a fabricação do produto, o tipo de organismo que se utiliza, o método de produção e viabilidade do probiótico após a preparação, além de fatores de manejo ou ambientais, via de administração, forma de apresentação (líquida ou liofilizada) e precocidade da administração. Outros fatores também podem vir a influenciar na variabilidade dos dados, como condições higiênicas da exploração Torres-Rodriguez et al. [35], utilização de antibióticos Edens [36], da combinação com prebióticos, visto que alguns possuem um efeito sinérgico Vicente et al [37].

### **Morfometria Intestinal**

Na Tabela 3 estão apresentados os resultados relativos a tamanho de vilosidade ( $\mu\text{m}$ ), profundidade de criptas ( $\mu\text{m}$ ), relação vilo/cripta, contagem em duodeno, jejuno e íleo, aos cinco dias de idade, quatro dias pós inoculação de *Salmonella* Enteritidis nos diferentes tratamentos e após dois dias do uso dos probióticos de flora definida e indefinida.

Com relação a altura de vilosidade para jejuno e íleo não houve diferença significativa ( $P>0,05$ ), ao analisar os tratamentos com flora definida, indefinida e simbiótico em relação ao

tratamento controle. Ao comparar a altura de vilosidade no duodeno, foi observado que entre o tratamento controle e os tratamentos flora definida 7 cepas, flora definida 11 cepas e flora indefinida líquida não ocorreu diferença significativa, sendo que, ao comparar o tratamento controle com o tratamento de flora definida 11 cepas, foi visto que o segundo teve menor altura de vilosidade em relação ao primeiro. Estes dados são semelhantes aos encontrados por Bueno[38]; Ribeiro et al. [39], onde não foram encontradas diferenças significativas para tal parâmetro.

Ao analisar o tratamento de flora indefinida liofilizada e o simbiótico em relação ao tratamento controle no duodeno, os mesmos apresentaram diferença significativa ( $P > 0,05$ ), para altura de vilosidade. Este resultado está semelhante ao encontrado por Budiño [40], porém o mesmo utilizou outros tipos de probióticos.

Para explicar a diferença estatística entre o tratamento com flora indefinida e o simbiótico com relação ao tratamento controle, temos que saber que o equilíbrio entre 2 processos: renovarenovação celular (proliferação e diferenciação), resultante das divisões mitóticas sofridas por células totipotentes (*stem cells*) localizadas na cripta e ao longo dos vilos, e perda de células (extrusão) que ocorre normalmente no ápice dos vilos, determinam um turnover celular (síntese-migração-extrusão) constante, ou seja, a manutenção do tamanho dos vilos e, portanto, a manutenção da capacidade digestiva e de absorção intestinal Uni et al 2000[41].

Quanto o organismo é desafiado por algum agente (microrganismos patogênico, como ocorreu no experimento), ocorre um desequilíbrio no turnover a favor de um dos processos citados acima, proporcionando uma modificação na altura, bem como no perímetro dos vilos Pluske et al 1997 [42].

Dessa forma, foi observado que tanto o probiótico de flora indefinida liofilizada quanto o simbiótico apresentaram maiores altura de vilosidade no duodeno que o tratamento controle, isto pode ser confirmado segundo Ribeiro 1996 [43], onde as células viáveis (probióticos)

competem com os microrganismos patogénicos pelos sítios de adesão na mucosa intestinal, diminuindo a incidência de diarreias e melhorando a absorção dos nutrientes disponíveis, sendo que esse mecanismo interfere diretamente no restabelecimento da mucosa intestinal, aumentando a altura das vilosidades.

Para a relação de profundidade de cripta no duodeno os resultados do presente trabalho não estão de acordo com os encontrados por Bueno [44]; onde os mesmos encontraram diferença significativa para tal parâmetro ao comparar o grupo controle com uso de probióticos.

No presente estudo foi observado que para profundidade de cripta no íleo também não ocorreu diferença significativa entre os tratamentos, vindo a concordar com Nunes [45], onde o autor adicionou prebióticos e probióticos na dieta de frangos de corte, e não encontrou nenhum efeito positivo sobre o parâmetro estudado.

Na porção do jejuno ocorreu diferença significativa para a profundidade de cripta quando comparando o tratamento controle com os demais grupos. Sendo que o tratamento com probiótico de flora definida 11 cepas, apresentou maior profundidade que o tratamento controle. Concordando com o presente trabalho, alguns autores relataram que altas profundidades de cripta indicam elevada atividade proliferativa celular que pode ocorrer não só devido a um efeito trófico de um ingrediente da dieta, mas também devido a alguma injúria da mucosa por processo inflamatório Furlan et al [46]. Neste último caso, a finalidade é renovar perdas demasiadas na altura de vilos.

A elevação na taxa de descamação é consequência do início do consumo de ração, de toxinas bacterianas e de adesão de bactérias nos enterócitos. O aumento na descamação leva a uma ampliação na proliferação celular da cripta Tucci [47]. A maior profundidade de cripta é consequência da maior atividade proliferativa celular para garantir adequada taxa de renovação celular e garantir a reposição das perdas das células da região apical dos vilos Utiyama [48].

No presente estudo, as menores profundidades de criptas dos grupos probiótico flora definida 7 cepas, indefinida liofilizada e também no grupo controle, não aparecem acompanhada

de maior altura de vilos, não se pode inferir que essa menor profundidade indique um *turnover* de células epiteliais com o uso do aditivo. O menor *turnover* resulta na melhor utilização dos ingredientes na dieta.

Assim, como na profundidade de cripta, a elevação do número de células caliciformes pode não ser indicativo apenas de efeito trófico de ingredientes da dieta, mas também pode representar um mecanismo de proteção contra danos causado ao epitélio intestinal.

Ao demonstrar a relação vilo/cripta não se notou diferença significativa para a porção duodeno e jejuno. Porém ao compararmos a porção do íleo, percebeu-se diferença significativa, quando comparado com o grupo controle. Estando estes dados em iguais com os encontrados por Pelicano et al [49].

Na Tabela 4 estão apresentados os resultados relativos a tamanho de vilosidade ( $\mu\text{m}$ ), profundidade de criptas ( $\mu\text{m}$ ), relação vilo/cripta, contagem em duodeno, jejuno e íleo, aos 21 dias de idade, 20 dias pós inoculação de *Salmonella* Enteritidis nos diferentes tratamentos e após 18 dias do uso dos probióticos de flora definida e indefinida.

Com relação à altura de vilosidade para duodeno, jejuno e íleo não houve diferença significativa ao compararmos os tratamentos com flora definida, indefinida e simbiótico em relação ao tratamento controle. Resultados iguais ao encontrados neste estudo também foram descritos por Gulsen et al.[50]; Michelan et al. [51], empregando diferentes promotores de crescimento na dieta de frangos de corte.

Referindo-se aos parâmetros de altura de vilosidade para duodeno, jejuno e íleo, nos tratamentos testados por Corneli [52]; Bueno [53], não apresentaram efeito significativo ( $P>0,05$ ) somente para tamanho de vilo, testando diferentes promotores de crescimento. Chaveerach et al. [54], além de encontrar os mesmos resultados para altura de vilosidade nas três porções já citadas do intestino delgado, também não observou diferenças significativas ao analisar as lesões epiteliais do intestino delgado entre os grupos estudados.

Resultados diferentes podem ser encontrados no trabalho citado por Okamoto et al. [55], realizando um desafio com a inoculação oral de *Salmonella* Enteritidis em frangos de corte, observaram que somente os grupos tratados com *Lactobacillus* spp. apresentaram vilosidades médias significativamente maiores que os demais grupos. Budiño [56], verificou o probiótico a base de *Bacillus subtilis* e *Bacillus licheniformes* proporcionou maior altura de vilos no duodeno, em relação ao tratamento controle.

No trabalho citado por Ramos et al. [57], para tamanho de vilosidade mensuradas no jejuno e íleo não apresenta diferenças significativas.

Os resultados, com relação à profundidade de cripta, tanto para o duodeno, como para o jejuno e íleo, estão em consonância com os observados por Ramos et al [58]; Ribeiro et al. [59], que ao estudarem diversos probióticos, constataram que não houve diferença significativa entre as dietas com probióticos e a controle. Estando em discordância com os parâmetros observados por Murarolli [60], que observaram no parâmetro de profundidade de cripta efeito significativo do probiótico, prebiótico e do simbiótico no duodeno.

Ao analisar a variável relação vilo/cripta para os fragmentos do intestino de duodeno, jejuno e íleo não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos, e o grupo controle, concordando em parte com Bueno [61], que ao comparar a relação vilo/cripta no duodeno não encontra tais diferenças estatísticas.

O resultado obtido para relação vilo/cripta na porção do duodeno e jejuno encontra divergente em relação aos obtidos por Pickler et al. [62], onde temos que na relação altura de vilosidade/profundidade de cripta obteve-se relação significativamente maior ( $P \leq 0,05$ ) em duodeno no grupo controle. Em jejuno observa-se menor relação no grupo controle se comparado aos demais grupos. Porém encontramos os mesmos resultados para a porção do íleo onde não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos.

Segundo os autores Maiorka et al [63]; Loddi et al. [64], as células viáveis (probióticos) competem com os microrganismos patogênicos pelos sítios de adesão na mucosa intestinal

diminuindo a incidência de diarreias e melhorando a absorção dos nutrientes disponíveis, sendo que esse mecanismo interfere no restabelecimento da mucosa intestinal, aumentando a altura das vilosidades. Isto pode ser notado na tabela 4 ao compararmos as alturas de vilosidade no duodeno de todos os tratamentos, sejam eles de flora definida ou indefinida em relação ao tratamento controle, onde tínhamos somente a ação da *Salmonella* Enteritidis. Observamos que a altura de vilosidade no duodeno é maior para todos os tratamentos em relação ao grupo controle, sendo apenas numérica e não ocorrendo diferença significativa entre os mesmos.

Na Tabela 5 estão apresentados os resultados relativos a tamanho de vilosidade ( $\mu\text{m}$ ), profundidade de criptas ( $\mu\text{m}$ ), relação vilo/cripta, contagem em duodeno, jejuno e íleo, aos 31 dias de idade, 30 dias pós inoculação de *Salmonella* Enteritidis nos diferentes tratamentos e após 28 dias do uso dos probióticos de flora definida e indefinida.

Ao analisar os dados para tamanho de vilosidade e profundidade de cripta comparando o grupo controle, com os demais tratamentos com probióticos de flora definida, não definida e simbióticos, não foi notado diferença significativa ( $P \leq 0,05$ ), para tamanho de vilosidade no duodeno, jejuno e íleo. Sendo que estes dados concordam com os obtidos por Sato [65]; Chiquieri et al. [66], quando comparado somente o parâmetro profundidade de cripta, entretanto contrários aos de Bradley et al [67].

Para o parâmetro de altura de vilosidade no duodeno, a análise obtida neste trabalho discorda dos resultados obtidos por Pelicano et al. [68], quando fez uso de probiótico na água de bebida contendo uma mistura de *Lactobacillus* spp., onde o mesmo observou que ocorreu uma maior altura de vilosidade no duodeno, sendo que esses resultados semelhantes aos obtidos por Dobrogosz et al [69], ao adicionarem *Lactobacillus reuteri* na ração de frangos de corte aos 42 dias de idade.

Na relação altura de vilosidade/profundidade de cripta obteve-se relação significativamente menor ( $P \leq 0,05$ ) em duodeno no grupo controle, quando comparado com os tratamentos flora indefinida líquida e o simbiótico. Com isso, o probiótico de flora indefinida

líquida e o simbiótico possuem uma relação vilosidade/cripta melhor que o grupo controle, sendo isso desejável, pois quanto maior for esta diferença neste parâmetro mensurado indica menor nível de agressão à morfologia da parede intestinal. Em jejuno observa-se menor relação no grupo controle se comparado com o tratamento de flora indefinida líquida. Em íleo e ceco não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos.

Para a relação vilosidade/cripta intestinal é desejável que as vilosidades apresentem-se altas e as criptas rasas Nabuurs [70]. De acordo com Pluske et al. [71], maior valor de profundidade de cripta indica maior atividade proliferativa celular, para garantir adequada taxa de renovação epitelial, compensando as perdas nas alturas das vilosidades.

Ácidos orgânicos, aminoácidos e prebióticos estimulam o desenvolvimento da mucosa intestinal causando aumento do número de células e conseqüentemente aumento do tamanho das vilosidades.

Comparando os parâmetros para o duodeno entre a tabela 04 e 05 de tamanho de vilosidade e profundidade de criptas, observamos que com exceção dos tratamentos controle e com probiótico de flora indefinida líquida, onde ocorreu um aumento progressivo das vilosidades quando analisadas com 21 dias em relação ao tamanho das vilosidades obtidas com 31 dias. Os demais tratamentos flora definida (7 cepas e 11 cepas), flora indefinida liofilizada e simbiótico apresentaram comportamento inversos, apresentando uma diminuição no tamanho das vilosidades e aumento da profundidade de suas criptas.

A razão de tal acontecimento pode ser explicado pelo fato dos probióticos não terem tido um uso contínuo para as aves, e as mesmas podem ter sofrido um novo desafio sanitário de campo. Os dados obtidos por Pedrosa [72], ao administrar probiótico na ração de galinha poedeira contendo *Bacillus subtilis*, observou que a maior altura de vilo foi proveniente do tratamento cuja administração do probiótico foi contínua. Dando maior embasamento para os dados sobre diminuição nas alturas de vilosidade e aumento nas profundidades das criptas, os autores Mountzouris et al. [73]; Higgs et al. [74], relatam que as células (Probióticos)

competem com os microrganismos patogênicos pelos sítios de adesão na mucosa intestinal, diminuindo a incidência de diarreias e melhorando a absorção dos nutrientes disponíveis. Sendo que esta adesão dos organismos vivos melhoradores de desempenho (probióticos) nos sítios de ligação da mucosa intestinal interferem diretamente no restabelecimento da mesma, aumentando a altura das vilosidades.

Okamoto et al [75], demonstrou que com o passar do tempo, a vilosidade se restabelece, voltando ao tamanho normal. Essa regeneração das vilosidades após algum tempo do desafio demonstra a característica auto limitante da salmonelose paratífica, seguida por uma eliminação do agente. Essa regeneração das vilosidades desafiadas pode ser notada nas a tabela 04 e 05 onde o tratamento controle obteve uma regeneração e crescimento da sua vilosidade após certo período de infecção. Essa observação também foi verificada por Andreatti Filho et al. [76], demonstrando a capacidade de recuperação por parte da ave às lesões causadas pela *Salmonella spp.* (paratifoide) no decorrer da idade.

Outra observação a ser notada foi que ao compararmos os tamanhos de vilosidades no duodeno entre as idades de 21 e 31 dias, notamos que somente os tratamentos controle e flora indefinida líquida continuaram com seu desenvolvimento de vilosidades crescentes. Porém os dois probióticos de flora definida (7 cepas e 11 cepas), o probiótico de flora indefinida liofilizada junto ao simbiótico, apresentaram diminuição no tamanho de suas vilosidades nesta porção do intestino. Sendo que as diminuições de vilosidades citadas podem ser explicadas, pelo fato de que as aves coletadas para realizar as amostragens nas idades de 21 e 31 dias, não foram as mesmas aves.

Alguns fatores podem ser relacionados como responsáveis por terem ocasionado tal fato, tais como composição microbiana dos probióticos, fatores ambientais como stress, método de administração e frequência de administração dos produtos. Além do fato de ter ocorrido a mudança de ração da fase de crescimento para a fase final ocorrida nos 27 dias, onde também

não tivemos mais a adição do coccidiostático (Salinomicina) e o melhorador de crescimento (Enramicina). Todos estes fatores também são citados por Santos [77].

### **Morfologia Intestinal**

A mucosa intestinal, revestida por epitélio simples colunar, tem como principais células formadoras de sua estrutura e envolvidas no transporte de íons e nutrientes os enterócitos maduros as células das criptas intestinais (criptas de Lieberkühn) e as vilosidades intestinais, onde podemos encontrar em seu ápice os próprios enterócitos maduros.

Essa camada simples está constantemente exposta a fatores exógenos, presentes no lúmen intestinal (p.ex. nutrientes e patógenos), e sob influência de fatores intrínsecos do organismo, a partir da submucosa (p. ex. peptídeos ativos, hormônios e mediadores inflamatórios). Estes fatores exógenos normalmente são responsáveis pelas descamações das estruturas formadoras do epitélio intestinal (vilosidades e seus enterócitos).

Ao observar os dados para descamação intestinal no duodeno, percebe-se descamação nas aves de todos os tratamentos em alguma das respectivas idades avaliadas. A descamação duodenal no maior número de aves ocorreu no tratamento controle com 21 dias de idade, tratamento flora definida 7 cepas com 21 e 31 dias de idade e tratamento flora indefinida líquida com 31 dias de idade. O que pode ser observado é que o tratamento controle, apresentou uma maior descamação duodenal seguida de menor tamanho nas vilosidades aos 21 dias de idade, que esta apresentada na Tabela 4.

O fato de ter ocorrido esta maior descamação duodenal no período de 21 dias pode estar relacionada a alguma influência de fatores exógenos presentes no lúmen intestinal neste determinado período.

Para a descamação intestinal ocorrida no jejuno temos o tratamento flora definida 7 cepas com maior número de aves com descamação para a idade de 21 dias, o tratamento simbiótico

com maior número de aves com lesões aos 5 dias de idade e com um menor número o tratamento com flora indefinida líquida, apresentando 3 aves com lesões aos 5 dias e 2 aves com lesões aos 31 dias.

Nas descamações intestinais vistas no íleo temos para o tratamento flora definida 7 cepas o maior número de aves com lesões para a idade de 31 dias e o tratamento flora indefinida líquida, com 5 dias de idade o maior número de aves com lesões, nos demais tratamentos não ocorreu descamação do íleo.

## CONCLUSÕES

1. Não foram observadas diferenças ( $p \geq 0,05$ ) entre os tratamentos no desempenho zootécnico (conversão alimentar, mortalidade e peso médio) das aves em nenhuma das idades avaliadas.
2. De acordo com os resultados encontrados na Tabela 03, pode-se concluir que de um modo geral os probióticos de flora definida e indefinida e o simbiótico apresentaram resultados melhorando as condições morfológicas do intestino.
3. Não foram observadas diferenças significativas ao nível de 5% em nenhuma das medidas de altura de vilosidade, profundidade de cripta e relação vilo/cripta, avaliadas aos 21 dias de idade.
4. Não foram observadas diferenças significativas ao nível de 5% nas medidas de altura de vilosidades e profundidade de criptas aos 31 dias de idade.
5. O simbiótico e o probiótico de flora indefinida líquida foram maiores significativamente na relação vilos/criptas do duodeno. O produto probiótico de flora indefinida líquida foi maior significativamente na relação vilos/criptas do jejuno. Com isso, o probiótico de flora indefinida líquida e o simbiótico possuem uma relação vilo/cripta melhor que o grupo controle, sendo isso desejável, pois quanto maior for esta diferença neste parâmetro mensurado indica menor nível de agressão à morfologia da parede intestinal.
6. Ocorreu descamação intestinal (duodeno) nas aves de todos os tratamentos em alguma das respectivas idades avaliadas. Descamação duodenal no maior número de aves no Controle (21 dias), Protexin® (21 e 31 dias) e Colostrum® (31 dias).

**REFERÊNCIAS**

- 1 Cardoso, A. L. S. P., Tessari, E. N. C. Salmonela na Segurança dos Alimentos e na Avicultura. Centro Avançado de Pesquisa Tecnológica do Agronegócio Avícola. São Paulo, SP. Número 80. 27/08/2008. Disponível em: [http://www.biologico.sp.gov.br/artigos\\_ok.php?id\\_artigo=80](http://www.biologico.sp.gov.br/artigos_ok.php?id_artigo=80). Acesso em: 09/11/2012.
- 2 Borsoi, A., Moraes, H. L. S, Salle, C. T. P., Nascimento, V. P. Número mais provável de Salmonella isoladas de carcaças de frango resfriadas. *Ciência Rural*, v.40, n.11, nov, 2010.
- 3 Tellez, G., Pixley, C., Wofenden, R. E, Layton, S. L., Hargis, B. M. Probiotics/ direct fed micobials for Salmonella control in poultry. *Food Research International* 45, p.628-633. 2012.
- 4 Lillehoj, E. P., Yun, C. H, Lillehoj, H. S. Vaccines against the avian enteropathogens Eimeria, Cryptosporidium and Salmonella. *Anim. Health Res. Rev.* 1:47–65, 2000.
- 5 Higgins, S. A., Torres-Rodriguez, J., Vicente, C., Santor, C., Pixley, G., Nava, G., Tellez, J., Barton, and B. M., Hargis. 2005. Evaluation of intervention strategies for idiopathic diarrhea in commercial turkey brooding houses. *Journal of Applied Poultry Research.* 14:345–348.
- 6 Schrezenmeir, J., Vrese, M. Probiotics, prebiotics and synbiotics – approaching a definition. *Am J Clin Nutr.* v.73, n.2, Suppl. (361-64), 2001.
- 7 Havenaar, R., Huis in't veld, M. J. H. Probiotics: a general view. In: Wood, B.J.B. *Lactic acid bacteria in health and disease 1.* Amsterdam : Elsevier Applied Science, p.151-170. 1992.
- 8 Schrezenmeir, J., and M. De Vrese. 2001. Probiotics, prebiotics and symbiotics – approaching a definition. *Am J Clin Nutr.* 73(2):361-64).
- 9 Furlan, R. L., Macari, M., Luquetti, B. C. Como avaliar os efeitos do uso de prebióticos, probióticos e flora de exclusão competitiva. In: *Símpoio Técnico de Incubação Matrizes de Corte Nutrição*, 5., 2004, Balneário Camburiú, Santa Catarina. Anais... Balneário Camboriú, p.6-28, 2004.

10 Rostagno, H. S., L. F. T. Albino, J. L. Donzele, P. C. Gomes, R. F. Oliveira, D. C. Lopes, A. S. Ferreira, and S. L. T. Barreto. 2005. Tabelas brasileiras para aves e suínos. Composição de alimentos e exigências nutricionais. 2th ed. Viçosa: UFV.

11 Miragliotta, M. Y. 2005. Avaliação das condições do ambiente interno em dois galpões de produção comercial de frangos de corte, com ventilação e densidade populacional diferenciados. PhD Diss. Faculdade de Engenharia Agrícola, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

12 Tomasi, P. H. D. Avaliação de vacinas contra coccidiose e a utilização de peptídeos em frangos de corte. Dissertação de mestrado. Curitiba, 2006.

13 R Development Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation Stat. Computing, ISBN 3-900051-07-0. Available at: <http://www.r-project.org>.

14 Rossi, A. A., M. T. S. Padilha, I. I. Santos, and J. C. F. Padilha. 2007. Uso de Probiótico na prevenção de Salmoneloses em Frangos de Corte. *Ciência Agrotécnica*, Lavras. 31(4): 1207-1211.

15 Pickler, L., R. M. Hayashi, M. C. Lourenço, L. B. Miglino, L. F. Caron, B. C. B. Beirão, A. V. F. Silva, and E. Santin. 2012. Avaliação microbiológica, histológica e imunológica de frangos de corte desafiados com *Salmonella* Enteritidis e Minnesota e tratados com ácidos orgânicos. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 32(1):27-36.

16 Vila, B., A. Fontgibell, I. Badiola, E. Esteve-Garcia, G. Jimenez, M. Castillo et al.. 2009. Reduction of *Salmonella enterica* var. Enteritidis colonization and invasion by *Bacillus cereus* var. toyoi inclusion in poultry feeds. *Poultry Science*. 88(5):975-979.

17 Ashayerizadeh, A., N. Dabiri, O. Ashayerizadeh, K. H. Mirzadeh, H. Roshanfekar, and M. Mamooee. 2009. Effect of dietary antibiotic, probiotic and prebiotic as growth promoters, on growth performance, carcass characteristics and hematological indices of broiler chickens. *Pakis. Journal Biology Science*.12:52–57.

18 Mountzouris, K. C. et al. 2010. Effects of probiotic inclusion levels in broiler nutrition on growth performance, nutrient digestibility, plasma immunoglobulins, and cecal microflora composition. *Poultry Science*. 89:58-67.

19 Mallo, J. J., J. Rioperez, and P. Honrubia. 2010. The addition of *Enterococcus faecium* to diet improves piglet's intestinal microbiota and performance. *Livestock Science*. 133:176-178.

- 20 Saadia, M., and N. K. S. Hassanein. 2010. Effect of Probiotic (*Saccharomyces cerevisiae*) Adding to Diets on Intestinal Microflora and Performance of Hy-Line Layers Hens. *J. Am. Sci.* 6(11):159-169.
- 21 Tellez, G., C. Pixley, R. E. Wolfenden, S. L. Layton, and B. M. Hargis. 2012. Probiotics/direct fed microbials for *Salmonella* control in poultry. *Food Research International.* 45:628–633.
- 22 Correa, G. S.S., Gomes, A. V. C., Corrêa, A. B., Salles, A. S., Mattos, E. S. Efeito de antibióticos e probióticos sobre o desempenho e rendimento de carcaça de frangos de corte. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 55, n.4. 2003.
- 23 Lima, A. C. F., Junior, J. M. P., Macari, M., Malheiros, E. B. Efeito do uso de probiótico sobre o desempenho e atividade de enzimas digestivas de frangos de corte. *Revista Brasileira de Zootecnia.* v.32, n.1. 2003.
- 24 Moreira, J., Mendes, A. A., Garcia, E. A. Efeito do uso de probiótico sobre o desempenho e rendimento de carcaça em frangos de corte. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 38, 2002, Recife. Anais... Recife: SBZ, 2002. p.38.
- 25 Pickler, L., R. M. Hayashi, M. C. Lourenço, L. B. Miglino, L. F. Caron, B. C. B. Beirão, A. V. F. Silva, and E. Santin. 2012. Avaliação microbiológica, histológica e imunológica de frangos de corte desafiados com *Salmonella Enteritidis* e *Minnesota* e tratados com ácidos orgânicos. *Pesquisa Veterinária Brasileira.* 32(1):27-36.
- 26 Appelt, M. D., R. V. Nunes, P. C. Pozza, W. T. M. Silva, I. Venturi, and C. G. V. Nunes. 2010. Níveis de probiótico em rações de origem animal e vegetal para frangos de corte. *Revista Brasileira de Zootecnia.* 39(4):765-771.
- 27 Otutumi, L. K. Uso de probiótico para codorna de corte. 2006. 80 p. Tese (Doutorado) – centro de Ciências Agrárias, Universidade Estadual de Maringá, Maringá-PR, 2006.
- 28 Chen, K.-L., W.-L. Kho, S.-H. You, R.-H. Yeh, S.-W. Tang, and C.-W. Hsieh. 2009. Effects of *Bacillus subtilis* var. natto and *Saccharomyces cerevisiae* mixed fermented feed on the enhanced growth performance of broilers. *Poultry Science.* 88(2):309-315.

- 29 Fonseca, B. B., M. E. Beletti, M. S. Silva, P. L. Silva, I. V. Duarte, and D. A. Rossi. 2010. Microbiota of the cecum, ileum morphometry, pH of the crop and performance of broiler chickens supplemented with probiotics. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 39(8):1756-1760.
- 30 Silva, P. L., P. Soares, E. V. Silva, B. R. Carvalho, and D. A. Rossi. 2011. Influência da flora de exclusão competitiva sobre o PH do papo de frangos de corte. *Portal Ergomix*. Acessado Novembro 2012. <http://pt.engormix.com/MA-avicultura/nutricao/artigos/nutricao-aves-t378/141-p0.htm>.
- 31 Bitterncourt, L. C., C. C. Silva, P. D. S. R. Garcia, D. C. Z. Donato, R. Albuquerque, and L. F. Araújo. 2011. Influence of a probiotic on broiler performance. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 40(12):2739-2743.
- 32 Silva, W. T. M., R. V. Nunes, P.C. Pozza, M S. S. Pozza, M. D. Appelt, and C. Eyng. 2011. Avaliação de inulina e probiótico para frangos de corte. *Acta Scientiarum Animal Science*.33(1):19-24.
- 33 Al-Zenki, S. F., A. Y. Al-Nasser, A. E. Al-Saffar, F. K. Abdullah, M. E. Al-Bahouh, A. S. Al-Haddad et al.. 2009. Effects of using a chicken-origin competitive exclusion culture and probiotic cultures on reducing *Salmonella* in broilers. *Journal of Applied Poultry Research*. 18(1):23-29.
- 34 Wolfenden, A. D., C. M. Pixley, J. P. Higgins, S. E. Higgins, J. L. Vicente, A. Torres-Rodriguez et al.. 2007. Evaluation of spray application of a *Lactobacillus*-based probiotic on *Salmonella* Enteritidis colonization in broiler chickens. *International Journal of Poultry Science*. 6(7):493-496.
- 35 Torres-Rodriguez, A., A. M. Donoghue, D. J. Donoghue, J. T. Barton, G. Tellez, and B. M. Hargis. 2007. Performance and condemnation rate analysis of commercial turkey flocks treated with a *Lactobacillus* spp.-based probiotic. *Poultry Science*. 86(1):444-446.
- 36 Edens, F. W. 2003. An alternative for antibiotic use in poultry: Probiotics. *Brazilian Journal of Poultry Science*. 5(2):75-97.
- 37 Vicente, J., S. Higgins, L. Bilke, G. Tellez, D. Donoghue, A. Donoghue, and B. M. Hargis. 2007. Effect of probiotic culture candidates on *Salmonella* prevalence in commercial turkey houses. *Journal Applied Poultry Research*. 16(1):471-

38 Bueno, R. Efeito da utilização de probiótico sobre o desempenho e morfologia intestinal de Codornas japonesas. (Effect of probiotic on performance and intestinal morphology in Japanese quails). 2009, 94f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2009.

39 Ribeiro, A. M. L., Vogt, L. K., Canal, C. W., Cardoso, M. R. I., Labres, R. V., Streck, A. F.; Bessa, M. C. Effects of prebiotics and probiotics on the colonization and immune response of broiler chickens challenged with salmonella enteritidis. *Revista Brasileira de Ciência Avícola*, v.9, n.3, p.193-200. 2007.

40 Budiño, F. E. L. Prebiótico e/ou probiótico na dieta de leitões recém desmamados. Jaboticabal, 2004, 75p. Tese. (Doutorado) Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária, Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”.

41 Uni, Z., Ganot, S. e Sjlán, D. (1998). Posthatch development of mucosal function in the broiler small intestine. *Poultry Science*, 77, 75-82.

42 Pluske, J.R., Hampson, D.J. e Williams, I.H. (1997). Factors influencing the structure and function of the small intestine in the weaned pig: a review. *Livestock Production Science*, 51, 215-236.

43 Ribeiro, P.R. (1996). Efeito da adição de diferentes níveis de ácido fumárico na ração de suínos sobre o desempenho e morfologia duodenal. 75f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

44 Bueno, R. Efeito da utilização de probiótico sobre o desempenho e morfologia intestinal de Codornas japonesas. (Effect of probiotic on performance and intestinal morphology in Japanese quails). 2009, 94f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2009.

45 Nunes, A. D. Influência do uso de aditivos alternativos a antimicrobianos sobre o desempenho, morfologia intestinal e imunidade de frangos de corte. 2008. 111f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária)- faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

46 Furlan, R. L., Macari, M., Luquetti, B. C. Como avaliar os efeitos do uso de prebióticos, probióticos de flora de exclusão competitiva. In: SIMPÓSIO TÉCNICO DE INCUBAÇÃO, MATRIZES DE CORTE E NUTRIÇÃO, 5., 2004. Balneário Camboriú, Santa Catarina. Anais...Balneário Camboriú, 2004, p.6-28.

47 Tucci, F. M. Efeito da adição de agentes tróficos na dieta de leitões desmamados sobre a renovação celular da mucosa intestinal, enzimas digestivas e desempenho. Jabotical, 2003. 84 p. dissertação (Doutorado) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária, Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”.

48 Utiyama, C. E. Utilização de agentes antimicrobianos, probióticos, prebióticos e extratos vegetais como promotores de crescimento de leitões recém desmamados. Piracicaba, 2004. 110 p. Dissertação (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” Universidade de São Paulo.

49 Pelicano, E. R. L., Souza, P. A., Souza, H. B. A., Figueiredo, D. F., Boiago, M. M., Carvalho, S. R., Bordon, V. F. Intestinal mucosa development in broiler chickens fed natural growth promoters, *Revista Brasileira de Ciência Avícola*, v.7, n.4, p.221-229, 2005.

50 Gulsen, N., Coskun, B., Umucalilar, H. D., Inal, F. e Boydak, M. Effect of lactose and dried whey supplementation on growth performance and histology of the immune system in broilers. *Archives Animal Nutrition*, v.56, p.131-139. 2002.

51 Michelin, A. C., Scapinello, C., Natali, M. R. M., Furlan, A. C., Sakaguti, E. S., Faria, H. G., Santolin, M. L. R., Hernandez, A. B. Utilização de probiótico, ácido orgânico e antibiótico em dietas para coelhos em crescimento: ensaio de digestibilidade, avaliação da morfometria intestinal e desempenho. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.31, n.6, p.2227-2237. 2002

52 Corneli J. Avaliação de promotores de crescimento alternativos em substituição aos convencionais sobre o desempenho, características de carcaça e morfometria intestinal em frangos de corte. 46f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia), Área de concentração em nutrição de Monogástricos, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), 2004.

53 Bueno, R. Efeito da utilização de probiótico sobre o desempenho e morfologia intestinal de Codornas japonesas. (Effect of probiotic on performance and intestinal morphology in Japanese quails). 2009, 94f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2009.

54 Chaveerach, P., Keuzenkamp, D. A., Lipman, L. J. A. e Van Knapent, F. Effect of organic acids in drinking water for young broilers on *Campylobacter* infection, Volatile Fatty Acid Production, Gut Microflora and histological cell changes. *Poultry Science*, v. 83, p.330-334, 2004.

55 Okamoto, A. S., Andreatti Filho, R. L., Lima, E. T., Noujaim, J. C. Morfometria e detecção de imunoglobulina A (IgA) da mucosa intestinal de aves tratadas com *Lactobacillus* spp.e desafiadas com *Salmonella enteritidis*. Revista Brasileira de Ciências Avícola, v.8, p.191, 2006. Suplemento 8.

56 Budiño, F. E. L. Prebiótico e/ou probiótico na dieta de leitões recém desmamados. Jaboticabal, 2004, 75p. Tese. (Doutorado) Faculdade de ciências Agrárias e Veterinária, Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”.

57 Ramos, L. S. N., Lopes, J. B., Silva, F. E. S., Ribeiro, M. N. Desempenho e histomorfometria intestinal de frangos de corte de 1 a 21 dias de idade recebendo melhoradores de crescimento. Revista Brasileira de Zootecnia. v.40, n.8, p.1738-1744. 2011.

58 Ramos, L. S. N., Lopes, J. B., Silva, F. E. S., Ribeiro, M. N. Desempenho e histomorfometria intestinal de frangos de corte de 1 a 21 dias de idade recebendo melhoradores de crescimento. Revista Brasileira de Zootecnia. v.40, n.8, p.1738-1744. 2011.

59 Ribeiro, A. M. L., Vogt, L. K., Canal, C. W., Cardoso, M. R. I., Labres, R. V., Streck, A. F., Bessa, M. C. Effects of prebiotics and probiotics on the colonization and immune response of broiler chickens challenged with salmonella enteritidis. Revista Brasileira de Ciência Avícola, v.9, n.3, p.193-200. 2007.

60 Murarolli, V. D. A. Efeito de prebiótico, probiótico e simbiótico sobre o desempenho, morfologia intestinal e imunidade de frangos de corte. 2008. 101p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassuninga, 2008.

61 Bueno, R. Efeito da utilização de probiótico sobre o desempenho e morfologia intestinal de Codornas japonesas. (Effect of probiotic on performance and intestinal morphology in Japanese quails). 2009, 94f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2009.

62 Pickler, L., Hayashi, R. M., Lourenço, M. C., Miglino, L., Caron, L. F., Beirao, B. C. B., Silva, A. V. F., Santin, E. Avaliação microbiológica, histológica e imunológica de frangos de corte desafiados com *Salmonella Enteritidis* e Minnesota e tratados com ácidos orgânicos. Pesq. Vet. Bras. 32(1):27-36, janeiro 2012.

63 Maiorka A., Santin E., Borges S.A., Opalinski M. & Silva A.V.F. 2004. Emprego de uma mistura de ácidos fumárico, láctico, cítrico e ascórbico em dietas iniciais de frangos de corte. Archs Vet. Sci. 9:31-37 2004.

64 Loddi, M. M., Morales, V. M. B., Nakaghi, L. S. O, Tucci, F. M, Hannas, M. I, Arika, J. Nutritional Biotechnology in the Feed and Food Industries (Reimagining the feed industry). In: SYMPOSIUM ANNUAL ALLTECH, 2004, Lexington, Kentucky, USA, p.45. 2004.

65 Sato, R. N. (2001). Ação isolada e combinada de probiótico e antibiótico como promotores de crescimento em rações iniciais de frangos de corte. 48f. Trabalho de Graduação - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

66 Chiquieri, J., Soares, R. T. R. N., Carvalho, E. C. Q., Lemos, L. S. e Ventura, B. G. (2003). Altura das vilosidades intestinais de suínos alimentados com rações contendo diferentes promotores de crescimento. In: 40o Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia. Anais...Santa Maria - RS. Cd Room.

67 Bradley, G. L., Savage, T. F. e Timm, K. I. (1994). The effects of supplementing diets with *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* on male poult performance and ileal morphology. *Poultry Science*, 73,1766-1770.

68 Pelicano, E. R. L., Souza, P. A., Souza, H.B.A. et al. Morfometria e ultra-estrutura da mucosa intestinal de frangos de corte alimentados com dietas contendo diferentes probióticos. *Revista Portuguesa de Ciências Agrárias*, v.98, n.547, p.125-134, 2003.

69 Dobrogsz, W. J., Black, B. L. e Casas, I. A. (1991). Delivery of viable *Lactobacillus reuteri* to the gastrointestinal tract of poultry. *Poultry Science*, 70, 158.

70 Nabuurs M. J. A. 1995. Microbiological, structural and functional changes of the small intestine of pigs at weaning. *Pig News and Information* 16:93-97.

71 Pluske, J. R., Hampson, D. J. e Williams, I. H. (1997). Factors influencing the stricture and function of the small intestine en the weaned pig: a review. *Livestock Production Science*, 51, 215-236.

72 Pedroso, A. A. (1999). Efeito de probiótico dietético sobre o desempenho, qualidade dos ovos e alguns aspectos morfológicos do tracto intestinal e tecido ósseo de galinhas poedeiras. 74f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

73 Mountzouris, K. C., Tsirtsikos, P., Kalamara, E., Nitsch, S., Schatzmayr, G., Fegeros, K. Evaluation of the efficacy of a probiotic containing *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus*, and *Pediococcus* strains in promoting broiler performance and modulating cecal microflora composition and metabolic activities. *Poultry Science*, 86(2), 309-317. 2007.

74 Higgs, J. P., Hilgins, S. E., Wolfenden, A. D., Henderson, S. N., Torres-Rodriguez, A., Vicente, J. L., Hargis, B. M., Tellez, G. Effect of lactic acid bacteria probiotic culture treatment timing on *Salmonella* Enteritidis in neonatal broilers. *Poultry Science*. 89:243-247. 2010.

75 Okamoto, A. S., Andreatti Filho, R. L., Lima, E. T., Noujaim, J. C., Histopatologia da mucosa intestinal de pintos tratados com *Lactobacillus* spp. e desafiados com *Salmonella* entérica subespécie entérica, sorotipo enteritidis. *Revista Ciência Animal Brasileira*, v.10, n.2, p.568-573, abr/jun. 2009.

76 Andreatti Filho, R. L., Silva, E. N., Ribeiro, A. R., Kondo, N., Curi, P. R Use of anaerobic cecal microflora, lactose and acetic acid for the protection of broiler chicks against experimental infection with *Salmonella* Typhimurium and *Salmonella* Enteritidis, *Brazilian Journal Microbiology*, v.31, p.107-112. 2000.

77 SANTOS, I. I. Efeitos de probiótico, óleos essenciais, e enzimas em parâmetros produtivos e sanitários de frangos de corte. 2010. 207f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 2010.

## TABELAS

Tabela 1 - Médias e desvio padrão de peso corporal (g) de frangos de corte nas diferentes idades submetidos aos tratamentos com probióticos de flora definida e indefinida.

<b>Idade (dias)</b>	<b>Controle</b>	<b>Flora def. 7c</b>	<b>Flora def. 11c</b>	<b>Flora ind. líq</b>	<b>Flora ind. liof.</b>	<b>Simb.</b>	<b>Anova: p-valor</b>
1	47,68±0,74	47,50±0,88	47,18±0,95	47,23±0,46	47,25±1,10	46,98±0,88	0,85ns
7	146,71±10,98	150,48±7,25	152,17±10,44	146,61±14,86	139,47±13,71	148,52±12,10	0,36ns
14	399,50±49,19	408,83±21,75	415,50±46,92	374,17±48,05	381,50±23,18	390,00±33,09	0,27ns
21	833,67±90,12	843,83±52,30	872,17±71,61	772,33±71,72	829,67±60,86	828,00±70,60	0,21ns
31	1451,83±87,03	1498,17±90,22	1503,00±119,94	1386,33±84,16	1472,83±85,32	1495,00±95,32	0,11ns

ns= não significativo pela análise de variância ( $p \geq 0,05$ ).

Flora def. 7c. (flora definida 7 cepas), Flora def. 11c. (flora definida 11 cepas), Flora ind.líq.(flora indefinida líquida), Flora ind.liof. (flora indefinida liofilizada), Simb. (simbióticos).

Tabela 2 – Média e desvio padrão de conversão alimentar e mortalidade no período de 1 a 31 dias de idade nos diferentes tratamentos.

<b>Tratamentos</b>	<b>Conversão Alimentar (kg/kg)</b>	<b>Mortalidade (%)</b>
Controle	1,620±0,138	26±16,62
Flora def. 7c	1,543±0,072	12±8,07
Flora def. 11c	1,518±0,055	15±18,84
Flora ind. líq.	1,664±0,216	15±9,73
Flora ind. liof.	1,594±0,121	18±15,13
Simb.	1,632±0,142	22±16,13
<b>Anova: p-valor</b>	<b>0,42ns</b>	<b>0,37ns</b>

ns= não significativo pela análise de variância ( $p \geq 0,05$ ).

Flora def. 7c. (flora definida 7 cepas), Flora def. 11c. (flora definida 11 cepas), Flora ind.líq. (flora indefinida líquida), Flora ind.liof. (flora indefinida liofilizada), Simb. (simbióticos).

Tabela 3 – Média e desvio padrão da altura de vilo ( $\mu\text{m}$ ), profundidade de criptas ( $\mu\text{m}$ ), relação vilo/cripta, em duodeno, jejuno, íleo (5 dias de idade e 4 dias pós-inoculação com *Salmonella Enteritidis*) nos diferentes tratamentos.

Fragmento intestine	Variáveis	Repetições (n)	Controle	Flora	Flora	Flora	Flora	Simb.	p-valor
				def. 7c	def. 11c	ind. líq	ind. liof.		
<b>Duodeno</b>	<b>Vilosidades</b>	50	900b	920b	820b	960b	1010a	1030a	0,027*
	<b>Criptas</b>	50	190	190	140	150	150	150	0,622ns
	<b>Vilos/Criptas</b>	50	5,302	5,738	6,348	7,405	7,398	7,185	0,461ns
<b>Jejuno</b>	<b>Vilosidades</b>	50	510	390	640	600	410	420	0,088ns
	<b>Criptas</b>	50	80b	100ab	150a	120ab	100ab	110ab	0,016*
	<b>Vilos/Criptas</b>	50	7,335	4,462	4,459	5,113	4,232	4,095	0,216ns
<b>Ileo</b>	<b>Vilosidades</b>	50	320	310	390	410	300	310	0,221ns
	<b>Criptas</b>	50	130	90	90	100	80	100	0,081ns
	<b>Vilos/Criptas</b>	50	2,964b	3,731ab	4,472a	4,024ab	4,096ab	3,288ab	0,043*

Flora def. 7c. (flora definida 7 cepas), Flora def. 11c. (flora definida 11 cepas), Flora ind.líq.

(flora indefinida líquida), Flora ind.liof. (flora indefinida liofilizada), Simb. (simbióticos).

\* a,b Médias seguidas de letras diferentes nas linhas, diferem entre si pelo teste F. ns: não significativo

Tabela 4 – Média e desvio padrão da altura de vilo ( $\mu\text{m}$ ), profundidade de criptas ( $\mu\text{m}$ ), relação vilo/cripta, em duodeno, jejuno, íleo (21 dias de idade e 20 dias pós inoculação com *Salmonella Enteritidis*) nos diferentes tratamentos.

<b>Fragmento intestine</b>	<b>Variável</b>	<b>Repetições (n)</b>	<b>Controle</b>	<b>Flora def. 7c</b>	<b>Flora def. 11c</b>	<b>Flora ind. líq.</b>	<b>Flora ind. liof.</b>	<b>Simb.</b>	<b>p-valor</b>
<b>Duodeno</b>	<b>Vilosidades</b>	50	1280	1520	1510	1440	1560	1620	0,067ns
	<b>Criptas</b>	50	130	140	130	140	140	130	0,987ns
	<b>Vilos/Criptas</b>	50	10,17	11,84	12,67	10,88	11,90	12,74	0,398ns
<b>Jejuno</b>	<b>Vilosidades</b>	50	630	660	810	720	810	780	0,137ns
	<b>Criptas</b>	50	120	120	130	120	140	150	0,105ns
	<b>Vilos/Criptas</b>	50	5,432	5,652	6,747	6,032	5,851	5,496	0,710ns
<b>Ileo</b>	<b>Vilosidades</b>	50	480	430	490	460	510	500	0,346ns
	<b>Criptas</b>	50	100	100	120	100	110	120	0,259ns
	<b>Vilos/Criptas</b>	50	4,833	4,568	5,283	4,724	4,900	4,551	0,976ns

Flora def. 7c. (flora definida 7 cepas), Flora def. 11c. (flora definida 11 cepas), Flora ind.líq.

(flora indefinida líquida), Flora ind.liof. (flora indefinida liofilizada), Simb. (simbióticos).

\* a,b Médias seguidas de letras diferentes nas linhas, diferem entre si pelo teste F. ns: não significativo

Tabela 5 – Média e desvio padrão da altura de vilo ( $\mu\text{m}$ ), profundidade de criptas ( $\mu\text{m}$ ), relação vilo/cripta, em duodeno, jejuno, íleo (31 dias de idade e 30 dias pós inoculação com *Salmonella Enteritidis*) nos diferentes tratamentos.

Fragmento intestine	Variável	Repetições (n)	Controle	Flora def. 7c	Flora def. 11c	Flora ind. líq	Flora ind. liof.	Simb.	p-valor
<b>Duodeno</b>	<b>Vilosidades</b>	50	1400	1480	1390	1480	1390	1420	0,876 ns
	<b>Criptas</b>	50	210	210	160	160	200	160	0,107ns
	<b>Vilos/Criptas</b>	50	7,005b	7,999ab	9,008ab	9,529a	7,296b	9,552a	0,028*
<b>Jejuno</b>	<b>Vilosidades</b>	50	830	910	980	990	920	840	0,542ns
	<b>Criptas</b>	50	130	160	140	110	130	130	0,211ns
	<b>Vilos/Criptas</b>	50	6,558b	6,098b	7,105b	9,826a	7.750b	6.974b	0,001*
<b>Ileo</b>	<b>Vilosidades</b>	50	680	750	640	660	730	590	0,518ns
	<b>Criptas</b>	50	130	120	130	110	130	100	0,201ns
	<b>Vilos/Criptas</b>	50	5,383a	6,127a	5,207a	6,316a	6,202a	6,550a	0,251ns

Flora def. 7c. (flora definida 7 cepas), Flora def. 11c. (flora definida 11 cepas), Flora ind.líq.

(flora indefinida líquida), Flora ind.liof. (flora indefinida liofilizada), Simb. (simbióticos).

\* a,b Médias seguidas de letras diferentes nas linhas, diferem entre si pelo teste F. ns: não significativo

Tabela 6 – Descamação intestinal no Duodeno, Jejunó e Íleo aos 5, 21 e 31 dias de idade.

<b>Duodeno</b>								
<b>Fragmento</b>	<b>Variável</b>	<b>Nº de Aves</b>	<b>Controle</b>	<b>Flora</b>	<b>Flora</b>	<b>Flora</b>	<b>Flora</b>	<b>Simb.</b>
				<b>def. 7c</b>	<b>def. 11c</b>	<b>ind. líq</b>	<b>ind. liof.</b>	
	5dias	5 aves	*	*	*	1 ave	*	*
<b>Duodeno</b>	21 dias	5 aves	5 aves	4 aves	2 aves	1 ave	2 aves	3 aves
	31 dias	5 aves	*	5 aves	1 ave	5 aves	4 aves	*
<b>Jejunó</b>								
	5 dias	5 aves	*	*	1 ave	3 aves	*	4 aves
<b>Jejunó</b>	21 dias	5 aves	*	4 aves	*	*	2 aves	1 ave
	31 dias	5 aves	*	2 aves	*	2 aves	*	*
<b>Íleo</b>								
	5 dias	5 aves	*	*	*	2 aves	*	*
<b>Íleo</b>	21 dias	5 aves	*	*	*	*	*	*
	31 dias	5 aves	*	1 ave	*	*	*	*

\* Nenhuma ave encontrada com lesão

Flora def. 7c. (flora definida 7 cepas), Flora def. 11c. (flora definida 11 cepas), Flora ind.líq.

(flora indefinida líquida), Flora ind.liof. (flora indefinida liofilizada), Simb. (simbióticos).