

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

RAQUEL CRISTINA KOSMANN

IMPACTO DA ADIÇÃO DIETÉTICA DE ANTIBIÓTICO MELHORADOR DE
DESEMPENHO E PROBIÓTICO SOBRE A SAÚDE INTESTINAL E DIVERSIDADE
DA MICROBIOTA INTESTINAL DE FRANGOS DE CORTE



PALOTINA

2018

RAQUEL CRISTINA KOSMANN

IMPACTO DA ADIÇÃO DIETÉTICA DE ANTIBIÓTICO MELHORADOR DE
DESEMPENHO E PROBIÓTICO SOBRE A SAÚDE INTESTINAL E DIVERSIDADE
DA MICROBIOTA INTESTINAL DE FRANGOS DE CORTE

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, área de concentração Produção Animal, linha de pesquisa em Nutrição e Produção Avícola, Setor Palotina, Universidade Federal do Paraná como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Jovanir Inês Müller
Fernandes.

PALOTINA

2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

K86 Kosmann, Raquel Cristina
Impacto da adição dietética de antibiótico melhorador de desempenho e probiótico sobre a saúde intestinal e diversidade da microbiota intestinal de frangos de corte Raquel Cristina Kosmann. -- Palotina, 2018
110f.

Orientadora: Jovanir Inês Müller Fernandes
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Paraná, Setor Palotina, Programa de Pós-graduação em Ciência Animal.

1. *Bacillus subtilis*. 2. Microbiota intestinal. 3. 16S rDNA.
I. Fernandes, Jovanir Inês Müller. II. Universidade Federal do Paraná. III. Título.

CDU 636.5

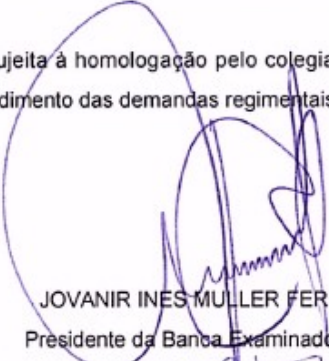
Ficha catalográfica elaborada por Liliâne Cristina Soares Sousa – CRB 9/1736

TERMO DE APROVAÇÃO

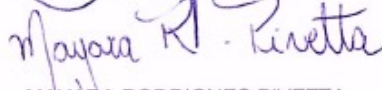
Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIA ANIMAL da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da dissertação de Mestrado de **RAQUEL CRISTINA KOSMANN** intitulada: **IMPACTO DA ADIÇÃO DIETÉTICA DE ANTIBIÓTICO MELHORADOR DE DESEMPENHO E PROBIÓTICO SOBRE A SAÚDE INTESTINAL E DIVERSIDADE DA MICROBIOTA INTESTINAL DE FRANGOS DE CORTE**, após terem inquirido a aluna e realizado a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua aprovação no rito de defesa.

A outorga do título de mestre está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

Palotina, 27 de Fevereiro de 2018.



JOVANIR INES MULLER FERNANDES
Presidente da Banca Examinadora (UFPR)



MAYARA RODRIGUES PIVETTA
Avaliador Externo (UFPR)



CINTHIA EYNG
Avaliador Externo (UNIOESTE)

“Seja forte e corajoso! Não se apavore nem desanime, pois o Senhor, teu Deus, estará com você por onde você andar”.

Josué 1:9

Aos meus pais Vitório e Lúcia Kosmann, que dignamente
me mostraram a importância de amar ao próximo e o
caminho da honestidade e persistência.
Ao meu marido Mateus Glaeser por todo o amor e apoio.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A gratidão é reconhecer que a caminhada não foi solitária. É assumir e compartilhar que seus feitos dependeram de pessoas boas em nosso caminho. É entender que precisamos ter humildade na vida pessoal e profissional. Saber que é essencial ter amigos verdadeiros e uma família que podemos contar em momentos bons e ruins.

Nesse momento, tenho muitos a quem agradecer, porque de fato, muito eu recebi na jornada do mestrado.

À Deus eu agradeço pela vida e por guiar meu caminho, mostrando que quando temos fé, coragem e humildade alcançamos nossos objetivos e realizamos nossos sonhos.

Aos meus pais, por serem exemplo de vida a ser seguido. Por todas as vezes que estenderam a mão quando precisei. Se não fossem vocês, eu não teria conseguido. Companheiros de vida, apoiadores incondicionais. Amo muito vocês.

Às minhas irmãs Bruna Kosmann e Luana Kosmann, por todo o apoio. Guerreiras e batalhadoras. Mesmo longe estarão sempre em meu coração. Tenho orgulho de vocês.

Ao meu marido Mateus Glaeser que Deus colocou em meu caminho para que pudesse entender que tudo que acontece na vida tem um significado. Por ter me ensinado a ter mais paciência e ter respeito pelo próximo sem esperar nada em troca. Obrigada por todo o apoio e amor sempre.

À professora, orientadora, exemplo de pessoa e profissional Jovanir Inês Muller Fernandes. Do que consegui até hoje, como pessoa e como profissional, boa parte se deve a sua dedicação e a seu exemplo. Mulher guerreira e batalhadora, sempre nos mostrando que todos os sonhos poderiam ser alcançados. Sempre admirei a sua forma de trabalhar e tive sorte por bater em sua porta no segundo ano de faculdade e conseguir aquele estágio no laboratório. Tenho certeza que não poderia ter feito uma escolha melhor. Minha eterna gratidão.

Aos membros do Laboratório de Experimentação Avícola (LEA) e aos meus companheiros de pós - graduação. Um obrigado muito especial e com muito carinho.

Ao grupo de alunos, estagiários e alunos de iniciação científica e de pós - graduação que se dedicaram muito para que meus experimentos fossem realizados.

Espero um dia retribuir a ajuda de vocês. Nessas ocasiões é que percebemos o valor do trabalho de uma equipe dedicada.

À Universidade Federal do Paraná – Setor Palotina, que novamente abriu as portas e me acolheu por dois anos.

Aos professores do programa de pós - graduação, por todos os ensinamentos e tempo que dedicaram a repassar seu conhecimento.

À empresa C.VALE, por abrir as portas e permitir a realização do mestrado, conciliando com o trabalho. A todos que colaboraram, obrigada por toda a ajuda neste período.

À empresa Bayer por ter possibilitado a realização desta pesquisa, dando todo o suporte necessário para a realização das análises.

RESUMO

A utilização de antibióticos melhoradores de desempenho (AMD) nas dietas de frangos de corte é uma estratégia que permite atingir elevados índices produtivos e sanitários. Porém, limitações no uso dos AMD têm forçado a indústria e centros de pesquisas a buscarem produtos alternativos que possam substituir os AMD. Os probióticos já são utilizados como aditivos e podem exercer tal função. Objetivou-se com este estudo, avaliar o efeito da suplementação de probiótico e antibiótico em dietas de frangos de corte sobre o desempenho produtivo, rendimento de carcaça, cortes, deposição de gordura abdominal, morfometria intestinal, força de ruptura e elasticidade da mucosa do duodeno e ainda caracterização da microbiota intestinal de frangos de corte criados sobre cama obtida de aviário comercial com histórico de enterites inespecíficas. O experimento foi realizado no aviário experimental da Universidade Federal do Paraná. Foram utilizados 1800 pintos, de um dia de idade, *Cobb slow*, distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado com 4 tratamentos, 9 repetições de 50 aves cada. As dietas experimentais consistiram de: 1: Dieta controle, 2: Dieta controle + probiótico (100 g/ton), 3: Dieta controle + AMD (125 g/ton), e 4: Dieta controle + AMD (125 g/ton), + probiótico (100 g/ton). A análise estatística dos dados foi realizada pelo procedimento GLM do software SAS. Através da análise de metagenômica, foi possível esclarecer de modo geral a dinâmica da microbiota encontrada em frangos de corte neste estudo. O uso de probiótico na dieta não influenciou ($p>0,05$) o peso médio, ganho de peso, consumo de ração e conversão alimentar em nenhum dos períodos de criação avaliados, com exceção na 4ª semana. De 21 a 28 dias, foi observado efeito dos tratamentos sobre a conversão alimentar dos frangos de corte. Aves que receberam a dieta controle apresentaram melhor ($p<0,05$) conversão alimentar quando comparada com a dieta acrescida da associação probiótico + AMD. Não houve efeito significativo ($P>0,05$) do uso do probiótico em nenhuma das medidas morfométricas do jejuno e íleo das aves. Já para largura de vilo do duodeno, houve efeito significativo ($p<0,05$). Aves que receberam dieta com AMD apresentaram maior largura de vilos quando comparada apenas à dieta controle, não diferindo das demais. O peso absoluto e relativo da carcaça, dos cortes comerciais não foram influenciados pelos tratamentos ($p>0,05$). A deposição de gordura abdominal em relação ao peso da carcaça diferiu ($p<0,05$) entre os tratamentos. A dieta com AMD resultou em menor deposição de gordura abdominal em comparação às outras dietas, já as demais dietas foram semelhantes ($p>0,05$). A mensuração da força de ruptura e elasticidade da mucosa do duodeno não foi alterada ($p>0,05$) dos tratamentos. Em relação à microbiota intestinal no presente estudo, os filos identificados, assim como as correspondentes ordens, classes e famílias não apresentaram grande variação em relação aos tratamentos. Entretanto, o gênero *Streptococcus* e *Clostridium* foram mais frequentes no íleo das aves suplementadas com probiótico. Para o ceco, observou-se ocorrência de maior frequência dos gêneros *Lactobacilales*, *Subdoligranulum*, *Gemmiger*, *Streptococcus*, *Blautia* e *Bacterioides*, independentemente da dieta. O gênero *Bacterioides*, foi mais frequente em aves que receberam a dieta controle. As espécies mais prevalentes no íleo das aves foram o *L. aviarius*, *L. helveticus* e *L. salivarius*. A dieta acrescida de probiótico + AMD resultou em maior prevalência do *L. aviarius*, enquanto que a dieta com probiótico reduziu a ocorrência de *L. helveticus*, mas aumentou a frequência do *L. salivarius* em relação à dieta controle. No ceco das aves, as espécies mais frequentes foram *L. helveticus*, *aviarius* e

salvarius, *Subdoligranulum variable*, *Gemmiger formicilis*, *Blautia glucerasea* e *Streptococcus macedonicus*. As aves que receberam o probiótico na dieta, isolado ou associado ao AMD, apresentaram uma menor ocorrência do *S. macedonicus*. A ocorrência das espécies *Clostridium spiroforme*, *Bacteroides dorei*, *Bacteroides intestinalis*, *Bacteroides uniformis*, *Escherichia coli*, *Bacteroides xylanisolvens*, *Gemmiger formicilis* foram semelhantes entre os tratamentos. Porém, a ocorrência de *Gemminger formicilis* nas aves suplementadas com probiótico foi cerca do dobro do que observado em outros tratamentos. A microbiota intestinal é influenciada pelos tratamentos de forma inespecífica e sua modulação é variável e dinâmica. Novos estudos testando probióticos na dieta, isolado ou associado a um antibiótico melhorador de desempenho sobre o desempenho produtivo, rendimento de carcaça, morfometria e microbiota intestinal de frangos de corte criados sobre cama obtida de aviário comercial com histórico de enterites inespecíficas devem ser realizados para avaliar os diversos e distintos microrganismos. Práticas de manejo e de medidas higiênico-sanitárias devem ser consideradas como alternativas para melhorar os índices produtivos e econômicos na avicultura.

Palavras-chave: antibiótico melhorador de desempenho, *Bacillus subtilis*, força de ruptura intestinal, microbiota intestinal, 16S rDNA.

ABSTRACT

The use of antibiotics growth promoters (AGP) in the diets of broilers is a strategy that allows high production rates and health. However, limitations on the use of AGPMD have forced the industry and research centers to seek alternative products that can replace the AGP. Probiotics are already used as additives and can exercise such a function. The aim of this study was to evaluate the effect of probiotic supplementation and antibiotics in broiler diets on productive performance, carcass yield, cuts, deposition of abdominal fat, intestinal morphology, breaking strength and elasticity of the mucosa of the duodenum and characterization of intestinal microbiota of broilers reared on litter retrieved from a commercial farm with a history of non-specific enteritis. The experiment was conducted in the experimental Aviary at the Federal University of Paraná. 1,800 day-old Cobb slow chicks were used, distributed in a completely randomized design with 4 treatments, 9 reps of 50 birds each. The experimental diets consisted of: 1: control Diet, 2: control Diet + probiotic (100 g/ton), 3: control Diet + AGP (125 g/ton), and 4: control Diet + AGP (125 g/ton), + probiotic (100 g/ton). Statistical analysis of the data was performed by the GLM procedure of the SAS software. Through the 16S rRNA analysis, it was possible to clarify overall dynamics of the intestinal microbiota found in broilers. The use of probiotic in the diet did not influence ($p > 0.05$) the average weight, weight gain, feed intake and feed conversion ratio in any of the periods of creation assessed, except in the fourth week. From 21 to 28 days, treatment effect was observed on the feed conversion ratio of broilers. Birds that have received the control diet showed better ($p < 0.05$) feed conversion compared with the diet plus probiotic association + AMD. There were no significant effects ($P > 0.05$) of probiotic use on any of the measures of the jejunum and ileum of the birds. Villus width to the duodenum, there was a significant effect ($p < 0.05$). Birds that received a diet with AGP had higher villi width when compared to the control diet, not differing from the others. The absolute and relative weight of the carcass of commercial cuts were not influenced by the treatments ($p > 0.05$). The deposition of abdominal fat in relation to the weight of the carcass differed ($p < 0.05$) between treatments. The diet with AGP resulted in lower abdominal fat deposition compared to other diets, since the other diets were similar ($p > 0.05$). The measurement of the rupture and elasticity force of the duodenal mucosa has not been altered ($p > 0.05$) according to the treatments. In relation to the intestinal microbiota in the present study, the identified phyla, as well as the corresponding orders, classes and families did not show much variation in relation to the treatments. However, the genus *Streptococcus* and *Clostridium* were more frequent in the ileum of birds supplemented with probiotic. For the cecum, it was observed more frequent occurrence of the genera *Lactobacilales*, *Subdoligranulum*, *Gemmiger*, *Streptococcus*, *Blautia* and *Bacterioides*, regardless of the diet. The genus *Bacterioides*, was more frequent in birds that received the control diet. The most prevalent species in the bird's ileum were *L. Aviarius*, *L. Helveticus* and *L. Salivarius*. The increased diet of probiotic + AGP resulted in higher prevalence of *L. Aviarius*, while the diet with probiotic reduced the occurrence of *L. helveticus*, but increased the frequency of *L. Salivarius* in relation to diet control. In the cecum of birds, the most frequent species were *L. helveticus*, *Aviarius* and *Salvarius*, *Subdoligranulum* variable, *Gemmiger formicilis*, *Blautia Glucerasea* and *Streptococcus Macedonicus*. The birds that received the probiotic in the diet, isolated or associated with the AGP, presented a smaller occurrence of the *S. Macedonicus*.

The occurrence of the species *Clostridium* *spiroforme*, *Bacteroides* *Dorei*, *Bacteroides* *intestinal*, *Bacteroides* *uniform*, *Escherichia* *coli*, *Bacteroides* *Xylanisolvans*, *Gemmiger* *Formicilis* were similar among treatments. However, the occurrence of *Gemmiger* *formicilis* in the birds supplemented with probiotic was about twice as observed in other treatments. The intestinal microbiota is influenced by the treatments in an unspecific way and its modulation is variable and dynamic. New studies testing probiotics in the diet, isolated or associated with an antibiotic performance enhancer on productive performance, carcass yield, morphometry and intestinal microbiota of broilers created on bed obtained from aviary Commercial with a history of unspecific arteritis should be carried out to evaluate the different and different micro-organisms. Management practices and hygienic-sanitary measures should be considered as alternatives to improve the productive and economical indices in poultry farming.

Key-words: Antibiotic performance enhancer, *Bacillus subtilis*, intestinal rupture force, intestinal microbiota, 16s RDNA.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO II

- FIGURA 1 - FILO-FREQUÊNCIA (%) DE 16S rDNA BACTERIANO ISOLADO NO ÍLEO E CECO DE FRANGOS DE CORTE AOS 42 DIAS DE IDADE ALIMENTADOS COM DIETAS ACRESCIDAS DE ANTIBIÓTICO MELHORADOR DE DESEMPENHO (AMD) E PROBIÓTICO ISOLADOS OU ASSOCIADOS.....80
- FIGURA 2 - CLASSE-FREQUÊNCIA (%) DE 16S rDNA BACTERIANO ISOLADO NO ÍLEO E CECO CECO DE FRANGOS DE CORTE AOS 42 DIAS DE IDADE ALIMENTADOS COM DIETAS ACRESCIDAS DE ANTIBIÓTICO MELHORADOR DE DESEMPENHO (AMD) E PROBIÓTICO ISOLADOS OU ASSOCIADOS.....81
- FIGURA 3 - ORDEM-FREQUÊNCIA (%) DE 16S rDNA BACTERIANO ISOLADO NO ÍLEO E CECO DE FRANGOS DE CORTE AOS 42 DIAS DE IDADE ALIMENTADOS COM DIETAS ACRESCIDAS DE ANTIBIÓTICO MELHORADOR DE DESEMPENHO (AMD) E PROBIÓTICO ISOLADOS OU ASSOCIADOS.....82
- FIGURA 4 - FAMÍLIA-FREQUÊNCIA (%) DE 16S rDNA BACTERIANO ISOLADO NO ÍLEO E CECO DE FRANGOS DE CORTE AOS 42 DIAS DE IDADE ALIMENTADOS COM DIETAS ACRESCIDAS DE ANTIBIÓTICO MELHORADOR DE DESEMPENHO (AMD) E PROBIÓTICO ISOLADOS OU ASSOCIADOS.....83
- FIGURA 5 - GÊNERO-FREQUÊNCIA (%) DE 16S rDNA BACTERIANO ISOLADO NO ÍLEO E CECO DE FRANGOS DE CORTE AOS 42 DIAS DE IDADE ALIMENTADOS COM DIETAS ACRESCIDAS DE ANTIBIÓTICO MELHORADOR DE DESEMPENHO (AMD) E PROBIÓTICO ISOLADOS OU ASSOCIADOS.....84
- FIGURA 6 - ESPÉCIE-FREQUÊNCIA (%) DE 16S rDNA BACTERIANO ISOLADO NO ÍLEO DE FRANGOS DE CORTE AOS 42 DIAS DE IDADE ALIMENTADOS COM DIETAS ACRESCIDAS DE ANTIBIÓTICO MELHORADOR DE DESEMPENHO (AMD) E PROBIÓTICO ISOLADOS OU ASSOCIADOS.....85
- FIGURA 7 - ESPÉCIE-FREQUÊNCIA (%) DE 16S rDNA BACTERIANO ISOLADO NO CECO DE FRANGOS DE CORTE AOS 42 DIAS DE IDADE ALIMENTADOS COM DIETAS ACRESCIDAS DE ANTIBIÓTICO MELHORADOR DE DESEMPENHO (AMD) E PROBIÓTICO ISOLADOS OU ASSOCIADOS.....86

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

TABELA 1 - COMPOSIÇÃO PERCENTUAL E CALCULADA DAS DIETAS EXPERIMENTAIS DOS FRANGOS DE CORTE NO PERÍODO INICIAL (1 A 18 DIAS), CRESCIMENTO (19 A 35 DIAS) E ABATE (36 A 42 DIAS).....	52
TABELA 2 - ÍNDICES ZOOTÉCNICOS DE FRANGOS DE CORTE DE 1 A 42 DIAS ALIMENTADOS COM DIETAS ACRESCIDAS DE ANTIBIÓTICO MELHORADOR DE DESEMPENHO (AMD) E PROBIÓTICOS ISOLADO OU ASSOCIADOS.....	57
TABELA 3 - ÍNDICES ZOOTÉCNICOS DE FRANGOS DE CORTE DE 1 A 21 DIAS E DE 1 A 42 DIAS ALIMENTADOS COM DIETAS ACRESCIDAS DE ANTIBIÓTICO MELHORADOR DE DESEMPENHO (AMD) E PROBIÓTICO ISOLADOS OU ASSOCIADOS.....	58
TABELA 4 - MORFOMETRIA DA MUCOSA INTESTINAL DO DUODENO, JEJUNO E ÍLEO DE FRANGOS DE CORTE AOS 42 DIAS DE IDADE ALIMENTADOS COM DIETAS ACRESCIDAS DE ANTIBIÓTICO MELHORADOR DE DESEMPENHO (AMD) E PROBIÓTICO ISOLADOS OU ASSOCIADOS.....	60
TABELA 5 - RESISTÊNCIA E ELASTICIDADE DO DUODENO DE FRANGOS DE CORTE COM 42 DIAS DE IDADE ALIMENTADOS COM DIETAS ACRESCIDAS DE ANTIBIÓTICO MELHORADOR DE DESEMPENHO (AMD) E PROBIÓTICO ISOLADOS OU ASSOCIADOS.	62
TABELA 6 - PESO ABSOLUTO E RELATIVO DA CARCAÇA, CORTES COMERCIAIS E GORDURA ABDOMINAL DE FRANGOS DE CORTE AOS 42 DIAS DE IDADE ALIMENTADOS COM DIETAS ACRESCIDAS DE ANTIBIÓTICO MELHORADOR DE DESEMPENHO (AMD) E PROBIÓTICO ISOLADOS OU ASSOCIADOS.....	63

CAPÍTULO II

TABELA 1 - COMPOSIÇÃO PERCENTUAL E CALCULADA DAS DIETAS EXPERIMENTAIS DOS FRANGOS DE CORTE NO PERÍODO INICIAL (1 A 18 DIAS), CRESCIMENTO (19 A 35 DIAS) E ABATE (36 A 42 DIAS)	77
TABELA 2 - CARACTERÍSTICAS DOS PRIMERS UTILIZADOS NESTE ESTUDO.	79

LISTA DE SIGLAS

ABPA	– Associação Brasileira de Proteína Animal
AV	– Altura de vilo
AMD	– Antibiótico melhorador de desempenho
APC	– Antibiótico promotor do crescimento
CIM	– Concentração inibitória mínima
FDA	– Food and Drug Administration (Administração de Comidas e Remédios)
IgA	– Imunoglobulina
NK	– Natural Killer
LEA	– Laboratório de Experimentação Avícola
LC	– Largura de cripta
LV	– Largura de vilo
NRC	– National Research Council (Conselho Nacional de Pesquisa)
PAS	– Ácido Peródico de Schiff
TGI	– Trato gastrointestinal
UFC	– Unidades formadoras de colônias
UFPR	– Universidade Federal do Paraná
WGO	– World Gastroenterology Organization

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	16
2	REVISÃO LITERATURA.....	19
2.1	ANTIBIÓTICOS MELHORADORES DE DESEMPENHO NA AVICULTURA	19
2.2	PROBIÓTICOS COMO SUBSTITUTOS DOS MELHORADORES DE DESEMPENHO EM DIETAS DE FRANGOS DE CORTE	22
2.3	MECANISMO DE AÇÃO DOS PROBIÓTICOS	24
2.3.1	Competição por sítios de ligação ou exclusão competitiva	25
2.3.2	Estímulo ao sistema imune	27
2.3.3	Competição por nutrientes	28
2.3.4	Produção de substâncias antibacterianas e enzimas	29
2.3.5	Microrganismos probióticos inativados	30
2.4	INTEGRIDADE INTESTINAL.....	31
2.5	MICROBIOTA INTESTINAL	33
2.6	BACILLUS SUBTILES	35
	REFERÊNCIAS	37
3	OBJETIVOS	46
3.1	OBJETIVO GERAL	46
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	46
	CAPÍTULO I - IMPACTO DA ADIÇÃO DIETÉTICA DE ANTIBIÓTICO MELHORADOR DE DESEMPENHO E PROBIÓTICO SOBRE O DESEMPENHO PRODUTIVO, RENDIMENTO DE CARÇA E INTEGRIDADE INTESTINAL DE FRANGOS DE CORTE.....	47
1	INTRODUÇÃO.....	49
2	MATERIAL E MÉTODOS	51
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	55
4	CONCLUSÃO	65
	REFERÊNCIAS	66
	CAPÍTULO II - IMPACTO DA ADIÇÃO DE ANTIBIÓTICO MELHORADOR DE DESEMPENHO E PROBIÓTICO SOBRE A DIVERSIDADE DA MICROBIOTA INTESTINAL DE FRANGOS DE CORTE	71
1	INTRODUÇÃO.....	73

	2 MATERIAL E MÉTODOS	75
	3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	79
	4 CONCLUSÃO	88
	REFERÊNCIAS	89
4	CONSIDERAÇÕES FINAIS	93
	REFERÊNCIAS	95

1 INTRODUÇÃO

O setor avícola brasileiro vem se destacando dentre os demais setores agropecuários devido a sua rápida ascensão nos últimos anos. Com produção de 13,136 milhões de toneladas em 2015, volume 3,5% superior ao obtido no ano anterior, o Brasil assumiu o segundo lugar no *ranking* dos maiores produtores de carne de frango, superando a China (ABPA, 2016).

Com a crescente demanda global por alimentos, a produção de proteína animal se torna fundamental. De acordo com OECD-FAO (2015), as projeções apontam para um aumento do consumo da carne de frango em torno de 1,6% ao ano no período de 2013 a 2022.

Atualmente 30% do consumo de carne global é a carne de frango, sendo que alguns fatores contribuem para este cenário, como preço acessível, alto valor nutricional e não é alvo de restrições religiosas ou culturais. No *ranking* dos Estados produtores de carne de frango, o Paraná continua liderando amplamente o abate, com 31,1% da participação nacional, seguido por Santa Catarina com 14,7% e Rio Grande do Sul com 14,1% (IBGE, 2107).

Um dos alicerces desse alto crescimento é a nutrição, que está em constante transformação, sempre na busca de alternativas que tornem possível a formulação de dietas mais eficientes, econômicas, que mantenha qualidade e segurança do produto final e que traga satisfação ao mercado consumidor. Destaca-se também a genética, ambiência e sanidade, para que haja a máxima eficiência na absorção e na assimilação dos nutrientes para a melhora no desempenho produtivo.

Porém, com a utilização de criações intensivas e a ausência de contato prévio dos pintinhos com a microbiota natural materna e do ambiente, no momento da eclosão, as aves podem se tornar mais susceptíveis aos desafios entéricos no período pós-eclosão. Assim, é prática recorrente a utilização de antibióticos na forma terapêutica e na forma de melhoradores de desempenho (AMD) já no 1º dia de vida das aves.

A utilização de antibióticos é alvo de discussões, pois, segundo Chander et al., (2007) existem evidências de que o uso contínuo de antibióticos na forma de AMD pode resultar em resistência bacteriana. Porém, segundo Who (1997) uma parcela significativa da resistência pode ser atribuída ao uso inadequado dos antibióticos pela medicina humana e são poucos os dados que relacionam o impacto negativo na

saúde humana ao uso de antibióticos na produção avícola, tornando o assunto ainda mais polêmico.

Outra linha de defesa ao não uso de AMD sugere que animais que receberam o produto durante a fase de crescimento podem apresentar resíduos químicos na carne (BUTAYE et al., 2003; SALEHA et al., 2009).

Os antibióticos são rotineiramente utilizados para controlar agentes patogênicos do trato gastrointestinal, além disso, usados como melhoradores de desempenho promovem melhora nos índices zootécnicos e maximizam a produção (TOLEDO et al., 2007). Os melhoradores de desempenho são utilizados na produção animal desde a década de 50 (MENTEN, 2001). No entanto, a União Europeia passou a exigir o banimento de antimicrobianos promotores de crescimento na nutrição animal, pois passaram a ser vistos como fatores de risco para a saúde humana pelo seu possível papel na ocorrência de resistência microbiana (BRUGALLI, 2003).

Por outro lado, o banimento do uso dos promotores pode trazer consequências que devem ser consideradas. Segundo o Consejo Nacional de Investigación (1999), tal ação levaria a um aumento no preço do produto final, devido ao pior desempenho produtivo, bem como aumento na demanda de antibióticos para uso terapêutico, devido a maior susceptibilidade às doenças entéricas.

Além disso, com a constante demanda por alimentos no mundo, com a busca por produção sustentável, alimentos mais saudáveis e criações que atendam o bem-estar animal, a indústria das proteínas busca por alternativas que atendam legislações e as restrições de mercados consumidores, deixando evidente a necessidade de utilização de aditivos benéficos às aves. Com isso, novas alternativas aos antibióticos têm surgido, como a utilização de substâncias naturais. Os probióticos são substâncias naturais que vem sendo utilizados em larga escala na produção avícola.

Os probióticos são suplementos alimentares compostos de microrganismos vivos que beneficiam a saúde do hospedeiro através do equilíbrio da microbiota intestinal (FULLER, 1989 e KAUR et al., 2002). Segundo Salminen et al., (1999), os probióticos são definidos como preparados de microrganismos, ou seus componentes, que têm um efeito benéfico sobre a saúde e o bem estar do hospedeiro. Scherezemeier et al., (2001) consideraram que o termo probiótico deveria ser usado para designar preparações ou produtos que contêm

microrganismos viáveis definidos e em quantidade adequada que alteram a microbiota própria das mucosas por colonização de um sistema do hospedeiro, produzindo efeitos benéficos em sua saúde.

Independentemente do conceito utilizado, os probióticos trazem benefícios à saúde do hospedeiro, não deixam resíduos nos produtos de origem animal e não favorecem resistência às drogas (NEPOMUCENO et al., 2000), o que os faz um dos candidatos preferenciais para substituir os antimicrobianos como aditivos alimentares.

Portanto, o objetivo do estudo foi avaliar o efeito da suplementação de probiótico e antibiótico em dietas de frangos de corte sobre o desempenho produtivo, rendimento de carcaça, cortes, deposição de gordura abdominal, morfometria intestinal, força de ruptura e elasticidade da mucosa do duodeno e ainda caracterização da microbiota intestinal de frangos de corte criados sobre cama obtida de aviário comercial com histórico de enterites inespecíficas.

2 REVISÃO LITERATURA

2.1 ANTIBIÓTICOS MELHORADORES DE DESEMPENHO NA AVICULTURA

Os antibióticos podem ser definidos como um produto do metabolismo microbiano que é capaz de matar ou inibir o crescimento de outros microrganismos, sendo efetivo em baixas concentrações. Atualmente se conhecem mais de 5000 antibióticos, dos quais 75% aproximadamente são produzidos pelo gênero *Streptomyces* (BROK et al., 1994). Poucos achados científicos tiveram tanto efeito no campo da medicina como o descobrimento e produção em grande escala dos antibióticos.

Os primeiros dados que comprovaram os efeitos benéficos dos antibióticos profiláticos datam de 1946, quando foi relatada uma resposta positiva no crescimento de frangos de corte com o uso de estreptomicina (LANGHOUT, 2005). Antibióticos são usados para combater infecções em doses preventivas e curativas, sendo estimulantes do crescimento e produção (ENGLERT, 1998).

Segundo Albuquerque (2005), o uso dos aditivos antimicrobianos em avicultura de corte tem contribuído com o aumento da produtividade, diminuição da quantidade de alimento consumido pelos animais até o momento do abate, melhora da conversão alimentar, bloqueio dos processos microbiológicos ligados à deterioração da ração, prevenção de doenças infecciosas ou parasitárias e diminuição da mortalidade.

A partir da década de 1950, o uso de antimicrobianos melhoradores de desempenho (antibióticos e quimioterápicos), como aditivos às rações, proporcionaram grandes benefícios na criação de frangos de corte, expressos principalmente por maior aproveitamento dos nutrientes provenientes da dieta, melhorando a taxa de crescimento e a eficiência na conversão alimentar e consequentemente maior lucratividade. Esses aditivos são considerados promotores de crescimento por serem utilizados em doses subterapêuticas e constituídos por moléculas não terapêuticas. São adicionados às rações durante quase toda a fase de criação das aves, respeitando, apenas, o período de retirada antes do abate (LORENÇON et al., 2007). O objetivo principal da suplementação é controlar os agentes prejudiciais ao trato digestório e proporcionar os efeitos benéficos na absorção de nutrientes (VASSALO et al., 1997).

O principal mecanismo de ação dos promotores de crescimento está relacionado com a inibição da síntese da parede celular, causando alterações na permeabilidade da membrana citoplasmática, interferência na replicação dos cromossomos, interferência na síntese proteica e reduzindo a competição entre a bactéria e o hospedeiro, (LANCINI, 1994), causando interações entre o antibiótico e a microbiota intestinal (DIBNER e RICHARD, 2005; MENTEN, 2002).

Soares (1996) concluiu que um promotor de crescimento ideal deve proporcionar melhor desempenho produtivo, apresentar um bom custo/benefício, ser atóxico, não alterar drasticamente a microbiota intestinal, atuar exclusivamente ao nível intestinal, não estar envolvido em transferência de resistência, não possuir resistência cruzada com outros antibióticos (em especial os de uso na terapêutica humana), não deixar resíduos na carcaça dos animais após sua retirada e ser biodegradável.

Apesar da comprovada capacidade de melhorar o desempenho, devido à pressão da opinião pública, de pesquisadores e de centros não governamentais que defendem o banimento do uso de antibióticos na produção animal, a segurança dos antibióticos passou a ser questionada, principalmente, em virtude do seu uso rotineiro na alimentação das aves, tornando cada vez mais restrita a sua utilização devido a possibilidade do desenvolvimento de microrganismos multirresistentes e à exigência dos países importadores por produtos livres de resíduos de antibióticos (SILVA, 2000).

Em janeiro de 2006, a União Europeia, que é responsável por parte significativa das exportações brasileiras de frango, banizou a utilização de antibióticos como melhoradores de desempenho na alimentação de aves (KHACHATOURIANS, 1998; COUNCIL, 2003). Permitiu somente o emprego dos ionóforos monensina sódica e salinomicina como agentes anticoccidianos (COUNCIL, 2003), em virtude da associação do uso de promotores de crescimento com a indução de resistência cruzada por bactérias patogênicas e com reações de hipersensibilidade ou câncer, devidas à presença de seus resíduos na carne (KHACHATOURIANS, 1998; MENTEN, 2002).

Diversos países já restringiram o uso desses aditivos químicos. A Suécia banizou o uso de AMD desde 1986, outros países como a Suíça e Dinamarca baniram os AMD, antes do banimento por parte da União Europeia em 2006, a qual também permite somente a utilização dos ionóforos monensina e salinomicina como agentes

anticoccidianos (COUNCIL, 2003). Na China alguns antibióticos foram banidos e outros estão sob avaliação (MISHRA, 2014). No Brasil, várias moléculas ainda são utilizadas, porém muitas já foram banidas, além disso, alguns consumidores têm evitado a compra de carne de suínos e aves, por acreditarem que estas sejam contaminadas por antibióticos.

Dessa forma, todo frango brasileiro destinado às exportações para a União Europeia deve ser criado sem o uso de antibióticos na forma preventiva, o que pode gerar queda de produtividade. A Suécia e a Dinamarca já haviam banido os antibióticos da alimentação animal e verificaram queda de desempenho e lucratividade da ordem de 2% e 3%, respectivamente (LANGHOUT, 2005).

Um estudo realizado por Araújo et al., (2007) mostrou que os consumidores buscam produtos de origem animal sem a presença de resíduos químicos e sem acréscimos no custo de produção. Segundo Bertechini (2012), a maioria dos antibióticos usados como melhoradores não possuem absorção, assim tornando pequena a possibilidade de acúmulo nos tecidos comestíveis. Entretanto, existe controvérsia sobre esse assunto. Mishra (2014) mostrou que há um grande risco de resistência aos antibióticos utilizados na produção animal, que resultam em graves problemas de saúde humana.

Entretanto, em países onde ocorreu a restrição no uso dos antimicrobianos, houve aumento na incidência de doenças, principalmente entéricas, tais como enterite necrótica e coccidiose. Além disso, pode ocorrer aumento do risco de infecções de origem alimentar em humanos, pelo menor controle de patógenos de origem alimentar como *Salmonella*, *Campylobacter* e *E. coli* (ROSTAGNO, 2011).

Estudos realizados em países do norte da Europa, onde a proibição do uso de promotores de crescimento ocorreu há mais tempo, mostraram que não se reduziu o aparecimento de microrganismos resistentes a antibióticos nos hospitais. Ainda, o uso de antibióticos para fins terapêuticos na produção animal cresceu devido à maior incidência de casos clínicos.

Pesquisadores sugerem que a maior causa da resistência bacteriana a antibióticos ocorre pelo uso inadequado dos mesmos na medicina humana e de animais de companhia como o seu uso indiscriminado, interrupção do uso antes do tempo preconizado pelo médico, falta de acompanhamento ou mesmo do retorno do paciente ao médico. Sugerem ainda que o aumento do uso de antibióticos em doses terapêuticas na produção animal pode ser um agravante do problema da resistência

bacteriana, pois apenas dosagens acima da concentração inibitória mínima podem provocar pressão de seleção, aumentando a frequência de cepas de microrganismos que carregam genes de resistência aos antibióticos.

Korb et al., (2015) avaliaram a tipagem molecular e a resistência aos antimicrobianos em isolados de *Escherichia coli* de frangos de corte de criação intensiva e de tratadores e concluíram que a similaridade genotípica é acima de 80%, além disso, existe uma grande preocupação com o aumento da frequência de doenças transmitidas por alimentos.

No Brasil, para o mercado interno, a utilização de promotores de crescimento é permitida, desde que o produto esteja devidamente registrado no MAPA, e o seu modo de uso, dosagem e período de carência sejam respeitados. Com isto, e pela ausência no Brasil de registro de uma associação entre dois promotores (Um Gram+ e o outro Gram-), apenas um promotor de crescimento pode ser usado.

Entretanto, o Brasil é o maior exportador de carne de frango, principalmente para países que restringem o uso de promotores de crescimento nas dietas de frango de corte, e tem como uma de suas premissas o respeito às legislações dos países importadores, assim alternativas capazes de controlar os riscos devem ser tomadas, forçando a busca por aditivos sem restrição do mercado consumidor e capazes de garantir o máximo desenvolvimento dos animais.

2.2 PROBIÓTICOS COMO SUBSTITUTOS DOS MELHORADORES DE DESEMPENHO EM DIETAS DE FRANGOS DE CORTE

Com a pressão contínua do mercado consumidor e legislações para a restrição do uso de antibióticos na produção de aves, estudos consistentes em relação ao uso de substitutos aos antibióticos tornam fundamentais a introdução de alternativas, que possibilitem a manutenção da produtividade e da lucratividade do setor.

As principais alternativas em relação ao uso de antibióticos melhoradores de desempenho são as medidas que reduzem os desafios microbiológicos as aves, onde uma das alternativas pode ser na forma de aditivos para uso na ração ou via água de bebida como os probióticos.

O termo probiótico, de origem grega, significa “pró-vida”. Ao longo do tempo, esta denominação foi conceituada de diferentes maneiras. Inicialmente Lilly et al.,

(1965) a usaram para denominar substâncias secretadas por um protozoário que estimulava o crescimento de outros, e Parker (1974), para denominar suplementos alimentares destinados a animais, incluindo microrganismos e substâncias que afetam o equilíbrio da microbiota intestinal. Mas, segundo a definição de Parker (1974), essas substâncias poderiam incluir suplementos tais como antibióticos, cuja função é oposta, e devido a este fato, esta definição foi abandonada (CHEN, WALKER, 2005).

Fuller (1989) considerou que os probióticos são suplementos alimentares que contêm bactérias vivas que produzem efeitos benéficos no hospedeiro, favorecendo o equilíbrio de sua microbiota intestinal, entanto Havenaar et al., (1992) consideraram que 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. Esses autores restringiram o uso desse termo a produtos que contenham microrganismos viáveis que promovem a saúde de humanos ou animais, e que exercem seus efeitos no aparelho digestivo, no trato respiratório superior ou no trato urogenital (HAVENAAR et al., 1992).

Schrezenmeir et al., (2001) propuseram que o termo probiótico deveria ser usado para designar preparações ou produtos que contêm microrganismos viáveis definidos e em quantidade adequada, que alteram a microbiota própria das mucosas por implantação ou colonização de um sistema do hospedeiro, e que produzem efeitos benéficos em sua saúde.

Na década de 90, foi apresentada uma definição mais específica e utilizada atualmente, onde probióticos são microrganismos viáveis, o que inclui bactérias lácticas e leveduras na forma de células liofilizadas ou de produto fermentado, que exibem um efeito benéfico sobre a saúde do hospedeiro, após ingestão, devido à melhoria das propriedades da microbiota nativa (HAVERNAR, 1992).

Dentre os microrganismos que são usados como probióticos estão as bactérias ácido- lácticas, bactérias não ácido lácticas e leveduras. Como propriedades, os probióticos devem ser inócuos, manter-se viáveis por longo tempo durante a estocagem e transporte, tolerar o baixo pH do suco gástrico e resistir à ação da bile e das secreções pancreática e intestinal, não transportar genes transmissores de resistência a antibióticos e possuir propriedades anti-mutagênicas e anticarcinogênicas, assim como resistir a fagos e ao oxigênio (HAVENAAR et al.,

1992; SALMINEN et al., 1998; OUWEHAND et al., 1999; SAARELA et al., 2000; HOLZAPFEL & SCHILLINGER, 2002).

Segundo Szajewska et al. (2006), para um organismo ser classificado como probiótico, ele não deve ser patogênico, ser resistente ao processamento, ser estável e permanecer viável após exposição aos sucos digestivos, aderir-se à célula epitelial, ser capaz de persistir no trato gastrointestinal e influenciar a atividade metabólica local.

Adhikari & Kim (2017) citam que dentre os aspectos funcionais dos probióticos incluem-se tolerância à acidez gástrica, tolerância à atividade de hidrólise dos sais da bile, atividade antioxidante, produção de compostos antimicrobianos, capacidade de reduzir patógenos aderidos na superfície, habilidade de modulação da resposta imune e adesão no tecido intestinal.

Dentre os aspectos tecnológicos importantes estão a capacidade de espécies probióticas de resistir às condições de produção industrial e sobreviver na formulação final do produto, além da habilidade das culturas em conservar sua função no trato gastrointestinal e coexistir com a microbiota própria do hospedeiro (AJUWON, 2015).

O emprego dos probióticos na nutrição não introduz nenhuma substância desconhecida no trato gastrointestinal dos animais, nem leva a riscos de infecção das carcaças (Santos & Turnes, 2005). No entanto, de acordo com O'Toole et al. (2008), previamente ao uso comercial, os microrganismos probióticos devem ser submetidos a diferentes testes para o reconhecimento de sua segurança como aditivo alimentar para humanos e animais.

Como os probióticos acarretam benefícios para as aves e não deixam resíduos nos alimentos (KHAN et al., 2013), esses aditivos vem ganhando cada vez mais espaço no mercado.

2.3 MECANISMO DE AÇÃO DOS PROBIÓTICOS

A fundamentação do uso de probióticos é a modificação da microbiota intestinal favorecendo a saúde do hospedeiro e mantendo a probiose do animal, que conceitualmente é a habilidade dos microrganismos benéficos de resistir ao crescimento excessivo e ao estabelecimento de cepas invasoras (GHADBAN, 2002; LIU et al., 2012).

Os microrganismos que funcionam como probióticos não se multiplicam rapidamente e por isto não permanecem colonizadores perenes (MARCO et al, 2004).

O modo de ação dos probióticos é similar àqueles descritos para a microbiota intestinal, cuja ação se dá por exclusão competitiva por aderência aos sítios de ligação do epitélio intestinal, competição com outras bactérias patogênicas, estimulação ao sistema imune (UTIYAMA, 2004; BURITI, 2005), efeito nutricional, antagonismo direto por meio da produção de substâncias antibacterianas e enzimas, facilitando a digestão e absorção de nutrientes (UTIYAMA, 2004; SHIM, 2005; LIU et al., 2012).

Porém, em relação ao seu modo de ação, é difícil definir um único mecanismo embora tenham sido sugeridos vários processos que podem atuar independentemente ou associados (ADHIKARI & KIM, 2017).

Isolauri et al., (1993) verificaram que os probióticos agem diminuindo a permeabilidade intestinal nas patologias onde existe uma barreira defeituosa. Já outros pesquisadores sugerem a ação por meio de ativação e/ou redução da resposta imunológica da mucosa celular e humoral. Mack et al., (1999) encontraram produção de muco aumentada quando foram administrados probióticos.

Se os microrganismos probióticos forem introduzidos no trato gastrintestinal na época em que o equilíbrio está favorável ao desenvolvimento de bactérias patogênicas (estresse, doenças, troca de alimentação, mudança de clima) ou quando nenhum ou baixo número de microrganismos benéficos estiverem presentes (ao nascimento, troca de dieta ou após tratamento com antimicrobiano) os distúrbios digestivos podem ser minimizados ou superados.

De acordo com Macari e Furlan (2008), os mecanismos de ação dos probióticos podem ser: 1) competição por sítios de ligação ou exclusão competitiva; 2) estímulo ao sistema imune; 3) Competição por nutrientes e 4) Produção de substâncias antibacterianas e enzimas.

2.3.1 Competição por sítios de ligação ou exclusão competitiva

As bactérias probióticas ocupam sítios de ligação na mucosa intestinal formando uma barreira física às bactérias patogênicas. Dessa forma, as bactérias patogênicas seriam excluídas por competição de espaço. O processo de aderência dessas bactérias é feito através de polissacarídeos (moléculas de açúcares

ramificadas) que se estendem na parede externa da bactéria formando uma estrutura chamada glicocálix ou fímbria que envolve a célula ou mesmo a colônia de bactérias. A aderência das bactérias mediada pelo glicocálix das mesmas nos diferentes ambientes é o fator determinante no início do processo de progressão das doenças bacterianas (MACARI et al., 2002).

Algumas bactérias somente se aderem à superfície superior dos enterócitos, enquanto que outras residem nas criptas onde são produzidas as novas células epiteliais que migram até o topo das vilosidades (DOBROGOSZ et al., 1991 e TORNUT, 1998).

A natureza química do glicocálix pode sofrer alterações, em função da composição de açúcares que compõem os polissacarídeos. Estudos demonstram que os microrganismos quando em meio de cultura, não produzem glicocálix, aparentemente utilizando reservas para multiplicação, e não aderência, a qual não é necessária nestas circunstâncias (MACARI et al., 2002).

Os enterócitos do intestino delgado também apresentam seu glicocálix, a colonização por bactérias nos diferentes segmentos parece estar na dependência da aderência do glicocálix de uma bactéria com o glicocálix do enterócito. Este mecanismo regula o processo de colonização das bactérias no intestino delgado e ceco das aves, na fase pré- eclosão. O elo entre estes glicocálix pode ser uma proteína chamada lectina, a qual se liga especificamente a um polissacarídeo com estrutura molecular (MACARI et al., 2002).

Pesquisas sugerem que o posicionamento do glicocálix não apenas atua como um sistema de aderência da bactéria ao enterócito, mas pode armazenar e concentrar as enzimas digestivas produzidas pelas bactérias, as quais atuam diretamente sobre a mucosa do hospedeiro liberando substâncias importantes para a sobrevivência e multiplicação dos microrganismos. Assim, a estrutura do glicocálix funciona como um reservatório de nutrientes para as bactérias.

Além de efeito físico de barreira contra bactérias patogênicas, as bactérias probióticas também exercem um efeito biológico na medida em que promovem um ambiente de baixa tensão de oxigênio, desfavorecendo o crescimento de bactérias enteropatogênicas (ADHIKARI & KIM, 2017).

Os microrganismos probióticos viáveis quando adicionados à dieta passam a predominar aderindo-se ao epitélio intestinal, dificultando a adesão de bactérias patogênicas. Estes microrganismos também possuem maior capacidade de captura e

metabolização de nutrientes presentes no lúmen do que os patogênicos que não estão aderidos (ROTH, 2000).

Neste sentido, a administração de bactérias benéficas como *Lactobacillus*, *Enterococcus* e *Bifidobacterium* impede a colonização de patógenos, com manutenção do equilíbrio da microbiota intestinal.

Segundo Macari et al., (2005) um exemplo de como os probióticos formam uma barreira física às bactérias patogênicas competindo com estas pelos nutrientes e receptores celulares é a competição estabelecida entre a bactéria do gênero *Bifidobacterium* com a bactéria *Escherichia coli* enteropatogênicas.

2.3.2 Estímulo ao sistema imune

O trato gastrointestinal das aves é de fundamental importância no desenvolvimento da imunidade geral inespecífica. Diferentemente de todas as outras espécies animais, as aves não apresentam linfonodos, seus órgãos linfoides, espalhados ao longo do trato gastrointestinal, são as placas de Peyer, tonsilas cecais, e Bolsa de Fabricius. Esses tecidos captam antígenos disponibilizados no trato digestório, os quais estimulam as células de defesa, para o desenvolvimento de imunidade geral e inespecífica (MACARI et al., 2008).

Pesquisas realizadas “*in vitro*” e de modelos animais e humanos mostram que os probióticos podem estimular tanto a resposta imune não-específica quanto à específica. Sugere-se que esses efeitos sejam mediados por uma ativação dos macrófagos, por um aumento nos níveis de citocinas, da atividade das células destruidoras naturais (NK – “natural killer”) e os níveis de imunoglobulinas, sem o desencadeamento de uma resposta inflamatória prejudicial (SAAD, 2006).

As bactérias probióticas têm capacidade de respostas imunes sistêmicas, aumentando o número e atividade de células fagocíticas do hospedeiro. As aves possuem acúmulos de tecido linfático espalhado ao longo do trato intestinal que são as placas de Peyer, tonsilas cecais, além da Bolsa de Fabrício. Esses tecidos captam antígenos disponibilizados no trato digestório, que estimulam as células B precursoras de IgA e, células T colaboradoras das placas de Peyer, para desenvolvimento de uma imunidade geral e inespecífica. Pelo estímulo imunológico da mucosa, ocorre produção de anticorpos tipo IgA, que bloqueiam os receptores e

reduzem o número de bactérias patogênicas na luz intestinal. Além disso, ativam macrófagos e estimulam a proliferação de células T (AJUWON, 2015).

Também tem sido demonstrado que os probióticos favorecem a atividade fagocítica inespecífica dos macrófagos alveolares, sugerindo uma ação sistêmica por secreção de mediadores que estimulariam o sistema imune (CROSS, 2002).

Neste contexto, Menten (2001) observou que alguns gêneros de bactérias intestinais, como os *Lactobacillus* e as *Bifidobacterium*, estão diretamente relacionados com o estímulo da resposta imune, por meio do aumento da produção de anticorpos, ativação de macrófagos, proliferação de células T e produção de interferon. De acordo com Delcenserie et al., (2008), os lactobacilos também podem modular a resposta imune intestinal através do estímulo de secreção de citocinas determinadas por células epiteliais.

Os estudos que avaliam a relação entre o consumo de probióticos e o sistema imunológico sugerem que a ingestão de certa quantidade de cepas específicas de bactérias ácido-lácticas é capaz de alcançar respostas imunes (GILL, 2004; RUEMMELE, 2009; AJUWON, 2015). Segundo a World Gastroenterology Organization (WGO) os efeitos já descritos só podem ser atribuídos às cepas analisadas em cada estudo, e não podem ser generalizadas para toda a espécie nem para todo o grupo de bactérias ácido-lácticas ou outros probióticos.

Portanto, considerando que o intestino representa o maior órgão linfóide do organismo e importante local de reações imunológicas, vale ressaltar as ações benéficas que a microrobiota bacteriana do trato gastrointestinal pode exercer ao promover funções antibacterianas, imunomoduladoras e metabólicas/nutricionais (BRANDT, 2006). Considerando um desafio ao organismo por micro-organismos patogênicos, o sistema imunológico tem papel fundamental na defesa do organismo, e para tanto, o uso de probióticos, pode atuar como uma das formas de fortalecer o sistema imunológico e prevenir doenças infecciosas.

2.3.3 Competição por nutrientes

A competição por nutrientes no lúmen intestinal acontece entre as bactérias intestinais por nutrientes específicos. As bactérias dos probióticos se nutrem de ingredientes que foram parcialmente degradados pelas enzimas digestivas ou que

foram intencionalmente adicionadas à dieta como prebiótico (ADHIKARI & KIM, 2017).

Segundo Silva et al., (2000) a carência de nutrientes disponíveis é um fator limitante na manutenção das bactérias patogênicas, apresentando redução considerável de algumas espécies de bactérias na microbiota intestinal justamente pela deficiência nutricional.

Os probióticos influenciam na permeabilidade do epitélio intestinal, proporcionando maior eficiência na digestão e absorção de nutrientes (ROTH, 2000). De acordo com Guillot (2000) os probióticos além de protegerem o epitélio intestinal, evitam que os patógenos utilizem aminoácidos, minerais e carboidratos para fermentação e produção de toxinas, contribuindo para a eficiência alimentar e o desempenho dos animais.

2.3.4 Produção de substâncias antibacterianas e enzimas

De acordo com Petri (2000), as bactérias probióticas podem produzir e liberar compostos como as bacteriocinas, ácidos orgânicos e peróxido de hidrogênio que possuem ação bacteriana principalmente em relação aos microrganismos patogênicos. Os ácidos orgânicos, produzidos pelas bactérias lácticas são propiônico, acético, butírico e láctico, além de acetaldeído, peróxido de hidrogênio, diacetil, dióxido de carbono e aminas, que favorecem os probióticos na competição pelos sítios de fixação na mucosa intestinal (FLEMMING, 2005).

Utyama (2004) e Flemming (2005) fazem referência às bacteriocinas como sendo compostos proteicos com ação inibitória ou destrutiva contra uma espécie ou cepa específica de bactéria. Silva (2000) cita que as bacteriocinas funcionam como antibióticos com ação local, inibindo o crescimento de patógenos intestinais e que têm ausência de letalidade para as células produtoras.

As bacteriocinas produzidas pelos microrganismos acidoláticos são a nicina, diplococcina, lactocidina, bulgaricina e reuterina, essas substâncias apresentam atividade inibitória tanto para bactérias Gram-negativas como para Gram-positivas, dentre elas podem ser citadas a *Salmonella sp*, *Escherichia coli* e *Staphylococcus sp* (FERREIRA et al., 2006).

Petri (2000) cita que as bactérias probióticas além da barreira física e efeito biológico, proporcionam também efeito químico, pois produzem ácidos orgânicos

como láctico e propiônico, os quais levam a uma redução do pH do ambiente intestinal, com uma consequente inibição de bactérias patogênicas, principalmente em relação ao *Campylobacter*, *Clostridium* e *Salmonelas*.

Segundo Dobrogosz et al., (1991), as bactérias probióticas também protegem os vilos e as superfícies absortivas contra toxinas irritantes produzidas pelos microrganismos patogênicos, permitindo, assim, a regeneração da mucosa intestinal lesada. Algumas bactérias secretam enzimas como a β – glucoronidase e hidrolases de sais biliares que liberam compostos como ácidos biliares com ação inibitória sobre as outras bactérias (FULLER, 1992; JIM et al., 2000; OGAWA et al., 2001).

2.3.5 Microrganismos probióticos inativados

A capacidade de adesão dos microrganismos probióticos na mucosa intestinal é fundamental para que os efeitos probióticos sejam observados, sendo considerada um pré-requisito para a colonização, atividade antagônica contra enteropatógenos e modulação do sistema imune. No entanto, tratamentos físicos destinados a inativação desses microrganismos podem alterar a capacidade de adesão, podendo afetar a eficácia dos probióticos, principalmente as propriedades imunomoduladoras (KATO et al., 1994). Isso ocorre possivelmente pelas mudanças no envoltório celular das cepas inativadas e não ao fato de que elas estão mortas (OUWEHAND et al., 2000).

Quando o probiótico é inativado por calor ou irradiação gama ocorre redução no número de cepas aderidas, entretanto o *Propionibacterium freudenreichii*, quando é inativado pelo calor pode ter sua capacidade de adesão aumentada, o mesmo acontece com o *Lactobacillus casei Shirota* quando inativado por irradiação gama (OUWEHAND et al., 2000).

Bernardeau et al. (2008) ao estudarem o potencial de adesão “*in vitro*” de cepas de *Lactobacillus rhamnosus* e *Lactobacillus farciminis* inativadas pelo calor observaram que estes possuíam capacidade de aderir ao modelo de mucosa estudado. Os autores relataram também que os lactobacilos inativados podem melhorar a resposta dos animais à pressão de patógenos entéricos, criando um efeito de barreira e estimulando respostas imunológicas devido à estabilidade das cepas inativadas e a preservação das estruturas da parede celular.

2.4 INTEGRIDADE INTESTINAL

O sucesso na rentabilidade e desempenho das aves depende da obtenção adequada de nutrientes para manutenção do organismo e ganho em produção. Assim, a integridade das células que compõe a mucosa intestinal é de extrema relevância, pois são as principais responsáveis na absorção dos nutrientes, impedindo a fixação e multiplicação de agentes patogênicos na mucosa intestinal, prevenindo a instalação de doenças entéricas e, conseqüentemente, melhorando o desempenho, diminuindo a mortalidade e a contaminação dos produtos de origem animal (EDENS, 2003).

A qualidade intestinal refere-se mais especificamente ao equilíbrio dinâmico entre a mucosa intestinal e o conteúdo luminal, e se as características estruturais e funcionais da mucosa estão preservadas ou mantidas dentro do padrão esperado para o tipo, espécie e linhagem de ave e para uma determinada fase do seu ciclo vital (ITO et al., 2007).

Nas aves, o desenvolvimento do trato gastrointestinal se inicia nas primeiras horas de vida do embrião e aos 18 dias de incubação a proporção do peso do intestino delgado do embrião é maior que a proporção do peso corporal do mesmo (UNI et al., 1998). No momento da eclosão, o trato gastrointestinal já está anatomicamente formado, mais sua capacidade funcional ainda está em maturação e grandes alterações morfológicas e fisiológicas como a proliferação, diferenciação, maturação celular, apoptose e na estrutura da mucosa do intestino delgado ocorrem nesses primeiros dias após a eclosão (DIBNER e RICHARDS, 2004).

O intestino das aves é composto por duas partes principais o intestino delgado, que é constituído por duodeno, jejuno e íleo, que apresentam diferenças funcionais e morfológicas e o intestino grosso que compreende os cecos, cólon e reto. A maior parte do aproveitamento dos nutrientes ocorre no intestino delgado. Contudo, parte da digestão ocorre na superfície das vilosidades, que são formadas por células da mucosa, os enterócitos, e pela ação das enzimas de membrana (BOARO, 2009).

A mucosa intestinal é recoberta por diversas vilosidades ou vilos, proporcionando aumento na superfície de digestão e absorção intestinal (Boaro, 2009). A manutenção do tamanho dos vilos garante a manutenção da capacidade digestiva e de absorção intestinal (PELICANO et al., 2003).

Os vilos são constituídos por três tipos de células funcionalmente distintas: os enterócitos, as células caliciformes e as células enteroendocrinas (EROSCHENKO, 2008), e são reguladas por uma variedade de fatores, incluindo nutrientes no lúmen intestinal, hormônios gastrointestinais tróficos, fatores de crescimento e citocinas (MARSHMAN et al., 2002).

Os enterócitos são responsáveis pelo transporte dos nutrientes a partir do lúmen. Estas células migram da cripta para o ápice do vilo (BOARO, 2009). Os enterócitos tem uma vida em torno de dois dias e trata-se do tecido de maior taxa de renovação celular, conforme a necessidade do intestino para desempenhar suas funções naquele momento e da idade das aves (BOLELI et al., 2008).

Já as células caliciformes são secretoras de glicoproteínas, cuja função é proteger o epitélio da ação de enzimas digestivas e efeitos abrasivos da digesta (MAIORKA et al., 2003). As células enteroendócrinas estão distribuídas pelo epitélio dos vilos, são produtoras de hormônios peptídicos (gastrina, secretina e colecistoquinina) e monoaminas biogênicas, substâncias essas que participam na regulação da digestão, absorção e utilização dos nutrientes (MAIORKA, 2003; EROSKCHENKO, 2008).

No desenvolvimento da mucosa intestinal ocorrem eventos citológicos sendo eles a renovação celular (proliferação e diferenciação) e a perda de células por descamação, que ocorre naturalmente no ápice dos vilos (UNI et al., 1998), principalmente frente a um desafio ou agressão a mucosa intestinal. O equilíbrio entre esses processos recebe o nome de *turnover*, esse processo aumenta com a idade, levando aproximadamente 72 horas em pintos de quatro dias e 96 horas em aves mais velhas (SMITH e BEAL, 2008).

Considerando o ciclo de criação das aves, esse tempo de renovação das células intestinais representa uma grande parcela de tempo dentro da criação, assim, o controle de agentes patogênicos ou fatores que possam afetar a integridade intestinal são de extrema importância para o máximo aproveitamento dos nutrientes e consequentemente maior desempenho de frangos de corte.

Os probióticos contribuem para as características produtivas dos animais, aprimorando as condições intestinais para os processos de digestão e absorção dos nutrientes (PELICANO et al., 2004). Portanto, para uma boa eficiência, estes devem ser administrados já nos primeiros dias de vida para que tenham capacidade de

modular benéficamente a microbiota intestinal, por meio dos seus mecanismos de ação (LORENÇON et al., 2007).

Para Fernandes et al., (2000), a suplementação de probiótico na dieta de não ruminantes pode ser preconizada a fim de auxiliar na manutenção, estabilidade, restabelecimento e permanência da microbiota intestinal não patogênica em neonatos após o desequilíbrio ocasionado por estresse ou uso de antibióticos. Segundo o NRC (1998), a espécie de microrganismo, o histórico de doenças dos animais, o “status” sanitário da granja e a temperatura das instalações podem interferir na ação dos melhoradores de desempenho, inclusive dos probióticos.

2.5 MICROBIOTA INTESTINAL

Em 1885, Louis Pasteur abordou sobre a importância das bactérias, postulando que a vida na ausência de micróbios seria impossível. Isto não se confirmou na experiência com os animais “germfree” (criados em condições especiais e isentos de bactérias). Estes animais sobrevivem, porém os prejuízos são significativos para o desenvolvimento imunitário e desempenho zootécnico (BOURLIOUX et al., 2003).

A microbiota intestinal possui um mecanismo metabolicamente ativo, sujeito a variação na composição e no número de espécies presentes. As inúmeras espécies de bactérias formam um sistema complexo e dinâmico. Aquelas que colonizam o trato intestinal no início, tendem a persistir ao longo da vida da ave, passando a compor a microbiota intestinal. A formação desta microbiota se dá imediatamente após o nascimento das aves e aumenta durante as primeiras semanas de vida, até se tornar uma população predominantemente de bactérias anaeróbicas (SAAVEDRA et al., 2002).

Os principais gêneros identificados são: *Bacillus spp.*, *Bifidobacterium spp.*, *Clostridium spp.*, *Enterobacter sp.* e *Lactobacillus spp.*, *Fusobacterium spp.*, *Escherichia spp.*, *Enterococcus spp.* e *Streptococcus spp.* No entanto, Apajalahti et al., (2004) utilizando técnicas de DNA microbiano demonstraram que 90% das bactérias encontradas no trato gastrointestinal das aves são desconhecidas. Com relação a densidade, trabalhos mostram que o número de bactérias pode alcançar 10^{11} e 10^9 por grama de conteúdo cecal e ileal, respectivamente, durante os primeiros

três dias pós eclosão, permanecendo relativamente estável nos próximos 30 dias (APAJALAHTI et al., 2004).

Kozasa (1989) e Maruta (1993) descreveram as ações benéficas da microbiota intestinal, destacando sua importância tanto na digestão e absorção dos alimentos ingeridos pelo hospedeiro, como no metabolismo dos carboidratos, proteínas, minerais e na síntese de vitaminas.

Uma microbiota equilibrada traz benefícios que proporcionam a inibição do crescimento de bactérias patogênicas, o estímulo ao sistema imune (influenciando o número, distribuição e grau de ativação da população de células de defesa do intestino), síntese de vitaminas (B, B9, K e E), redução da produção de gases e melhor digestão e absorção dos nutrientes.

A microbiota normal compete por pontos de ligação na mucosa intestinal e produz ácidos orgânicos e bacteriocinas, com o objetivo de promover resistência a colonização por patógenos (OVIEDO-RONDÓN, 2009).

No entanto, variações extremas que resultam em uma excessiva oferta de substrato ou supressão das bactérias benéficas podem apresentar efeitos prejudiciais ao hospedeiro, como diarreia, infecções, distúrbios hepáticos, carcinogênese, putrefação intestinal, redução da digestão e absorção de nutrientes (WELTZIEN, 2003).

Mudanças na dieta e no manejo dos animais causam alterações drásticas na microbiota intestinal das aves o que leva, conseqüentemente, a mudanças na capacidade do animal de digerir e absorver nutrientes (APAJALAHTI et al., 2004). A compreensão e monitoramento da dinâmica microbiana do intestino são importantes para o desenvolvimento de métodos alternativos para modular as comunidades microbianas em situações debilitantes de estresse e a doença, tal como durante uma infecção causada por coccidiose em aves (OVIEDO-RONDÓN, 2009).

Os principais fatores conhecidos que afetam a composição da microbiota no trato gastrointestinal são: temperatura, pH, concentração de oxigênio, ácidos biliares, *turnover* celular, uréia, mucina, dieta, células fagocíticas, potencial de oxidação e redução, drogas e antibióticos (SAVAGE, 1980), toxinas, anticorpos e presença de outras bactérias.

2.6 *BACILLUS SUBTILES*

De acordo com Gonzales et al., (2001), o Food and Drug Administration (FDA), dos Estados Unidos, lista mais de quarenta microrganismos que podem ser utilizados na produção de probióticos. Os mais comuns são cepas de bactérias Gram positivas dos tipos *Lactobacillus* sp. (*L. acidophilus*, *L. farciminis*, *L. rhammnosus*, *L. reuteri* e *L. salivarius*), *Streptococcus* sp (*S. faecium* e *S. mundtii*) e *Bacillus* sp (*B. cereus*, *B. licheniformis*, *B. subtilis* e *B. toyoi*), além das leveduras, como as cepas de *Saccharomyces cerevisiae*.

A microbiota intestinal tem grande influência sobre o desempenho e desenvolvimento do trato gastrointestinal de frangos de corte, visto que está diretamente ligada à utilização adequada dos nutrientes e por isso pode exercer efeito sobre a bioquímica, fisiologia, imunologia e a resistência do hospedeiro (TANNOCK, 1998).

É considerada um ecossistema complexo, formado por aproximadamente 10^{11} UFC/g de conteúdo intestinal, de um incontável número de espécies distintas de bactérias (ITO et al., 2004)).

A população da microbiota intestinal aumenta logo após a eclosão, e no momento da chegada dos pintos à granja de criação, o trato intestinal já pode estar completamente colonizado (PEDROSO et al., 2005). Entretanto, a composição da microbiota pode ser afetada pelas bactérias já presentes no intestino, pelos microrganismos naturais do ambiente (YIN et al., 2010), ou por microrganismos provenientes dos adultos, principalmente da mãe. Por outro lado, na avicultura atual, há restrição do contato da progênie com a matriz e isso reflete em pouca diversidade da microbiota em aves recém - eclodidas, favorecendo a colonização por patógenos entéricos maléficos (LORENÇON et al., 2007).

As bactérias indesejáveis ou patogênicas no trato gastrointestinal são responsáveis pela produção de metabólitos prejudiciais que afetam a dinâmica intestinal, diminuindo, por exemplo, a atividade de enzimas digestivas, como a lipase, e a digestão e absorção de lipídeos ou vitaminas lipossolúveis importantes no desenvolvimento animal (OVIEDO-RONDÓN, 2009). Além disso, o trato gastrointestinal pode conter bactérias patogênicas representadas principalmente pela *E. coli* e *Salmonela*, que por serem bactérias gram-negativas apresentam na

constituição da parede celular endotoxinas, que são liberadas com a morte bacteriana, levando a distúrbios intestinais (GABRIEL et al., 2006).

Portanto, mudanças na dieta e no manejo dos animais causam alterações drásticas na microbiota intestinal das aves o que leva, conseqüentemente, a mudanças na capacidade do animal de digerir e absorver nutrientes (APAJALAHTI et al., 2004).

O intestino da ave pode ser habitado por diversas bactérias patogênicas que afetam o desempenho animal. Segundo Cressman et al., (2010), a cama pode influenciar diretamente a formação da microbiota intestinal. Esses autores observaram que camas novas continham mais bactérias de origem ambiental e as aves criadas nessas camas abrigaram as mesmas bactérias. Já camas reutilizadas continham mais bactérias de origem intestinal e os pintos criados nessa cama foram amplamente colonizados por essas bactérias. Concluíram, portanto, que aves criadas em condições de desafio sanitário devem ter capacidade de defesa perante as bactérias presentes na cama para manter um bom desempenho produtivo.

De acordo com Santos et al., (2012) o entendimento da microbiota também permite o controle sobre as mudanças da microbiota intestinal, adequação do manejo e incluir de maneira racional aditivos que possam alterar e regular a ecologia microbiana, com o intuito de melhorar o desempenho zootécnico e diminuir alguns efeitos de estresse ou os malefícios das doenças, além de elucidar os mecanismos de infecções e resistência de microrganismos a antibióticos melhoradores de desempenho.

Uma das formas de entender essa relação é caracterizar corretamente seus membros para posteriormente elucidar sua função nesse meio. Técnicas moleculares vêm se tornando as principais ferramentas utilizadas para esse fim, principalmente por meio da análise filogenética dos ácidos nucleicos, isto porque o DNA contém todas as informações necessárias para a identificação de um microrganismo e permite entender como funcionam os mecanismos de adaptação e resposta. Para grande parte das técnicas moleculares, a região mais amplamente utilizada é a 16S da subunidade ribossomal do DNA, pois está entre as macromoléculas mais conservadas em todos os sistemas vivos, já que possui uma limitação funcional, e não apresenta transferência lateral entre espécies, além de conter tamanho suficiente (cerca de 1500 pares de bases) para realizar análises filogenéticas (AMANN et al., 1995).

REFERÊNCIAS

- ABPA. Associação Brasileira de Proteína Animal. Disponível em: <<http://abpabr.com.br/noticia/producao-de-carne-de-frango-totaliza-13146-milhoes-de-toneladas-em-2015-1545>> Acesso em 20 de dezembro de 2017.
- ADHIKARI, P.A., KIM, W.K. **Overview of prebiotics and probiotics: focus on performance, gut health and immunity** – a review. *Ann. Anim. Sci.*, Vol. 17, No. 4; p. 949–966, 2017.
- AJUWON, K.M. **Toward a better understanding of mechanisms of probiotics and prebiotics action in poultry species**. *J. Appl. Poult. Res.*, 25: 277–283, 2015.
- ALBUQUERQUE, R. Antimicrobianos como promotores do crescimento. In: PALERMO NETO, J., SPINOSA, H. S., GORNIK, S. L. **Farmacologia aplicada a avicultura**. Rio de Janeiro: Roca, 2005.
- AMANN, R.L.; LUDWIG, W.; SCHLEIFER, K. Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation. **Microbiological reviews**, v.59, n.1, p.142-169, 1995.
- APAJALAHTI, J.H.A.; KETTUNEN, A.; GRAHAM, H. Characteristics of the gastrointestinal microbial communities, with special reference to the chicken. **World's Poultry Science Journal**, v.60, n.2, p.223-232, 2004.
- ARAÚJO, J. A.; SILVA, J. H. V.; AMÂNCIO, A.L.L.; LIMA, M.R.; LIMA, C.B. Uso de aditivos na alimentação de aves. *Acta Veterinaria Brasília*, v.1, n.3, p.69-77, 2007.
- BERNARDEAU, M.; GUEGUEN, M.; VERNOUX, J.P. In vitro evaluation of probiotic potential of two heat-inactivated Lactobacilli cells for animal feed supplementation. *Proceedings of the 20th IPVS Congress*, Durban, South Africa, 2008.
- BETERCHINI, A.G. **Nutrição de monogástricos**. Editora UFLA. Lavras – MG, 2012.
- BOARO, M. **Morfofisiologia do trato intestinal**. In: Conferência apinco de ciência e tecnologia avícolas, p.262-274, Facta: Campinas, 2009.
- BOLELI, I. C; MAIORKA, A. MAKARI, M.. Estrutura funcional do trato digestório. In: Marcos Macari, Renato Luis Furlan, Elisabeth Gonzales..(Org.). *Fisiologia aviária – Aplicada a Frangos de Corte*. **Fisiologia Aviária – Aplicada a Frangos de Corte**. 2 ed. Jaboticabal: Fnap, v., p. 75-98, 2008.
- BOURLLOUX, P.; KOLETZCO, B.; GUARNER, F.; BRAESCO, V. The intestine and its microbiota are partners for the protection of the host: report on the Danone Symposium: “The Intelligent Intestine”, held in Paris, June 14, 2002. **American Journal Clinical Nutrition**; 78:675-83, 2003.
- BRANDT, K. G.; SAMPAIO M.; MIUKI, C. J. **Importância da microbiota intestinal**. *Pediatria (São Paulo)*, v. 28 (2), p. 117-127, 2006.

BROCK, T. D.; MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M e PARKER, J. Biology of microorganisms. 7a ed, Prendice-Hall, New Jersey, P.909, 1994.

BRUGALLI, I. Alimentação alternativa: a utilização de fitoterápicos ou nutracêuticos como moduladores da imunidade e desempenho animal. **Anais do Simposio sobre Manejo e Nutrição de Aves e Suínos**; 2003; Campinas, São Paulo. Brasil. Campinas: CBNA; p.167-182, 2003.

BUTAYE, P.; DEVRIESE, L.A.; HAESBROUCK, F. Antimicrobial growth promoters used in animal feed: Effects of less well know antibiotics on Gram positive bacteria. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 16, n.2, p.175-188, 2003.

CHANDER, Y.; GUPTA, S.C.; GOYAL, S.M.; KUMAR, K. Antibiotics: Has the magic gone? **Journal Science Food Agriculture**, v.87, p.739-742, 2007.

CHEN CC, WALKER WA. **Probiotics and prebiotics**: role in clinical disease states. Adv Pediatr. 52(1):77-113, 2005.

CONSEJO NACIONAL DE INVESTIGACIÓN (NRC, EUA). Crean resistencia los antibióticos? **Industria Avícola**, v.46, n.3, p. 42 - 46, 1999.

COUNCIL OF THE EUROPEAN UNION. Council regulation on the authorization of the additive avilamycin in feedingst. Disponível em: [http://register.consi-](http://register.consi-Alternativas 36) **Alternativas 36 ao uso de antibióticos como promotores de crescimento para frangos de corte.** Acesso em 28 de dezembro de 2017.

CRESSMAN, M.D.; YU, Z.; NELSON, M.C.; MOELLER, S. J.; LILBURN, M. S.; ZERBY, H. N. Interrelations between the Microbiotas in the Litter and in the Intestines of Commercial Broiler Chickens. **Applied and Environmental Microbiology**. Columbus, v. 76, n. 19, p. 6572–6582, 2010.

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

DELCENSERIE, V.; MARTEL, D.; LAMOUREUX, M.; AMIOT, J.; BOUTIN, Y.; ROY, D. Immunomodulatory effects of probiotics in the intestinal tract. **Current Issues in Molecular Biology**, v.10, p.37–54, 2008.

DIBNER, J. J.; RICHARDS, J. D. The Digestive System: Challenges and Opportunities. **Journal of Applied Poultry Research**, v.13, n,1, p.86–93, 2004.

DIBNER, J. J.; RICHARDS, J. D. Antibiotic growth promoters in agriculture: history and mode of action. **Poultry Science**, v. 84, n.4, p.634-643, 2005.

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

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

ENGLERT, S. I. **Avicultura**: tudo sobre raças, manejo e nutrição. São Paulo: Agropecuária, 1998.

EROSCHENKO, V. Atlas of histology: with functional correlations. 11.ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, p.532, 2008.

ERPELDING, D. L. Promotores de crescimento: ciência vs política. In: Simpósio Internacional Sobre Nutrição de Aves, Campinas, FACTA, 31 de agosto a 01 de setembro de 1999. p.187-197.

FERREIRA, A.P.; ASTOLFI-FERREIRA, C.S. Medidas inespecíficas para o controle bacteriano. In: SIMPÓSIO BRASIL SUL DE AVICULTURA, Chapecó, 2006, **Anais...** Chapecó, p.56-66, 2006.

FAO-FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS; WHO WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Working Group Report on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food** London, Ontario, Canada, 2002.

FERNANDES, P.C.C.; LADEIRA, I.Q.; FERREIRA, C.L.L.F.; et al. Viabilidade do uso de probióticos na alimentação de monogástricos. **Caderno Técnico de Veterinária e Zootecnia**, Minas Gerais, n.31, p 53-71, 2000.

FLEMMING, J.S.; FREITAS, R.J.S. Avaliação de efeito de prebiótico (MOS), probióticos (*Bacillus lecheniformes* e *Bacillus subtilis*) e promotor de crescimento na alimentação de frangos de corte. **Archives of Veterinary Science**, Curitiba, v.10, n.2, p.41-47, 2005.

FULLER, R. **Probiotics: The Scientific Basis**. 1a ed. London: Chapman and Hall, p. 398, 1992.

FULLER, R. Probiotics in man and animals. **Journal of Applied Bacteriology**, v.66, n.5, p.365-378, 1989.

GABRIEL, I.; LESSIRE, M.; MALLET, S.; GUILLOT, J. F. Microbiota of the digestive tract: critical factors and consequences for poultry. **World's Poultry Science Journal**, v. 62, p. 499-511, 2006.

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. **Efeito de probióticos na translocação de *Salmonella enteritidis* e na eficiência alimentar e frangos de corte**, 80f. Dissertação (Mestrado e Veterinária) – Programa de Pós-Graduação em Veterinária, universidade Federal de Pelotas, 2004.

GONZALES, E.; SARTORI, J.R. **Aditivos para aves e suínos**. Botucatu: DPEA/Unesp, P. 69 (Apostila), 2001.

GUILLOT, J.F. The pros and cons of probiotics – make probiotics work poultry. **Feed Mix**, v.23, n.8, p.28-30, 2000.

- 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.
- HAVENAAR, R.; BRINK, B.T.; HUIS INT'VELD, J.H.J. Selection of strains for probiotic use. In: FULLER, R. **Probiotics: the scientific basis**. London : Chapman e Hall, P. 209-224, 1992.
- HOLZAPFEL, W.H.; SCHILLINGER, U. Introduction to pre and probiotics. **Food Research International**, Amsterdam, v.35, n.2-3, p.109-116, 2002.
- ISOLAURI, E, KAILA, M, ARVOLA, T, MAJAMAA, H, RANTALA, I, VIRTANEN, E, ARVILOMMI, H. Diet during rotavirus enteritis affects jejunal permeability to macromolecules in suckling rats. **Pediatr Res**. Jun;33(6):548–553, 1993.
- ITO, N.M.K.; MIYAJI, C.; OKABAYASHI, S.M. Saúde gastrointestinal, manejo e medidas para controlar enfermidades gastrointestinais. In: MENDES, A.A.; NÄÄS, I.A.; MACARI, M. **Produção de Frangos de Corte**. Campinas: FACTA, p. 356, 2004.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, **Estatística da Produção Pecuária**, p. 18, 2017.
- ITO, N.M.K.; MIYAJI, C.I.; OKABAYASHI, S.M. Saúde intestinal de frangos de corte. **Circular técnico**, 2007.
- JIN, L. Z.;MARQUARDT, R. R.;BAIDOO, S. K.Inhibition of enterotoxigenic *Escherichia coli* K88, K99 and 987P by the *Lactobacillus isolates* from porcine intestine. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 80, n. 5, p. 619-624, 2000.
- KATO, I.; ENDO, K.; YOKOKURA, T. Effects of oral administration of *Lactobacillus casei* on antitumor responses induced by tumor resection in mice. **International Journal of Immunopharmacology**, v. 16, p. 29-, 36, 1994.
- KAUR, I.P. et al. Probiotics: potential farmacêutica applications. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.15, p.1–9, 2002.
- KHACHATOURIANS, G. G. **Agricultural use of antibiotics and the evolution and transfer of antibiotic-resistant bacteria**. CMAJ.159:1129–1136,1998.
- KHAN, R.NAZ, S. The applications of probiotics in poultry production. **World's Poultry Science Journal**, v. 69, n. 03, p. 621-632, 2013.
- KOZASA, M. Probiotics for animal in Japan. **Revisal Scientific Technology**, v.8, n.2, p.517- 531, 1989.
- KORB, A.; NAZARENO, E.R.; COSTA, L.D.; NOGUEIRA, K.S.; DALSENTER, P.R.; TUON, F.F.V.; POMBA, M.C. Tipagem molecular e resistência aos antimicrobianos em isolados de *Escherichia coli* de frangos de corte e de tratadores na Região Metropolitana de Curitiba, Paraná. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.35, n.3, p.258-264, 2015.

LANCINI, J. B. **Fatores exógenos na função gastrointestinal: aditivos.** In: FUNDAÇÃO APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA, 1994.

LANGHOUT, P. Alternativas ao uso de quimioterápicos na dieta de aves: a visão da indústria e recentes avanços. In: CONFERENCIA APINCO DE CIENCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2005, Santos, SP. **Anais...** Santos: Apinco, p.21-33, 2005.

LILLY, D.M.; STILLWEL, R.H. Probiotics. Growth promoting factors produced by micro-organisms. **Science**, Washington, v.147, n.3659, p.747–748, 1965.

LIU, X., YAN, H., LV L., XU Q., YIN C., ZHANG, K., WANG, P., HU J. Growth performance and meat quality of broiler chickens supplemented with *Bacillus licheniformis* in drinking water. **Asian-Australas. J. Anim. Sci.**, 25: 682–689, 2012.

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

MACARI, M. A.; MAIORCA, A. **Aspectos Fisiológicos da Qualidade Intestinal e Produtividade em Frangos de Corte.** Departamento de Morfologia e Fisiologia Anula, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Campus Jaboticabal, 2002.

MACARI, M.; FURLAN, R.L. Probióticos. In: CONFERÊNCIA APINCO, Santos, 2005. **Anais...** Santos: FACTA, p 53-68, 2005.

MACARI, M.; MENDES, A.A.; MENTEN, J.F.; NASS, I.A. **Produção de frangos de corte.** IN: MACARI, M.; LUNEDO R.; PEDROSO, A.A. Microbiota intestinal das aves. Aves domésticas – produção de frangos de corte. 2. ed. Campinas: Facta, 2014. p. 299-320, 2008.

MACK et al., 1999. FALTA MACK, S.; BERCOVICI, D.; DE GROOTE, G. et al. Ideal amino acid profile and dietary lysine specification for broiler chickens of 20 to 40 days of age. **British Poultry Science**, v.40, p.257-265, 1999.

MAIORKA, A.; SANTIN, E.; DAHLKE, F.; BOLELI, I.C.; FURLAN, R.L.; MACARI, M. Posthatching water and feed deprivation affect the gastrointestinal tract and intestinal mucosa development of broiler chicks. **Journal of Applied Poultry Research**, v.12, n.4, p.483-492, 2003.

MAIORKA, A. Impacto da saúde intestinal na produtividade avícola. **Anais do V Simpósio Brasil Sul de Avicultura.** Chapecó, Santa Catarina, Brasil, 26–41, 2004.

MARSHMAN, E.; BOOTH, C.; POTTEN, C.S. The intestinal epithelial stem cell. **Bioessays, Cambridge**, v. 24, n. 1, p. 91–98, 2002.

MARUTA, K. Probióticos e seus benefícios. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 1993, Santos. **Anais ...** Santos: Associação Brasileira de Produtores de Pintos de Corte, p. 203-219, 1993.

MENTEN, J.F.M. Aditivos alternativos na produção de aves: probióticos e prebióticos. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 2001, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz, p 141-157, 2001.

MENTEN, J.F.M. Probióticos, prebióticos e aditivos fitogênicos na nutrição de aves. In: SIMPÓSIO SOBRE INGREDIENTES NA ALIMENTAÇÃO ANIMAL, 2., 2002. Uberlândia, Brasil. **Anais...** Uberlândia, p. 251-276, 2002.

MISHRA, P.K. Phytobiotics: an alternative to antibiotic growth promoters. **Artigos Técnicos**. Disponível em: http://en.engormix.com/MA_poultryindustry/nutrition/articles/phytobiotics-alternative-antibiotics-growth-t3185/141-p0.htm, 2014. Acessada em: 30/12/2017.

NEPOMUCENO, E.S.; ANDREATTI, R.L.F. Probióticos e prebióticos na avicultura. In: II SIMPÓSIO DE SANIDADE AVÍCOLA, 2000, Santa Maria, RS. **Anais...** Concórdia, SC : EMBRAPA SUÍNOS E AVES, v.1, p.45-55, 2000.

OECD-FAO. 2015. **OECD-FAO Agricultural Outlook 2015**, OECD Publishing, Paris. doi: 10.1787/agr_outlook-2015-en.

OGAWA, M.; SHIMIZU, K.; NOMOTO, K. Inhibition of in vitro growth of Shiga toxin producing *Escherichia coli* O157:H7 by probiotic *Lactibacillus strains* due to production of lactic acid. **International Journal of Food Microbiology**, v. 68, n.1-2, p. 135-140, 2001.

O'TOOLE, P.W.; COONEY, J.C. Probiotic Bacteria Influence the Composition and Function of the Intestinal Microbiota. **Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases**, 9p, 2008.

OUWEHAND, A.C. et al. Probiotics: mechanisms and established effects. **International Dairy Journal**, Amsterdam, v.9, n.1, p.43-52, 1999.

OUWEHAND, A.C.; TOLKKO, S.; KULMALA, J.; SALMINE, S., SALMINE, E. Adhesion of inactivated probiótico strains to intestinal mucus. **Letters in Applied Microbiology**, Oxford, v.31, p.82-86, 2000.

OVIDEIRO-RONDÓN, E.O. Molecular methods to evaluate effects of feed additives and nutrients in poultry gut microflora. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, p.209-225, (supl. Especial), 2009.

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

PEDROSO, A. A. Microbiota do trato digestório: transição do embrião ao abate. In: Conferência Apinco Facta, **Anais...** Santos, 2011, p. 123- 130.

PEDROSO, A.A; MENTEN, J.F.M.; LAMBAIS, M.R. The structure of bacterial community in the intestine of newly hatched chicks. **The Journal of Applied Poultry Research**, v.14, n.2, P.232-237, 2005.

PELICANO, E.R.L.; SOUZA, P.A.; SOUZA, H.B. 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.

PELICANO, E.R.L.; SOUZA, P.A.; SOUZA, H.B.A.; OBA, A.; NORKUS, E.A.; KODAWARA, L.M.; LIMA, T.M.A. Effect of different probiotics on broiler carcass and meat quality. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 5, n.3, p. 207-214, 2003.

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. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, Campinas, v.6, n.4, p.231-236, 2004.

PETRI, R. Uso de exclusão competitiva na avicultura no Brasil. II SIMPÓSIO DE SANIDADE AVÍCOLA, 2000, Santa Maria-RS, **Anais...** 2000.

ROSTAGNO, M. H. 2011. Impacto da restrição de antimicrobianos na indústria avícola. **Artigos Técnicos**. [on line]. Disponível em: <http://pt.engormix.com/MA/avicultura/saude/artigos/impacto-restricaoantimicrobianos-industria-t454/165-p0.htm>. Acessada em: 03/01/2018.

ROTH, L. The battle of the bugs the direct fed microbial concept. **Pig Progress**, v.16, p 12-15, 2000.

RUEMMELE, F. M.; BIER, D.; MARTEAU, P.; RECHEKEMMER, G.; BOURDET – SICARD R.; WALKER, W.A.; GOULET, O. Clinical evidence for immunomodulatory effects of probiotic bacteria. *J. Pediatr. Gastroenterol Nutr*, v. 48 (2), p.126-41, 2009.

SAAD, S. M. Probióticos e prebióticos: o estado da arte. **Revista Brasileira de Ciências farmacêuticas**; n.42 (1), p. 1-16, 2006.

SAARELA, M. et al. Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties. **Journal of Biotechnology**, Amsterdam, v.84, n.3, p.197-215, 2000.

SAAVEDRA, J. M.; TSCHERMIA, A. human studies with probiotics and prebiotics: clinical implications. **British Journal Nutrition**. 87, p.241-246, 2002.

SALEHA, A.A.; MYAING, T.T.; GANAPATHY, K.K.; ZULKIFLI, I.; RAHA, R.; ARIFAH, K. Possible effect of antibiotic-supplemented feed and environment on the occurrence of multiple antibiotic resistant *Escherichia coli* in chickens. **International Journal of Poultry Science**, v.8, n.1, p.28-31, 2009.

SALMINEN, S. et al. Probiotics: how should they be defined? **Trends in Food Science & Technology**, v.10, p.107-110, 1999.

SALMINEN, S.; OUWEHAND, A.C.; ISOLAURI, E. Clinical applications of probiotic bacteria. **International Dairy Journal**, Amsterdam, v.8, n.5-6, p.563-572, 1998.

SANTOS, I. I.; CORÇÃO, G.; KESSLER, A. M. D.E; LARANJEIRA, V. S. DOS.; LIMA, M. S.; Microbiota ileal de frangos de corte submetidos a diferentes dietas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 41, n. 3, p. 643-647, 2012.

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

SAVAGE, D. C. The effect of stress, diet and environment on the stability of the SCHREZENMEIR, J.; DE VRESE, M. Probiotics, prebiotics and symbiotics-approaching a definition. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.73, p.361S-364S, 2001.

SHIM, S.B. **Effects of prebiotics, probiotics and symbiotic in the diet of young pigs**. 2005, 179 p, P.H.D Tese (PhD in Animal Nutrition Group) Wageningen Institute of Animal Science, Wageningen University and Research Centre, Wageningen, Holanda, NL, 2005.

SILVA, E. N. Antibióticos Intestinais Naturais: Bacteriocinas. In: Simpósio sobre aditivos alternativos na nutrição animal, Campinas. **Anais...** Campinas: UNICAMP, p. 16-26, 2000.

SILVA, E.N.; ALVES FILHO, R.L. Probióticos e prebióticos na avicultura. In: II SIMPÓSIO DE SANIDADE AVÍCOLA, 2000, Santa Maria, RS. **Anais...** 2000.

SILVA, L.P.; NORBERG, J. L. Prebióticos na nutrição de não-ruminantes. **Ciência Rural**, v. 33, n. 5, p 983-990, 2003.

SMITH, A.L.; BEAL, R. The avian enteric immune system in health and disease. In: DAVISON, F.; KASPERS, B.; SCHAT, K.A. **Avian Immunology**. Academic Press, London, cap. 13, p. 243–271, 2008.

SOARES, L. L. P. **Restrições e uso de aditivos (promotores de crescimento) em rações de aves**: visão do fabricante. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 1996, Curitiba. Painel. Curitiba: Associação Brasileira de Produtores de Pintos de Corte, 1996.

SZAJEWSKA H, SETTY M, MRUKOWICZ J, GUANDALINI S. Probiotics in gastrointestinal diseases in children: hard and not-so-hard evidence of efficacy. **J Pediatric Gastroenterol Nutr**.42(5):454-75, 2006.

TANNOCK, G. W. Studies of the intestinal microflora: a prerequisite for the development of probiotics. **International Dairy Journal**, Barking, v. 8, n. 5-6, p. 527-533, 1998.

TOLEDO, G. I. S. P.; COSTA, P. T. C.; SILVA, L. P.; PINTO, D.; FERREIRA, P.; POLETO, C. J. Desempenho de frangos de corte alimentados com dietas contendo antibiótico e/ou fitoterápico como promotores, adicionados isoladamente ou associados. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 37, n. 6, p 1760-1764, 2007.

TORNUT, J. R. Probiotics . In:REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 35., 1998, Botucatu. **Anais...**Botucatu: SBZ, p. 179 – 199, 1998.

UNI, Z.; GANOT, S.; SKLAN, D. Posthatch development of mucosal function in the broiler small intestine: effect of delayed access to feed. **Poultry Science**, v.77, n.1, p.75-82, 1998.

UTIYAMA, C.E. **Utilização de agentes antimicrobianos, probióticos, prebióticos e extratos vegetais como promotores de leitões recém-desmamados**. 2004. 110f. Tese (Doutorado). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba-SP, 2004.

VASSALO, M.; FIALHO, E.T.; OLIVEIRA, A.I.G. et al. Probióticos para leitões dos 10 aos 30 kg de peso vivo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.26, n.1, p.131-138, 1997.

YANG, Y.; IJI, P. A.; CHOST, M. Dietary modulation of gut microflora in broiler chickens: a review of the role of six kinds of alternatives to in-feed antibiotics. **World's Poultry Science Journal**, v.65, n.1, p.97-114, 2009.

YIN, Y.; LEI, F.; LIYING, Z.; LI, S.; WU, Z.; ZHANG, R.; GAO, G. F.; ZHU, B.; WANG, X. Exposure of different bacterial inocula to newborn chicken affects gut microbiota development and ileum gene expression. **Isme Journal. Beijing**, v. 4, n.3, p. 367–376, 2010.

WELTZIEN, E. M. Effectes of feed form on gut microbiota in broilers. **Poultry Industry Council**, Ontario, v. 1, n. 5, 2003.

WHO – WORLD HEALTH ORGANIZATION. The medical impact of antimicrobial use in farm animals. WHO/EMC/ZOO/97.4, **Report of a WHO Meeting**, Berlim, Germany, 13-14 October, p.1-24, 1997.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o efeito da adição dietética de antibiótico melhorador de desempenho e probiótico em dietas de frangos de corte sobre o desempenho produtivo, rendimento de carcaça, cortes, deposição de gordura abdominal, morfometria intestinal, força de ruptura e elasticidade da mucosa do duodeno e ainda caracterização da microbiota intestinal.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Capítulo I

- Investigar se a adição dietética de um antibiótico melhorador de desempenho e probiótico melhora ou não o desempenho zootécnico de frangos de corte de 1 a 42 dias de idade.

Capítulo II

- Avaliar se a adição dietética de um antibiótico melhorador de desempenho e probiótico tem impacto sobre a diversidade da microbiota intestinal de frangos de corte criados sobre cama obtida de aviário comercial com histórico de enterites inespecíficas.

CAPÍTULO I - IMPACTO DA ADIÇÃO DIETÉTICA DE ANTIBIÓTICO MELHORADOR DE DESEMPENHO E PROBIÓTICO SOBRE O DESEMPENHO PRODUTIVO, RENDIMENTO DE CARÇA E INTEGRIDADE INTESTINAL DE FRANGOS DE CORTE

RESUMO

Os antibióticos melhoradores de desempenho (AMD) são rotineiramente utilizados no controle de agentes patogênicos do trato gastrointestinal, além disso, promovem melhora nos índices zootécnicos. No entanto, países importadores de carne de frango exigem a substituição desses aditivos, pois passaram a ser vistos como fatores de risco para a saúde humana pelo seu possível risco de ocorrência de resistência a antimicrobianos. Atualmente, os probióticos são uma das alternativas que podem substituir os AMD, e podem ter efeito benéfico no hospedeiro, favorecendo o equilíbrio de sua microbiota intestinal. Objetivou-se com este estudo, avaliar o efeito da suplementação dietética de probiótico e antibiótico isolados ou em associação sobre a morfometria intestinal, o desempenho produtivo e o rendimento de carcaça e cortes de frangos de corte, criados sobre cama obtida de aviário comercial com histórico de enterites inespecíficas. O experimento foi realizado no aviário experimental da Universidade Federal do Paraná. Foram utilizados 1800 pintos, de um dia de idade, *Cobb slow*, distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado com 4 tratamentos, 9 repetições de 50 aves cada. As dietas experimentais consistiram de: 1: Dieta controle, 2: Dieta controle + probiótico (100 g/ton), 3: Dieta controle + AMD (125 g/ton), e 4: Dieta controle + AMD (125 g/ton), + probiótico (100 g/ton). A análise estatística dos dados foi realizada pelo procedimento GLM do software SAS. O uso de probiótico na dieta não influenciou ($p>0,05$) o peso médio, ganho de peso, consumo de ração e conversão alimentar em nenhum dos períodos de criação avaliados, com exceção na 4ª semana. De 21 a 28 dias, foi observado efeito dos tratamentos sobre a conversão alimentar dos frangos de corte. Aves que receberam a dieta controle apresentaram melhor ($p<0,05$) conversão alimentar quando comparada com a dieta acrescida da associação probiótico + AMD. Não houve efeito significativo ($P>0,05$) do uso do probiótico em nenhuma das medidas morfométricas do jejuno e íleo das aves. Já para largura de vilo do duodeno, houve efeito significativo ($p<0,05$). Aves que receberam dieta com AMD apresentaram maior largura de vilos quando comparada apenas à dieta controle, não diferindo das demais. O peso absoluto e relativo da carcaça, dos cortes comerciais não foram influenciados pelos tratamentos ($p>0,05$). A deposição de gordura abdominal em relação ao peso da carcaça diferiu ($p<0,05$) entre os tratamentos. A dieta com AMD resultou em menor deposição de gordura abdominal em comparação às outras dietas, já as demais dietas foram semelhantes ($p>0,05$). A mensuração da força de ruptura e elasticidade da mucosa do duodeno não foi alterada ($p>0,05$) nos tratamentos. Portanto, a utilização de probiótico e antibiótico isolados ou em associação não influenciou a morfometria intestinal, o desempenho produtivo e o rendimento de carcaça de frangos de corte criados sobre cama obtida de aviário comercial com histórico de enterites inespecíficas. Práticas de manejo e de medidas higiênic-sanitárias devem ser consideradas como alternativas para melhorar os índices produtivos e econômicos na avicultura.

Palavras-chave: antibiótico melhorador de desempenho, desempenho produtivo, morfometria intestinal, *Bacillus subtilis*, força de ruptura intestinal.

ABSTRACT

Antibiotics growth promoters (AGPMD) are routinely used in the control of pathogens of the gastrointestinal tract, in addition, promotes improvement in zootechnical indexes. However, chicken meat-importing countries require substitution of these additives, as it came to be seen as risk factors for human health for its possible risk of antimicrobial resistance. Currently, probiotics are one of the alternatives that can replace the AGP, and may have a beneficial effect on the host, favoring the balance of the intestinal microbiota. The aim of this study to evaluate the effect of dietary supplementation of probiotic and antibiotic alone or in combination on the intestinal morphology, the productive performance and carcass yield and broiler cuts, created about bed obtained from a commercial Aviary with a history of non-specific enteritis. The experiment was conducted in the experimental Aviary at the Federal University of Paraná. 1,800 day-old Cobb slow chicks were used, , distributed in a completely randomized design with 4 treatment, 9 reps of 50 birds each. The experimental diets consisted of: 1: control Diet, 2: control Diet + probiotic (100 g/ton), 3: control Diet + AMD (125 g/ton), and 4: control Diet + AGP (125 g/ton), + probiotic (100 g/ton). Statistical analysis of the data was performed by the GLM procedure of the SAS software. The use of probiotic in the diet did not influence ($p > 0.05$) the average weight, weight gain, feed intake and feed conversion in any of the periods of creation assessed, except in the fourth week. From 21 to 28 days, treatment effect was observed on the feed conversion of broilers. Birds that have received the control diet showed better ($p < 0.05$) feed conversion compared with the diet plus probiotic association + AGP. There were no significant effects ($P > 0.05$) of probiotic use in any of the measures of the jejunum and ileum of the birds. Vilo width to the duodenum, there was a significant effect ($p < 0.05$). Birds that received a diet with AGP had higher villi width when compared to the control diet, not differing from the others. The absolute and relative weight of the carcass of commercial cuts were not influenced by the treatments ($p > 0.05$). The deposition of abdominal fat in relation to the weight of the carcass differed ($p < 0.05$) between treatments. The diet with AGP resulted in lower deposition of abdominal fat compared to other diets, since the other diets were similar ($p > 0.05$). The measurement of breaking strength and elasticity of the mucosa duodenum has not changed ($p > 0.05$) treatments. Therefore, the use of probiotic and antibiotic alone or in association didn't influence the intestinal morphology, the productive performance and carcass yield of broilers reared on litter retrieved from a commercial Aviary with history of nonspecific enteritis. Management practices and hygienic-sanitary measures should be considered as alternatives to improve the productive and economic indexes in aviculture.

Key-words: antibiotic performance improver, productive performance, intestinal morphology, *Bacillus subtilis*, disruptive force.

1 INTRODUÇÃO

A rápida ascensão e o aumento na intensidade na produção de frangos de corte tornou mais desafiadora a busca por alternativas capazes de proporcionar melhoria nos parâmetros produtivos de desempenho, rendimento de carcaça, benefícios a saúde e bem-estar animal. Por outro lado, com a constante demanda por alimentos no mundo, cresce por parte do mercado consumidor a busca por alimentos mais saudáveis que atendam legislações e as restrições de mercado (ABPA, 2016).

Neste contexto, a utilização de antibióticos melhoradores de desempenho (AMD) vem sendo uma estratégia eficiente, que tem contribuído para manter um ponto de equilíbrio entre custos e qualidade do produto, através da melhoria nos índices produtivos e sanitários dos plantéis avícolas. Entretanto, nos últimos anos, pressões legislativas, barreiras comerciais e a crescente preocupação dos consumidores acarretaram na redução da utilização de aditivos antibióticos na alimentação animal, fato inicialmente ocorrido na Europa, com proporções globais (COUNCIL, 2003). A simples remoção desses aditivos das dietas animais pode gerar consequências negativas, como a queda de desempenho produtivo dos animais associado ao aumento da ocorrência de enfermidades clínicas e, conseqüentemente, maior uso de desinfetantes e de antibióticos com fins terapêuticos (CHENG et al., 2014).

O epitélio da mucosa do intestino constitui uma interface altamente dinâmica com o meio externo, constituindo-se uma porta de entrada para inúmeros microrganismos que ainda oferece condições ao desenvolvimento de muitas bactérias indesejáveis, como por exemplo, *Salmonella* spp, *Campylobacter* sp, *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens* e *Staphylococcus aureus*. Além desses patógenos, há uma grande diversidade de formas de vida presentes na cama do aviário, que certamente têm papel relevante na ocorrência das enteropatias que afetam negativamente o desempenho das aves e a qualidade do produto final (TURNELL et al., 2007; ADHIKARI & KIM, 2017).

Nesse sentido, a manutenção da saúde intestinal e dos mecanismos de controle da integridade das células epiteliais da mucosa gastrintestinal, é de vital relevância para o melhor aproveitamento dos nutrientes da dieta. Além disso, os tecidos que compõem o trato gastrintestinal correspondem a cerca de apenas 5% do peso corporal, mas consomem entre 15 e 30% de todo aporte de O₂ e proteínas do

organismo (GASKINS, 2001), além de cerca de 20% da energia bruta consumida (MCBRIDE & KELLY, 1990), devido a alta taxa de renovação e intensa atividade metabólica das células. Neste sentido, o intestino não é mais reconhecido apenas pela sua importante função associada aos processos de digestão e absorção, mas também pelo importante papel imunológico na defesa contra as agressões do meio externo (ADHIKARI & KIM, 2017).

Ao mesmo tempo em que se discute a retirada dos antibióticos melhoradores de desempenho, pesquisas científicas mostram que algumas alternativas podem ser viáveis. A colonização intencional da microbiota intestinal com bactérias probióticas (CUKROWSKA et al., 2002) que podem colonizar ou não o trato gastrointestinal e promover a eliminação de bactérias patogênicas sem eliminar as populações benéficas ou gerar resistência bacteriana no organismo dos frangos de corte (LINZMEIER et al., 2009; COGLIANI; GOOSSENS e GREKO., 2011; AJUWON, 2015), pode ser uma importante estratégia para a manutenção da sanidade das aves (BOLELI et al., 2002; FRANCO, 2011) e dos índices produtivos e econômicos.

Os principais efeitos observados dos probióticos em frangos de corte são a melhoria no desempenho produtivo e na qualidade da carne, estimulação da resposta imune, na morfologia intestinal e no equilíbrio da microbiota intestinal (BAI et al., 2013; ADHIKARI & KIM, 2017).

Entretanto, a eficácia da suplementação, depende das características das cepas do microrganismo e da quantidade utilizada na elaboração do produto (AJUWON, 2015), assim como da formulação/composição por microrganismos vivos em culturas definidas, indefinidas ou simbióticas (GUARNER et al., 2011). Entre outros fatores não associados ao produto, porém determinante à sobrevivência das bactérias probióticas no TGI, incluem-se o agente anticoccidiano usado, a idade do lote de aves e, principalmente do desafio sanitário da criação (MENTEN & PEDROSO, 2005; ADHIKARI & KIM, 2017).

O objetivo do trabalho foi avaliar o efeito da adição dietética de antibiótico melhorador de desempenho e probiótico sobre o desempenho produtivo e a morfometria intestinal de frangos de corte criados em cama proveniente de lotes comerciais com histórico de enterites inespecíficas.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no aviário experimental da Universidade Federal do Paraná (UFPR) – Setor Palotina onde todos os procedimentos com uso de animais neste trabalho foram submetidos à avaliação e aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da UFPR - Setor Palotina (Protocolo 24/2016).

Aves e Dietas Experimentais

Foram utilizados 1800 pintos de corte da linhagem *Cobb Slow*, machos, de um dia de idade, distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado, com quatro tratamentos com nove repetições de 50 aves por box (15 aves/m²).

As Dietas experimentais consistiram de:

- Dieta experimental 1: Dieta controle;
- Dieta experimental 2: Dieta controle + probiótico;
- Dieta experimental 3: Dieta controle + AMD;
- Dieta experimental 4: Dieta controle + AMD + probiótico;

O AMD utilizado foi a Enramicina na dose de 125 gr/ton de ração (Enramax® - Farmabase Saúde Animal Ltda) e o probiótico (cepa de *Bacillus subtilis*), na dose de 100g/ton de ração (Baymix® Grobig™, Bayer Saúde Animal). O AMD e o probiótico foram adicionados às dietas respectivas, durante todo o período de criação das aves (1 a 42 dias de idade).

Foi utilizada a cama do aviário experimental de experimento anterior a qual foi incorporada a uma cama obtida de aviário comercial com histórico de enterites inespecíficas, visando resultar em desafio sanitário semelhante ao observado em condições comerciais.

O programa nutricional foi dividido em três fases: inicial (1 – 18 dias idade), crescimento (19 – 35 dias idade) e abate (36 – 42 dias de idade). As rações experimentais, a base de milho e farelo de soja, foram formuladas visando atender as exigências nutricionais das diferentes fases de acordo com as recomendações das agroindústrias locais (TABELA 1).

TABELA 1 - COMPOSIÇÃO PERCENTUAL E CALCULADA DAS DIETAS EXPERIMENTAIS DOS FRANGOS DE CORTE NO PERÍODO INICIAL (1 A 18 DIAS), CRESCIMENTO (19 A 35 DIAS) E ABATE (36 A 42 DIAS).

Ingredientes	Inicial	Creascimento	Abate
Milho	574,50	596,79	609,42
Óleo de Soja	28,00	41,00	46,00
Farelo de Soja (46%)	334,00	301,00	290,00
Farinha de Carne	41,00	40,00	35,00
Calcáreo calcítico	4,40	4,40	4,40
Sal Branco Comum	2,90	2,60	2,90
Bicarbonato de Sódio	1,50	1,00	
DL-Metionina (98%)	3,75	3,50	3,40
L Lisina (50,7%)	3,96	3,84	3,72
Treonina (98%)	0,970	0,980	1,020
L-Valine (96,5%)	0,330	0,370	0,310
Colina (60%)	0,960	0,740	0,600
Salinomicina 12%		0,550	
Maxiban 80/80	0,500		
Caulim ¹	0,225	0,225	0,225
Premix vitamínico mineral ²	3,00	3,00	3,00
Valores calculados			
EM, Kcal/Kg	3.099	3.228	3.279
PB, %	22,527	21,108	20,460
Cálcio, %	0,901	0,879	0,818
P.Disp., %	0,459	0,448	0,419
Lis Dig., %	1,250	1,161	1,120
Met Dig., %	0,665	0,624	0,608
AAS Dig., %	0,963	0,905	0,883
ThrDig., %	0,813	0,766	0,751
Leuc Dig., %	1,662	1,573	1,538
Ile Dig., %	0,851	0,789	0,765
Val Dig., %	0,962	0,905	0,874
Phe Dig., %	0,932	0,869	0,851
Arg Dig., %	1,350	1,253	1,210
Na+K+Cl (MEQ/100g)	245	224	206

¹ Substituído por 100g/ton de AMD (dieta experimental 2), substituído por 150g/ton de probiótico (dieta experimental 2) e substituído por 100g/ton de AMD+150g/ton de probiótico (dieta experimental 4).

² Nível por kg de premix inicial: Vitamina A (KUI/KG 4,000,00); Vitamina D3(KUI/KG 1,167,000); Vitamina E (UI/KG 10,000,00) Vitamina K3 (mg/kg 1,000,00); Vitamina B1-Tiamina (mg/kg 1,000,00); Vitamina B2 – Riboflavina (mg/kg 2,666,666); Vitamina B6 – Piridoxina (mg/kg 1,667,00); Vitamina B12 – Cianocobalamina (mg/kg 6,666,00); Acido Pantatênico (mg/kg 6, 000,00) Niacina (mg/kg 13,000,00); Ácido Fólico (mg/kg 833,33); Biotina (mcg/kg 80,000,00); Manganês (ppm 40,000,00); Zinco (ppm 33,333,33); Ferro (ppm 23,333,00); Cobre (ppm 2,666,67); Iodo (ppm 333,33); Selênio (ppm 80,00); Etoxiquina (mg/Kg 22,200,00); Fitase Phyzyme (g/kg 16,667); AXTRA XAP 101 TPT (g/kg 33,333,00). Nível por kg de premix crescimento: Vitamina A (KUI/KG 3,000,00); Vitamina D3(KUI/KG 1,000,000); Vitamina E (UI/KG 8,333,33) Vitamina K3 (mg/kg 1,000,00); Vitamina B1-Tiamina (mg/kg 800,00); Vitamina B2 – Riboflavina (mg/kg 2,166,667); Vitamina B6 – Piridoxina (mg/kg 1,400,00); Vitamina B12 – Cianocobalamina (mg/kg 5,000,00); Acido Pantatênico (mg/kg 5,000,00) Niacina (mg/kg 11,666,667); Ácido Fólico (mg/kg 500,00); Biotina (mcg/kg 70,000,00); Manganês (ppm 33,333,00); Zinco (ppm 26,666,00); Ferro (ppm 20,000,00); Cobre (ppm 2,666,67); Iodo (ppm 333,33); Selênio (ppm 80,00); Etoxiquina (mg/Kg 22,200,00); Fitase Phyzyme (g/kg 16,667).

Nível por kg de premix abate: Vitamina A (KUI/KG 2,333,00); Vitamina D3(KUI/KG 834,000); Vitamina E (UI/KG 6,667,000) Vitamina K3 (mg/kg 1,000,00); Vitamina B1-Tiamina (mg/kg 600,00); Vitamina B2 – Riboflavina (mg/kg 1,667,000); Vitamina B6 – Piridoxina (mg/kg 1,167,00); Vitamina B12 – Cianocobalamina (mg/kg 4,000,00); Acido Pantatênico (mg/kg 4,000,00) Niacina (mg/kg 10,000,000); Ácido Fólico (mg/kg 334,00); Biotina (mcg/kg 66,667,00); Manganês (ppm 33,333,00); Zinco (ppm 26,666,00); Ferro (ppm 20,000,00); Cobre (ppm 2,666,67); Iodo (ppm 333,33); Selênio (ppm 80,00); BHT (mg/Kg 33,333,00); Fitase Phyzyme (g/kg 16,667).

FONTE: A Autora (2018).

Os boxes experimentais têm a dimensão de 1,50 x 2,50, totalizando 3,52 m² de área disponível (descontado o espaço do balde). A temperatura ambiental foi mantida dentro da faixa de conforto térmico por meio de campânulas providas de lâmpadas de aquecimento infravermelho, ventiladores, exaustores e placas de resfriamento controlados por um sistema automatizado.

As aves receberam água e alimento *ad libitum* durante todo o período experimental de 42 dias. Nos primeiros quatro dias, a água foi oferecida em bebedouros infantis e a partir do 5º dia de idade, por meio de bebedouro *nipple*. As aves até os 14 dias de idade receberam 24 horas de luz, em função do sistema de aquecimento (lâmpada halógena de 300W). Após este período receberam 16 horas de luz e 8 horas de escuro diariamente até 21 dias de idade e posteriormente 14 horas de luz e 10 horas de escuro até o final do experimento.

Avaliação do desempenho das aves

Para o cálculo do desempenho produtivo as aves foram pesadas aos 7, 14, 21, 35 e 42 dias, assim como a sobra de ração fornecida, para a avaliação do peso médio, ganho de peso, consumo de ração e conversão alimentar. A conversão alimentar foi corrigida pela mortalidade semanal das aves conforme metodologia descrita por Sakomura e Rostagno (2007).

Histomorfometria da mucosa intestinal

Aos 42 dias de idade, foram abatidas por atordoamento com eletricidade e posterior sangria de acordo com a Instrução Normativa nº 3 de janeiro de 2000 (Regulamento Técnico de Métodos de Insensibilização para o Abate Humanitário de Animais de Açougue) duas aves/repetição (18 aves/tratamento). O trato gastrintestinal foi exposto e em seguida retirados fragmentos de aproximadamente 5 cm de comprimento do duodeno (região ascendente da alça duodenal) e do jejuno (região do divertículo de Meckel) e do íleo (região posterior a válvula íleo-ceco-cólica). Cada fragmento foi fixado em formalina 10% tamponada submetido a cortes semi-seriados de 5µm de espessura, submetidos aos procedimentos histológicos e corados por HE (hematoxilina e eosina) de acordo com os procedimentos descritos por Beçak (1976).

Para o estudo morfométrico, as imagens dos segmentos do intestino foram capturadas por meio da microscopia de luz, utilizando-se o sistema analisador de imagens computadorizado (Image Pro-Plus - Versão 5,2 – Media Cibernética). Foi contabilizado o número de criptas em 20 vilos para a determinação da relação número de criptas: número de vilos de cada repetição para cada segmento. Foi mensurado a altura e largura de 20 vilos e a profundidade e largura de 20 criptas de cada repetição para cada segmento e destes valores foi obtida a média para o cálculo da relação comprimento do vilo:profundidade da cripta. As medidas foram utilizadas para o cálculo da área da superfície de absorção da mucosa intestinal, através da seguinte fórmula, segundo KISIELINSKI et al., (2002):

Área de absorção:

$$\frac{(LV \times AV) + (LV/2 + LC/2)^2 - (LV/2)^2}{(LV/2 + LC/2)^2}$$

Onde: LV: largura de vilo, AV: altura de vilo, LC: largura de cripta

Resistência e elasticidade da mucosa do duodeno

Um segundo segmento do duodeno foi coletado (± 8 cm – porção descendente da alça duodenal) de duas aves/ repetição (18 aves/tratamento) e mantido em solução fisiológica por 24hs. As amostras foram submetidas ao ensaio de flexão à taxa de deformação constante para material visco-elástico com auxílio de um dispositivo de fixação para teste de perfuração adaptada ao texturômetro (Modelo TA-XT2i, Stable Mycro Systems LTDA., Goldalming, UK). Foi obtida a força de ruptura (kg) e elasticidade (mm) da mucosa do duodeno, que corresponde à distância que a ponta de prova percorreu antes de atingir o pico. Os parâmetros utilizados foram: velocidade de 1 mm/s, força do disparo de 10 g e tensão de 15 mm.

Rendimento de carcaça, cortes nobres e deposição de gordura abdominal

Para cálculo do rendimento de carcaça e cortes nobres e deposição de gordura abdominal, aos 43 dias, foram abatidas 48 aves por tratamento. Previamente, as aves foram identificadas e submetidas ao jejum alimentar por seis horas e abatidas

por atordoamento com eletricidade e posterior sangria de acordo com a Instrução Normativa nº 3 de janeiro de 2000 (Regulamento Técnico de Métodos de Insensibilização para o Abate Humanitário de Animais de Açougue). Antes do abate foi obtido o peso vivo e após o abate, com o auxílio de uma balança eletrônica foi determinado o peso absoluto da carcaça, dos cortes e da gordura abdominal.

Para o cálculo de rendimento de carcaça, foi considerado o peso da carcaça eviscerada quente, sem os pés, cabeça e gordura abdominal, em relação ao peso vivo que foi obtido individualmente antes do abate das aves. Para o rendimento dos cortes, foi considerado o rendimento do peito inteiro com pele e ossos, das pernas (coxa e sobrecoxa com ossos e pele), e asas com pele, que foi calculado em relação ao peso da carcaça eviscerada. A gordura abdominal presente ao redor da cloaca, da bolsa cloacal, moela, proventrículo e dos músculos abdominais adjacentes foi retirada, pesada e também calculada em relação ao peso da carcaça eviscerada.

Análise estatística

Os resultados obtidos no experimento foram tabulados e analisados utilizando-se análise de variância (ANOVA) do procedimento General Lineal Model (GLM) com auxílio do programa estatístico SAS (2002, SAS Institute Inc., Cary, NC) e quando significativas, as médias entre os tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey a 5%.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O uso de probiótico na dieta não influenciou ($p > 0,05$) o peso médio, ganho de peso, consumo de ração e conversão alimentar em nenhum dos períodos de criação avaliados, com exceção na quarta semana. De 21 a 28 dias, foi observado efeito dos tratamentos sobre a conversão alimentar dos frangos de corte. Aves que receberam a dieta controle apresentaram melhor ($p < 0,05$) conversão alimentar quando comparada com a dieta acrescida da associação probiótico + AMD. As outras dietas resultaram em conversão alimentar semelhantes (TABELA 2).

Considerando o período de 1 a 21 dias e 1 a 42 dias de idade das aves (TABELA 3), não houve efeito ($p > 0,05$) dos aditivos utilizados de forma isolada ou em associação sobre os índices produtivos.

A falta de efeito da suplementação de aditivos na primeira semana de vida também foi observada por Maiorka et al., (2001), que compararam a inclusão de antibiótico, prebiótico, probiótico (*Bacillus subtilis*) e simbiótico, assim como Pelicano et al., (2004a), que avaliou probiótico isolado (*Bacillus subtilis*) ou associação de cepas (*Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Streptococcus lactis*, *Streptococcus faecium*, *Bifidobacterium bifidum*, *Aspergillus oryzae*) e prebiótico.

Fernandes et al., (2014) observaram melhor ganho de peso das aves na fase inicial quando as dietas foram suplementadas com antibiótico em relação a dieta controle, sem diferenças significativas com dietas acrescidas de aditivos alternativos (probiótico, prebiótico, simbiótico e ácidos orgânicos).

Considerando o período total do experimento, de 1 a 42 dias de idade, nenhuma das dietas influenciou os índices avaliados, o que também foi observado por Henrique et al., (1997), Loddi et al., (2000), Lima et al., (2003), Pelicano et al., (2004b), Appelt et al., (2010), Boratto et al., (2004), Junqueira et al., (2006) e Silva et al., (2011) que trabalharam com a mesma cepa (*Bacillus subtilis*) utilizada nesse experimento. Outro trabalho, com cepas associadas (*Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus faecium* e *Bifidobacterium bifidum*) também não mostrou resultados positivos sobre o desempenho das aves (Bitterncourt et al., 2011). Em outro trabalho conduzido por Fernandes et al., (2014), utilizando probiótico a base de microrganismos colonizadores (Bactérias anaeróbicas, enterobactérias fermentadoras de lactose, *Enterococcus* spp e *Lactobacillus acidophilus*), os resultados foram semelhantes, ou seja tanto a suplementação com antibiótico ou probiótico em relação à dieta controle, não alteraram o desempenho produtivo das aves.

TABELA 2 - ÍNDICES ZOOTÉCNICOS DE FRANGOS DE CORTE DE 1 A 42 DIAS ALIMENTADOS COM DIETAS ACRESCIDAS DE ANTIBIÓTICO MELHORADOR DE DESEMPENHO (AMD) E PROBIÓTICOS ISOLADO OU ASSOCIADOS

	Peso, g	Ganho de peso, g	Consumo de ração, g	Conversão alimentar
1 a 7 dias				
Controle	201,55	154,95	166,62	1,076
Probiótico	205,60	158,60	169,61	1,069
AMD	204,51	157,17	169,26	1,078
Probiótico + AMD	203,60	157,14	171,31	1,091
Média	203,81	156,97	169,20	1,079
CV, %	2,77	3,56	2,91	3,57
Valor de P	0,4860	0,5853	0,2634	0,6766
7 a 14 dias				
Controle	507,51	304,15	383,38	1,261
Probiótico	511,94	302,33	386,44	1,279
AMD	516,00	308,32	391,49	1,270
Probiótico + AMD	520,18	310,53	393,69	1,269
Média	513,97	306,39	388,83	1,270
CV, %	3,03	3,91	3,80	3,07
Valor de P	0,4168	0,5056	0,4952	0,8261
14 a 21 dias				
Controle	977,40	474,24	666,46	1,405
Probiótico	973,02	469,60	655,28	1,397
AMD	1000,85	483,31	680,20	1,409
Probiótico + AMD	982,04	474,81	674,06	1,421
Média	983,33	475,49	669,00	1,408
CV, %	4,54	5,89	5,20	2,56
Valor de P	0,5718	0,7724	0,4737	0,5554
21 a 28 dias				
Controle	1610,64	630,70	915,97	1,456 ^b
Probiótico	1584,35	611,33	914,62	1,500 ^{ab}
AMD	1625,23	631,53	930,84	1,475 ^{ab}
Probiótico + AMD	1588,03	604,76	918,59	1,521 ^a
Média	1601,13	618,90	919,81	1,489
CV, %	4,67	8,17	5,79	2,81
Valor de P	0,6441	0,6120	0,8590	0,0175
28 a 35 dias				
Controle	2294,84	684,20	1163,83	1,703
Probiótico	2262,81	674,06	1141,11	1,695
AMD	2332,99	691,35	1156,64	1,674
Probiótico + AMD	2270,45	681,34	1144,97	1,683
Média	2287,54	682,17	1150,97	1,689
CV, %	4,28	5,91	4,77	3,83
Valor de P	0,5050	0,8607	0,8225	0,8272
35 a 42 dias				
Controle	2849,75	550,53	1150,96	2,131
Probiótico	2805,81	555,73	1119,17	2,042
AMD	2884,53	590,22	1147,09	1,950
Probiótico + AMD	2792,14	530,30	1109,29	2,177
Média	2837,77	559,98	1136,86	2,066
CV, %	6,46	16,62	9,95	9,31
Valor de P	0,7135	0,4416	0,8341	0,1143

FONTE: A Autora (2018).

Jameoz et al., (2004) observaram pior ganho de peso das aves na fase inicial quando receberam probiótico em comparação a uma dieta isenta de qualquer aditivo. Entretanto, aos 42 dias, o desempenho produtivo foi semelhante.

Já Mountzouris et al., (2007) obtiveram melhora no ganho de peso de aves alimentadas com dieta contendo probiótico (*Lactobacillus reuteri*, *Enterococcus faecium*, *Bifidobacterium animalis*, *Pediococcus acidilactici* e *Lactobacillus salivarius*) em comparação com a dieta isenta, porém sem diferenças em relação a dieta contendo antibiótico ou o mesmo probiótico aplicado via água de bebida. Resultados positivos com a suplementação de probiótico também foram relatados por Jin et al., (1997), Moreno et al., (2002), Fernandez e Crespo (2003).

Panda et al., (2000) utilizaram um probiótico que aumentou o ganho de peso de frangos de corte apenas nas primeiras quatro semanas, mas não melhorou a conversão alimentar. Por outro lado, Patel et al., (2015) suplementaram a dieta das aves com um probiótico com associação de várias cepas de bactérias e leveduras e somente observaram melhor ganho de peso e conversão alimentar das aves quando utilizaram o dobro da dose indicada.

TABELA 3 - ÍNDICES ZOOTÉCNICOS DE FRANGOS DE CORTE DE 1 A 21 DIAS E DE 1 A 42 DIAS ALIMENTADOS COM DIETAS ACRESCIDAS DE ANTIBIÓTICO MELHORADOR DE DESEMPENHO (AMD) E PROBIÓTICO ISOLADOS OU ASSOCIADOS.

1 a 21 dias				
Controle	979,93	923,24	1197,59	1,297
Probiótico	973,02	911,48	1188,62	1,304
AMD	993,70	924,21	1212,15	1,312
Probiótico + AMD	997,69	931,26	1224,88	1,316
Média	985,69	922,21	1205,29	1,307
CV, %	3,86	4,38	3,95	1,45
Valor de P	0,5158	0,7870	0,4318	0,2277
1 a 42 dias				
Controle	2849,75	2723,50	4291,9	1,577
Probiótico	2805,81	2649,80	4192,60	1,584
AMD	2884,53	2747,30	4287,30	1,562
Probiótico + AMD	2792,14	2656,30	4227,90	1,592
Média	2837,77	2695,53	4291,22	1,579
CV, %	6,46	7,34	6,24	2,14
Valor de P	0,7135	0,6929	0,8872	0,2390

FONTE: A Autora (2018).

Segundo Menten et al., (2002), a ação do antimicrobiano ou do aditivo melhorador de desempenho está diretamente ligada a presença de patógenos e que

quanto maior o desafio, maior o efeito dos antimicrobianos sobre o desempenho dos animais. Entretanto, Ribeiro et al., (2017) não observaram efeito positivo no desempenho produtivo de aves desafiadas com *Salmonella enteritidis*, nem na produção de anticorpos anti-Salmonella ou na morfometria intestinal. Da mesma forma, no presente experimento, as aves foram expostas a um desafio sanitário “natural”, ou seja, por meio de cama reutilizada de um aviário comercial de frangos de corte com histórico de enterites inespecíficas, e também não houve respostas positivas em relação à suplementação do AMD ou probiótico em nenhuma das fases avaliadas.

Esses resultados controversos levam ao questionamento da efetividade desses aditivos como melhoradores de desempenho. Os fatores por trás da variabilidade do uso de probióticos podem incluir a idade das aves, a microbiota real já presente no intestino ou no ambiente de criação, a dose e a natureza das cepas utilizadas para a cultura de probióticos, espécies de probióticos, método de preparação de cepas probióticas, via de administração e tempo de aplicação em relação ao tipo de desafio sanitário aplicado (Brisbin et al., 2011; Ajuwon, 2015; Huyghebaert et al., 2011, Adhikari & Wu, 2017). Em função disso, é muito difícil estabelecer um paralelo entre estudos e comparar resultados.

O uso do probiótico na dieta não afetou ($P>0,05$) nenhuma das medidas morfométricas do jejuno e íleo das aves. Já para largura de vilo do duodeno, houve efeito significativo ($p<0,05$). Aves que receberam dieta com AMD apresentaram maior largura de vilos quando comparada apenas à dieta controle, não diferindo das demais, mas apesar disso a área de absorção foi igual. Aves que receberam probiótico isolado ou em associação com AMD apresentaram largura de vilo semelhantes ($p>0,05$) entre si.

Lee et al., (2010) também não observaram efeito da suplementação de oito probióticos compostos por diferentes cepas de *Bacillus subtilis* aos 21 dias de idade. Fernandes et al., (2014) relataram que a suplementação de dieta com aditivos (probiótico, perbiótico ou ácido orgânico), antibiótico ou o fornecimento de dieta isenta de qualquer aditivo melhorador de desempenho também não influenciou a morfometria da mucosa ou das camadas da parede intestinal. Entretanto, Pelicano et al., (2003), Pelicano et al., (2007), Oliveira et al., (2009), e Panda et al., (2009) observaram efeitos positivos de aditivos alternativos sobre o comprimento dos vilos e profundidade das criptas.

Awad et al., (2009) demonstraram que os aditivos probióticos (*Lactobacillus* hetero ou hemofermentativos) ou simbióticos (*Enterococcus faecium*, derivado de chicória e substâncias imunomoduladoras) resultaram em maior relação vilo:cripta, tanto no duodeno quanto no íleo dos frangos de corte, bem como a altura de vilo e profundidade das criptas do íleo. Segundo Kuzmuk et al., (2005), a altura dos vilos e a profundidade das criptas são consideradas indicadores do bom desenvolvimento do intestino, sendo que em condições de homeostase fisiológica apresentam maior relação vilo/cripta.

TABELA 4 - MORFOMETRIA DA MUCOSA INTESTINAL DO DUODENO, JEJUNO E ÍLEO DE FRANGOS DE CORTE AOS 42 DIAS DE IDADE ALIMENTADOS COM DIETAS ACRESCIDAS DE ANTIBIÓTICO MELHORADOR DE DESEMPENHO (AMD) E PROBIÓTICO ISOLADOS OU ASSOCIADOS.

	Vilo, μm		Cripta, μm		Relação Vilo:cripta	Área de Absorção, μm ²
	comprimento	largura	profundidade	largura		
Duodeno						
Controle	1680,38	120,74 ^b	64,90	46,17	26,57	29,90
Probiótico	1685,61	121,99 ^{ab}	68,39	45,18	24,87	29,91
AMD	1756,01	140,68 ^a	63,96	48,39	28,35	28,25
Probiótico + AMD	1794,56	130,90 ^{ab}	67,67	45,95	27,53	30,37
Média	1729,14	128,57	66,23	46,42	26,83	29,61
CV, %	16,77	16,71	17,52	14,12	24,07	20,85
Valor de P	0,595	0,028	0,628	0,532	0,447	0,750
Jejuno						
Controle	1123,89	111,24	60,35	47,08	19,46	20,54
Probiótico	1063,24	115,85	61,50	45,79	17,58	19,37
AMD	1048,75	120,76	59,32	45,59	18,53	19,20
Probiótico + AMD	1082,93	109,83	62,16	48,01	18,46	20,10
Média	1079,70	114,42	60,83	46,62	18,51	19,80
CV, %	16,55	15,91	23,03	16,68	25,35	20,13
Valor de P	0,630	0,275	0,933	0,765	0,705	0,726
Íleo						
Controle	889,54	111,78	63,91	40,82	14,31	17,63
Probiótico	811,77	118,73	59,70	45,03	13,98	15,20
AMD	826,32	117,02	58,94	47,90	14,37	14,98
Probiótico + AMD	872,55	125,98	59,43	44,70	15,18	15,82
Média	850,04	118,38	60,49	44,61	14,46	15,90
CV, %	19,50	19,04	20,74	20,65	23,13	23,60
Valor de P	0,467	0,313	0,657	0,153	0,729	0,148

FONTE: A Autora (2018).

Na fase após o nascimento, dá-se o desenvolvimento do trato gastrointestinal, como maturação funcional do intestino envolvendo mudanças fisiológicas e morfológicas que proporcionam aumento na área de superfície de digestão e absorção (MAIORKA et al., 2002). A mucosa do intestino tem crescimento contínuo, necessitando sempre de renovação e está intimamente ligada com fatores presentes na dieta e de hormônios presentes na circulação sanguínea (insulina, tiroxina, triiodotironina) (FURLAN et al., 2004). A maior parte do aproveitamento dos nutrientes ocorre no intestino delgado. O duodeno é o segmento intestinal que apresenta maior densidade e altura de vilos seguido do jejuno, ambos responsáveis pela maior parte da absorção intestinal (UNI et al., 1995).

É importante considerar ainda que, quando a mucosa sofre processo de agressão, a reposição celular se faz às custas de consumo de nutrientes, os quais são provenientes das reservas energéticas do organismo da ave e da ração ingerida. MCBRIDE & KELLY (1990) estimaram que a manutenção do epitélio intestinal e estruturas anexas de suporte tem custo de 20% da energia bruta consumida pelo animal.

A melhoria na arquitetura intestinal traz múltiplos benefícios. Não só aumenta a capacidade do frango para resistir a invasão de patógenos, mas também aumenta a capacidade funcional do intestino para a absorção de nutrientes (S et al., 2005).

Na TABELA 5, estão demonstrados os resultados da avaliação da resistência das paredes que compõem o duodeno, que compreende dois parâmetros: a força necessária para ruptura e a elasticidade do tecido muscular, ou a distância que a sonda percorreu para ocasionar a ruptura. Não houve efeito significativo ($P>0,05$) dos tratamentos para nenhuma das medidas.

A resistência da parede intestinal à ruptura e a elasticidade, apresentam variabilidade significativa resultante quer da própria heterogeneidade dos constituintes das paredes do intestino (mucosa, submucosa, camada muscular interna circular, camada muscular externa longitudinal e serosa), quer das condições intrínsecas do teste.

De acordo com Mattar et al., (2002), alguns probióticos podem influenciar o epitélio intestinal por produzir peptídeos antimicrobianos e citocinas como IL-12, IFN- γ , IL-10, e TNF- α , além do aumento na secreção de mucina que serve como uma barreira física que evita a translocação bacteriana. A integridade intestinal é

extremamente importante para evitar a translocação bacteriana ou o rompimento das vísceras durante os procedimentos de abate dos frangos de corte.

Rasschaert et al., (2007) e Al-Zenki et al., (2009) demonstraram que os probióticos podem atuar inibindo o desenvolvimento de bactérias patogênicas no trato gastrointestinal dos animais, mais especificamente contra bactérias do gênero *Salmonella* spp., reduzindo as chances de ocorrer contaminação das carcaças por rompimento de vísceras no interior do abatedouro. Esta redução é de extrema importância, tendo em vista que a salmonelose é a principal fonte de toxiinfecções alimentares para seres humanos.

Estrada et al., (2001) observaram uma redução de bactérias aeróbicas totais, coliformes e clostrídios em frangos que receberam *Bifidobacterium bifidum*, e comprovaram redução no número de condenações de carcaça por celulite nos animais suplementados, trazendo benefícios na qualidade da carcaça das aves que chegam ao abatedouro, facilitando o processo e garantindo um produto de qualidade.

TABELA 5 - RESISTÊNCIA E ELASTICIDADE DO DUODENO DE FRANGOS DE CORTE COM 42 DIAS DE IDADE ALIMENTADOS COM DIETAS ACRESCIDAS DE ANTIBIÓTICO MELHORADOR DE DESEMPENHO (AMD) E PROBIÓTICO ISOLADOS OU ASSOCIADOS.

	Duodeno	
	Resistência, kg	Elasticidade, mm
Controle	0,745	7,87
Probiótico	0,657	7,81
AMD	0,824	8,77
Probiótico + AMD	0,710	8,09
Média	0,734	8,13
CV, %	26,38	26,28
Valor de P	0,332	0,768

FONTE: A Autora (2018).

O peso absoluto e relativo da carcaça, dos cortes comerciais não foram influenciados pelos tratamentos ($p>0,05$). A deposição de gordura abdominal em relação ao peso da carcaça diferiu ($p<0,05$) entre os tratamentos. A dieta com AMD resultou em menor deposição de gordura abdominal em comparação às outras dietas. As demais dietas foram semelhantes ($p>0,05$) (TABELA 6).

TABELA 6 - PESO ABSOLUTO E RELATIVO DA CARÇAÇA, CORTES COMERCIAIS E GORDURA ABDOMINAL DE FRANGOS DE CORTE AOS 42 DIAS DE IDADE ALIMENTADOS COM DIETAS ACRESCIDAS DE ANTIBIÓTICO MELHORADOR DE DESEMPENHO (AMD) E PROBIÓTICO ISOLADOS OU ASSOCIADOS.

	Peso absoluto, g					
	Peso vivo	Carçaça	Peito	Pernas	Asas	Gordura
Controle	3142,7	2525,00	982,89	793,22	242,44	44,78
Probiótico	3121,8	2489,56	968,33	785,22	240,11	50,22
AMD	3132,9	2509,67	983,22	795,11	245,44	42,67
Probiótico + AMD	3108,9	2487,00	967,33	780,67	242,33	48,00
Média	3126,55	2502,8	975,44	788,55	242,58	46,42
CV, %	8,09	8,07	9,01	7,77	5,94	14,15
Valor de P	0,993	0,975	0,965	0,953	0,890	0,091
	Peso relativo, %					
Controle		80,34	38,87	31,45	9,63	1,76 ^{ab}
Probiótico		79,73	38,86	31,55	9,66	2,01 ^a
AMD		80,17	38,94	31,58	9,77	1,69 ^c
Probiótico + AMD		79,98	38,88	31,38	9,76	1,93 ^{ab}
Média		80,06	38,89	31,49	9,71	1,85
CV, %		0,97	2,51	2,16	3,70	10,82
Valor de P		0,389	0,998	0,920	0,783	0,005

FONTE: A Autora (2018).

Outros estudos encontraram resultados semelhantes no rendimento de carçaça, de asas e de peito entre os grupos controle negativo e os suplementados com probiótico ou AMD (Loddi et al., 2000; Dionizio et al., 2002; Ramos, 2009).

Denli et al., (2003) encontraram que a suplementação de *Saccharomyces cerevisiae* na dieta diminuiu o peso e a porcentagem de gordura abdominal de frangos

Há uma grande expectativa de que os aditivos alternativos mantenham os índices zootécnicos obtidos com o uso de AMD e que possam substituí-los (FRANCO et al., 2007). Entretanto, quando o animal é criado em ambiente com boas condições sanitárias, somado a uma dieta equilibrada e que atenda suas exigências nutricionais, portanto, com condições necessárias para expressar o máximo a sua genética para deposição proteica é questionável a necessidade do uso de qualquer aditivo promotor do crescimento. O rendimento de carçaça além dos outros parâmetros produtivos é de grande relevância comercial, melhorias nestes parâmetros trazem um grande acréscimo financeiro à cadeia produtiva.

A utilização de qualquer aditivo promotor de crescimento deve ser avaliada conforme as condições sanitárias do plantel. Em situações de controle sanitário, o uso desses produtos pode ser dispensável, por outro lado em situações de desafio sanitário, diferentes doses e combinações de probióticos devem ser estudadas devido às suas diversas vantagens que podem trazer para a cadeia produtiva. Outro fator importante é a composição do probiótico. Produtos com maior número de cepas podem ter maior influência do que monocomponentes, uma vez que agem em diferentes sítios e têm mecanismo de ação distintos, resultando em efeitos sinérgicos (KLOSE et al., 2006, ADHIKARI & KIM, 2017).

Ainda, em relação a cepa que compõe o probiótico, deve ter condições de permanecer no ecossistema intestinal para que o hospedeiro animal seja beneficiado pelo seu uso. Porém, uma das razões para a ineficácia pode residir na escolha de bactérias probióticas que quando incorporadas à ração, eventualmente, revelam baixo potencial de sobrevivência durante o tempo de exposição no comedouro e/ou no armazenamento do produto (LIMA et al., 2003). Por outro lado, a opção por estirpes benéficas formadoras de esporos pode ser a melhor solução natural para o desafio da estabilidade de produtos microbianos suplementados nas dietas (EZEMA, 2013). Entretanto, como esses agentes não colonizam o intestino e não se fixam como habitantes normais da microbiota intestinal, sendo apenas agentes transitórios do trato digestivo, como por exemplo o *Bacillus subtilis*, devem ser administrados em concentrações adequadas e até o abate, pois a suspensão do produto permite que a microbiota intestinal apresente, em pouco tempo, as mesmas características apresentadas antes do fornecimento do probiótico.

Alguns estudos têm revelado efeitos associados quando utilizados em combinação, probióticos e prebióticos. Foi observado melhor resposta dos frangos frente ao estresse por calor (SOHAIL et al., 2012), melhor desempenho produtivo (Mookiah et al., 2014), aumento na produção de ácido láctico e eliminação de patógenos como o *Clostridium* (ABUDABOS et al., 2015) e na morfometria intestinal (WANG et al., 2016).

Destaca-se que a via de administração dos probióticos determina uma melhor ou pior capacidade de colonização intestinal pelas bactérias presentes do produto utilizado. Segundo Stavric (1992), a inoculação direta no esôfago/inglúvio (intra-esofagiana) é a mais eficiente. Entretanto, em condições de campo, devido à necessidade de aplicação em massa, métodos de administração através da água de

bebida ou pulverização são os mais indicados (SCHNEITZ, 1992). A aplicação através de água de bebida não garante que todas as aves façam a ingestão da quantidade preconizada diariamente para uma boa colonização do trato gastrointestinal.

Nas condições de tecnificação e criações em alta densidade na avicultura atual, há necessidade de tratar, medicar ou vacinar um elevado número de aves, em curto espaço de tempo e, sem minimizar a qualidade e a viabilidade intrínseca do produto que está se administrando, toda e qualquer via de aplicação em massa é sempre desejável, especialmente se estiver associada à manutenção da efetividade do produto envolvido.

Sendo assim, as condições da microbiota intestinal em frangos de corte podem ser alteradas por fatores mais variados possíveis como estresse, enterites, parasitoses, manejo e clima, determinando a exacerbação de microrganismos indesejáveis e um desequilíbrio do meio intestinal com efeitos nocivos na saúde animal e na produção (GARLICH, 1999). Isso reforça a importância de uma boa sanidade, genética, manejo e nutrição para a máxima eficiência dos índices zootécnicos.

4 CONCLUSÃO

A suplementação de probiótico isolado ou associado a um antibiótico melhorador de desempenho não alterou o desempenho produtivo das aves, com exceção da conversão alimentar que foi pior no tratamento antibiótico+probiótico quando comparada ao grupo controle.

O peso absoluto ou relativo da carcaça e dos cortes comerciais não foram influenciados pelos tratamentos.

A deposição de gordura abdominal foi maior nas aves suplementadas com probiótico em comparação às aves que receberam antibiótico.

O uso do probiótico na dieta isolado ou associado a um antibiótico melhorador de desempenho não alterou nenhuma das medidas morfométricas do intestino, assim como a força de ruptura e elasticidade da mucosa do duodeno.

REFERÊNCIAS

- ABPA. Associação Brasileira de Proteína Animal. Disponível em: <<http://abpabr.com.br/noticia/producao-de-carne-de-frango-totaliza-13146-milhoes-de-toneladas-em-2015-1545>> Acesso em 20 de dezembro de 2017.
- ADHIKARI, P.A., KIM, W.K. **Overview of prebiotics and probiotics: focus on performance, gut health and immunity** – a review. *Ann. Anim. Sci.*, Vol. 17, No. 4; p. 949–966, 2017.
- AJUWON, K.M. **Toward a better understanding of mechanisms of probiotics and prebiotics action in poultry species.** *J. Appl. Poult. Res.*, 25: 277–283, 2015.
- AL-ZENKI, S. F. et al. Effects of using a chicken-origin competitive exclusion culture and probiotic cultures on reducing *Salmonella* in broilers. **Journal of Applied Poultry Research**, v.18, p.23-29, 2009.
- APPELT, M.D.; NUNES, R.V.; POZZA, P.C. et al. Níveis de probiótico em rações de origem animal e vegetal para frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.4, p.765-771, 2010.
- AWAD, W, A, et al. Effects of dietary inclusion of probiotic and symbiotic on growth performance, organ weights and intestinal histomorphology of broiler chickens. **Poultry Science**, Savoy. V. 88; p. 49-55. 2009
- BAI, S.P., WU A.M., DING, X.M., Lei Y., Bai J., Zhang K.Y., Chio J.S. Effects of probiotic-supplemented diets on growth performance and intestinal immune characteristics of broiler chickens. **Poultry Sci.**, 92: 663–670, 2013.
- BEÇAK WPJ. **Técnicas de citologia e histologia.** Rio de Janeiro: Editora Livros Técnicos e Científicos S.A., 1976.
- BITTERNCOURT, LETÍCIA CARDOSO, SILVA, CLAUDIA CASSIMIRA da, GARCIA, PAULA DUARTE SILVA RANGEL, DONATO, DANIELLA CAROLINA ZANARDO, ALBUQUERQUE, RICARDO de, & ARAÚJO, LÚCIO FRANCELINO. (2011). Influence of a probiotic on broiler performance. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 40(12), 2739-2743.
- BOLELI, I.C.; MAIORKA, A.; MACARI, M. Estrutura funcional do trato digestório. In: MACARI, M.; FURLAN, R.L.; GONZALES, E. (Ed.). **Fisiologia Aviária aplicada a frangos de corte.** 2 ed. Jaboticabal: FUNEP/UNESP, p.75-95, 2002.
- BORATTO, A. J, LOPES, D. C, OLIVEIRA, R. F. M, ALBINO, L. F. T, SÁ, L. M, OLIVEIRA, G. A. Uso de antibiótico, de probiótico e de homeopatia em frangos de corte criados em ambiente de conforto, inoculados ou não com *Escherichia coli*. **Revista Brasileira de Zootecnia.** 2004;33(6):1477-1485.
- BRISBIN J.T., GONG J., OROUJI, S., ESUFALI J., MALLICK A.I., PARVIZI, P., SHEWEN,P.E., SHAHARIF, S. (2011). Oral treatment of chickens with lactobacilli influences elicitation of immune responses. **Clinic. Vacc. Immunol.**, 18: 1447–1455.

COGLIANI, C., H. GOOSSES, and C. GREKO. Restricting Antimicrobial Use in Fod Animals: Lessons from Europe. **Microbe** 6, p. 274-279, 2011.

CUKROWSKA, B., LODINOVA – Z a dnikova, R., ENDERS, C., SONNENBORN, U., SCHULZE, J. and TLASKALOVA, H. (2002) Specific proliferative and antibody responses of premature infants to intestinal colonization with nonpathogenic probiotic *E. coli* strain Nissle 1917. **Scand J Immunol** 55, 204– 209.

COUNCIL OF THE EUROPEAN UNION. Council regulation on the authorization of the additive avilamycin in feedingst. Disponível em: <http://register.consi-> **Alternativas ao uso de antibióticos como promotores de crescimento para frangos de corte** acesso em 10 janeiro de 2018.

DIONIZIO, M. A. et al. Prebióticos como promotores de crescimento para frangos de corte-desempenho e rendimento de carcaça, **Ciência e Agroecologia**. Lavras. Edição especial. P. 1580-1587. Dezembro de 2002.

ESTRADA, A. et al. Administration of *Bifidobacterium bifidum* to chicken broilers reduces the number of carcass condemnations for cellulitis at the abattoir. **Journal of Applied Poultry Research**, v.10, n.4, p.329-334, 2001.

FERNANDEZ, J.; CRESPO, N. New avances in the application of probiotics. **International Pig Topics**, Driffield, v. 18, n. 7, p. 11-13, 2003.

FERNANDES, B. C. S, MARTINS, M. R. F. B, MENDES, A. A, MILBRADT, E. L, S ANFELICE, C, MARTINS, B. B, AGUIAR, E. F, & BRESNE, C. (2014). Intestinal integrity and performance of broiler chickens fed a probiotic, a prebiotic, or an organic acid. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, 16(4), 417-424.

FRANCO, L.G. **Integridade intestinal na avicultura**. Alliance, 2011.

FRANCO, S.S.; ROSA, A.P.; LENGLER, S.; UTTPATEL, R.; ZANELLA, I.; GRESSLER, C.; SOUZA, H.M. Índices produtivos e rendimento de carcaça de frangos de corte alimentados com dietas contendo níveis de extrato etanólico de própolis ou promotores de crescimento convencionais. **Ciência Rural**, v.37, n.6, p.1765-1771, 2007.

FURLAN, R. L.; MACARI, M. e LUQUETTI, B. C. Como avaliar os efeitos do uso de prebióticos, probióticos e flora de exclusão competitiva. In: SIMPÓSIO TÉCNICO DE INCUBAÇÃO, MATRIZES DE CORTE E NUTRIÇÃO. 5, 2004, Balneário Camboriú/Santa Catarina. **Anais...** Balneário Camboriú/SC. 2004. P. 06-28.

GARLICH, J.D. Microbiologia do tracto intestinalaviar. In: CONGRESSO LATINOAMERICANO DE AVICULTURA. 16., 1999, Lima. **Anais...** Lima: 1999. p. 110-120.

GASKINS, H. R. 2001. Intestinal bacteria and the influence on swine growth. **Swine Nutrition**. (Ed. A.J. Lewis and L.L. Southern) CRC Press, New York. 583-606.

HENRIQUE, A.P.F., FARIA, D.E., NETO, R.F. et al. **Uso de probióticos e antibióticos como promotores de crescimento para frangos de corte**. In:

CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 1997, São Paulo.

JAMEOZ, D. et al. response of broiler chickens to the diets supplemented with feeding antibiotic or mananoligosaccharides. **Eletronic Journal of Polish Agricultural Universities**. 2004

JIN, L.Z., HO, Y.W., ABDULLAH, N. et al. 1997. Probiotics in poultry: modes of action. **World's Poult. Sci. J.**, 53:351-368.

JUNQUEIRA, O.M. TANAKA, A.H. DALANEZI, J.A. GARCIA, E. A. DUARTE, K.F.DALANEZI, L.M. Antibiótico, probiótico, prebiótico e simbiótico sobre desempenho de frangos de corte de 21 dias de idade. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**,. Campinas, Suplemento 8. p 60, 2006.

KUZMUK, k. N.; SWANSON, K. S.; TAPPENDEN, K. A.; SCHOOK, L. B.; FAHEY, G. C. Diet and age affect intestinal morphology and large bowel fermentative end-product concentrations in senior and young adult dogs. **The Journal of Nutrition**, Rockville Pike, v. 135, n. 8, p. 1940-1945, 2005.

LEE et al. Effects of dried-fed microbials on growth performance, gut morphometry, and immune characteristics in broiler chickens. **Poultry Science**, Savoy. V. 89; p. 203-2016. 2010.

LIMA, A.C.F. 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, p.200-2007, 2003.

LODDI, M. M.; GONZALES, E.; TAKITA, T. S.; MENDES, A. A.; ROÇA, R. O. Uso de probiótico e antibiótico sobre o desempenho, o rendimento e a qualidade de carcaça de frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n. 4, p.1124-1131, 2000.

MAIORKA, A.;BOLELI. I. C. e MACARI. M. Desenvolvimento e reparo da mucosa intestinal, In: **Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte**. MACARI. M.; FURLAN. R. L. e gonzales. E. Jaboticabal: FUNEP/UNESP. 2 Edição. Cap. 08; 375 pág. 2002.

MAIORKA, A.; SANTIN, E.; SUGETA, S.M. et al. Utilização de prebióticos, probióticos ou simbióticos em dieta para frangos. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v.3, n.1, p.75-82, 2001.

MATTAR, A. F., D. H. TEITELBAUM, R. A. DRONGOWSKI, F. YONGY, C. M. HARMON, and A. G. CORAN. 2002. Probiotics up-regulate MUC-2 mucin gene expression in a Caco-2 cell- culture model. **Pediatr. Surq. Int.** 18:586–590.

MC BRIDE, B. W., and KELLY J. M.. 1990. Energy cost of absorption and metabolism in the ruminant gastrointestinal tract and liver: **A review. J. Anim. Sci.** 68:2997–3010.

MENTEN. J.F.M. Probióticos, prébióticos e aditivos fitogênicos na nutrição de aves. In: Simpósio sobre Ingredientes na Alimentação Animal, 2, 2002, Campinas. **Anais: Campinas: Colégio Brasileiro de Nutrição Animal**, p.251-276, 2002.

- MORENO, J.E.G. et al. Adición de dos tipos de probiótico en el agua de bebida de pollos de engorde y su efecto en el comportamiento productivo, metabólico, anatomopatológico e inmunológico. **Expedición Científica y Cultural**, v. 8, 2002.
- MONTZOURIS, K. C. et al. Evaluation of the efficacy of a probiotic containing *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus* and *Pedococcus* strains in promoting broiler performance and modulating cecal microflora composition and metabolic activities. **Poultry Science**, Savoy. V, 86, p.309-317. 2007.
- OLIVEIRA, M.C.; CANCHERINI, L.C.; MARQUES, R.H. et al. Mananoligossacarídeos e complexo enzimático em dietas para frangos de corte **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, n.5, p.879-886, 2009.
- PANDA, A.K. et al. Growth, carcass characteristics, immunocompetence and response to *Escherichia coli* of broilers fed diets with various levels of probiotic. **Archiv Fur Geflügelkunde**, v.64, n.4, p.152-156, 2000.
- PANDA, A.K.; RAO, S.V.R.; RAJU, M.V.L.N. et al. Effect of butyric acid on performance, gastrointestinal tract health and carcass characteristics in broiler chickens. **Asian-Australasian Journal Animal Science**, v.7, p.1026-1031, 2009.
- PATEL, S.G., RAVAL, A.P., BHAGWAT, S.R., SADRASANIYA, D.A., Patel, A.P., Joshi, S.S. Effects of Probiotics Supplementation on Growth Performance, Feed Conversion Ratio and Economics of Broilers. **Journal of Animal Research**: v.5 n.1, p. 155-160, 2015.
- PELICANO et al. Morfometria e ultra-estrutura da mucosa intestinal de frangos de corte alimentados com dietas contendo diferentes probióticos. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**. Lisboa/Portugal. V. 98; n. 547: p. 125-134. 2003.
- 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. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, Campinas, v.6, n.4, p.231-236, 2004.
- PELICANO, E.R.L.; SOUZA, P.A.; SOUZA, H.B.A. et al. Morphometry and ultrastructure of the intestinal mucosa of broilers fed different additives. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v.9, n.3, p.173-180, 2007.
- PROBIÓTICOS EM AVICULTURA (PDF Download Available). Available from: https://www.researchgate.net/publication/26405623_Probioticos_em_avicultura [accessed Feb 09 2018].
- 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.
- RASSCHAERT, G. et al. Impact of the slaughter line contamination on the presence of *Salmonella* on broiler carcasses. **Journal of Applied Microbiology**, v.103, n.2, p.333-341, 2007.

RIBEIRO, A., VOGT, L., CANAL, C., CARDOSO, M., LABRES, R., STRECK, A., BESSA, M. (2007). Effects of prebiotics and probiotics on the colonization and immune response of broiler chickens challenged with *Salmonella enteritidis*. **Rev. Bras. Ciência Avícola**, 9: 193–200.

SILVA W.T.M.; NUNES R.V.; POZZA, P.C. et al. Avaliação de inulina e probiótico para frangos de corte. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, v.33, n.1, p.19-24, 2011.

SIMPOSIO SOBRE INGREDIENTES NA ALIMENTAÇÃO ANIMAL, 2002, Uberlândia. **Anais...**Uberlândia, MG, 2002, p. 251- 276.

SAKOMURA, N.K.; ROSTAGNO, H.S.
. Jaboticabal: Funep, p.283, 2007.

SCHNEITZ, C. Automated droplet application of a competitive exclusion preparation. **Poult. Sci.**, v.71, p.2125–8, 1992.

SILVA, M.A.; PESSOTTI, B.M.S.; ZANINI, S.F; COLNAGO, G.L.; NUNES, L.C.; RODRIGUES, M.R.A; FERREIRA, L. Óleo essencial de aroeira-vermelha como aditivo na ração de frangos de corte. **Ciência Rural**, v.41, n.4, p. 676-681, 2011.

STAVRIC, S. Defined cultures and prospects. **Int. J. Food Microbiol.**, v.15, p.245–63, 1992.

TURNELL, J. R.; FAULKNER, R. D.; HINCH, G. N. Recent advances in Australian broiler litter utilization. **World's Poultry Science Journal Cambridge**, v. 63, p. 223-231, 2007.

WANG, L.; LILBURN, M.; ZHONGTANG, Y. Intestinal Microbiota of Broiler Chickens As Affected by Litter Management Regimens. **Frontiers in Microbiology**, v.7, p.593, 2016.

CAPÍTULO II - IMPACTO DA ADIÇÃO DE ANTIBIÓTICO MELHORADOR DE DESEMPENHO E PROBIÓTICO SOBRE A DIVERSIDADE DA MICROBIOTA INTESTINAL DE FRANGOS DE CORTE

RESUMO

As interações entre a microbiota intestinal e as associações que ocorrem entre esses microrganismos e o hospedeiro podem contribuir para a manutenção da saúde e homeostase da população intestinal e integridade física do intestino das aves. Aditivos dietéticos adicionados à dieta, podem apresentar um grande espectro de ação, principalmente contra as cepas patogênicas, sem alterar a quantidade de bactérias em si, mas seu perfil, diminuindo a diversidade da comunidade como um todo. O objetivo foi avaliar o impacto da adição de antibiótico melhorador de desempenho e probiótico sobre a diversidade da microbiota intestinal de frangos de corte criados sobre cama obtida de aviário comercial com histórico de enterites inespecíficas. O experimento foi realizado no aviário experimental da Universidade Federal do Paraná. Foram utilizados 1800 pintos, de um dia de idade, *Cobb slow*, distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado com quatro tratamentos, nove repetições de 50 aves cada. As dietas experimentais consistiram de: Dieta controle, Dieta controle + probiótico (100 g/ton), Dieta controle + AMD (125 g/ton), e Dieta controle + AMD (125 g/ton), + probiótico (100 g/ton). Através da análise de metagenômica, foi possível esclarecer de modo geral a dinâmica da microbiota encontrada em frangos de corte neste estudo. No presente estudo, os filos identificados, assim como as correspondentes ordens, classes e famílias não apresentaram grande variação em relação aos tratamentos. Entretanto, o gênero *Streptococcus* e *Clostridium* foram mais frequentes no íleo das aves suplementadas com probiótico. Para o ceco, observou-se ocorrência de maior frequência dos gêneros *Lactobacilales*, *Subdoligranulum*, *Gemmiger*, *Streptococcus*, *Blautia* e *Bacterioides*, independentemente da dieta. O gênero *Bacterioides*, foi mais frequente em aves que receberam a dieta controle. As espécies mais prevalentes no íleo das aves foram o *L. aviarius*, *L. helveticus* e *L. salivarius*. A dieta acrescida de probiótico + AMD resultou em maior prevalência do *L. aviarius*, enquanto que a dieta com probiótico reduziu a ocorrência de *L. helveticus*, mas aumentou a frequência do *L. salivarius* em relação à dieta controle. No ceco das aves, as espécies mais frequentes foram *L. helveticus*, *aviarius* e *salivarius*, *Subdoligranulum variable*, *Gemmiger formicilis*, *Blautia glucerasea* e *Streptococcus macedonicus*. As aves que receberam o probiótico na dieta, isolado ou associado ao AMD, apresentaram uma menor ocorrência do *S. macedonicus*. A ocorrência das espécies *Clostridium spiroforme*, *Bacterioides dorei*, *Bacterioides intestinalis*, *Bacterioides uniformis*, *Escherichia coli*, *Bacterioides xylanisolvens*, *Gemmiger formicilis* foram semelhantes entre os tratamentos. Porém, a ocorrência de *Gemmiger formicilis* nas aves suplementadas com probiótico foi cerca do dobro do que observado em outros tratamentos. A microbiota intestinal é influenciada pelos tratamentos de forma inespecífica e sua modulação é variável e dinâmica.

Palavras-chave: antibiótico melhorador de desempenho, *Bacillus subtilis*, desafio sanitário, microbiota intestinal, 16S rDNA.

ABSTRACT

Interactions between intestinal microbiota and associations that occur between these microorganisms and the host may contribute to the maintenance of health and homeostasis of the birds. Dietary additives added to the diet, can present a wide spectrum of action, especially against the pathogenic strains, without changing the amount of bacteria in the gut, but its profile, decreasing the diversity of the community as a whole. The objective was to evaluate the impact of adding antibiotic growth promoter (AGO) and probiotic on the diversity of the intestinal microbiota of broiler raised on litter retrieved from a commercial Aviary with a history of non-specific enteritis. The experiment was conducted in the experimental Aviary at the Federal University of Paraná. 1800 day-old Cobb slow chicks were used, distributed in a completely randomized design with four treatments, 9 reps of 50 birds each. The experimental diets consisted of: control Diet, diet control + probiotic (100 g/ton), control Diet + AGP (125 g/ton), and diet control-AGP (125 g/ton), + probiotic (100 g/ton). Through the analysis of metagenomics, it was possible to clarify overall dynamics of microbiota found in broilers in this study. In the present study, the phyla identified, as well as the corresponding orders, classes and families did not show great variation in relation to treatments. However, the genus *Streptococcus* and *Clostridium* were more frequent in the ileum of birds supplemented with probiotics. In the cecum, observed occurrence of higher frequency of the genera *Lactobacilales*, *Subdoligranulum*, *Gemmiger*, *Streptococcus*, and *Bacterioides Blautia*, regardless of diet. The genus *Bacterioide*, was more common in birds that have received the control diet. The most prevalent species in the ileum of birds were *I. aviarius*, *I. helveticus* and *I. salivarius*. The diet plus probiotic + AMD resulted in increased prevalence of *I. aviarius*, while the probiotic reduced the occurrence of *I. helveticus*, but increased the frequency of *I. salivarius* compared to the control diet. In the cecum of birds, the most frequent species were *I. helveticus*, *aviarius*, and *salvarius*, *Subdoligranulum variable*, *formicilis*, *glucerasea* and *Blautia Gemmiger Streptococcus macedonicus*. The birds that were given the probiotic diet, isolated or associated with AGP, presented a lower occurrence of *s. macedonicus*. The occurrence of *Clostridium spiroforme* species, *Bacteroides dorei*, *Bacteroides intestinalis*, *Bacteroides uniformis*, *Escherichia coli*, *Bacteroides xylanisolvens*, *Gemmiger formicilis* were similar between treatments. However, the occurrence of *Gemminger formicilis* in birds supplemented with probiotic was about twice that observed in other treatments. The intestinal microbiota is influenced by nonspecific way and treatment effects are variable and dynamic.

Key-words: antibiotic performance improver, *Bacillus subtilis*, health challenge, intestinal microbiota, 16S rDNA.

1 INTRODUÇÃO

A interação entre microbiota intestinal e as associações que ocorrem entre esses micro-organismos e o hospedeiro contribuem para a manutenção da saúde, para a homeostase da população intestinal e para a integridade física do intestino do hospedeiro (PEDROSO, 2011). A microbiota é ainda capaz de regular a eficiência absorptiva, a maturação intestinal, a resposta imune, o tempo de permanência do bolo alimentar no trato e o aproveitamento de alguns nutrientes pouco digestíveis pelas enzimas endógenas do animal (AMIT-ROMACH et al., 2004).

Alguns patógenos como *Campylobacter* e *Salmonella* podem ter transmissão vertical da matriz para o pintainho, onde medidas de controle devem ser constantemente adotadas na sanidade do plantel das matrizes e também no controle da biossegurança das granjas (Cox et al., 2012). Sendo assim, a colonização do trato reprodutivo das matrizes deve ser considerada, o que significaria que o ovo fértil poderia ser colonizado antes da postura. Da mesma forma que o trato reprodutivo da fêmea, o sêmen também pode abrigar bactérias (Gast et al., 2013; Guard et al., 2010; Rivoal et al., 2010). Portanto, a diversidade da microbiota do frango de corte pode ser influenciada pela transmissão vertical.

Essa hipótese foi comprovada por Pedrosa et al., (2008), que demonstraram que o intestino de frangos de corte começa a ser colonizado ainda antes do nascimento. Esses autores observaram a existência de microbiota com baixa diversidade no intestino de embriões após o 16º dia de incubação. Logo após a eclosão, grande quantidade de microrganismos já é observada no trato intestinal de pintainhos. Amostras coletadas no momento da chegada dos pintainhos à granja de criação também mostraram que o trato intestinal dos mesmos já estava colonizado (PEDROSO et al., 2005).

A densidade bacteriana do intestino aumenta rapidamente pós-eclosão, sendo que a máxima densidade é verificada com menos de uma semana de vida dos frangos, permanecendo constante pelos 30 dias que se seguem (APAJALAHTI et al., 2004; RINTTILA, 2013). Entretanto, a diversidade das comunidades microbianas no trato gastrointestinal pode ser influenciada continuamente de acordo com a qualidade e composição da água e ração, higiene e manejo das instalações, nível de sanidade assim como pela qualidade do ar e da cama (Lu et al., 2003).

Nesse sentido, tem sido reconhecido que o melhor entendimento das interações entre os micro-organismos, hospedeiro e o alimento ingerido é fundamental para a manutenção da saúde intestinal, crescimento e eficiência alimentar dos frangos de corte (Wei et al., 2013).

Além disso, a microbiota pode ser regulada pelo influxo de nutrientes a partir da dieta, pela taxa de passagem do conteúdo intestinal, nível e atividade de substâncias antimicrobianas (KOUTSOS; ARIAS, 2006). Laparra e Sanz (2010) demonstraram que componentes dietéticos podem se constituir em substrato para diferentes populações microbianas e que as comunidades predominantes podem ser determinadas pela composição dietética.

Aditivos, a exemplo dos antibióticos adicionados à dieta, apresentam um grande espectro de ação, principalmente contra as cepas patogênicas, sem alterar a quantidade de bactérias em si, mas seu perfil (PEDROSO et al., 2006), diminuindo a diversidade da comunidade como um todo (KIM et al., 2011). A ação do antibiótico é diretamente relacionada com a melhoria no desempenho das aves, mas os mecanismos envolvidos permanecem pouco explicados.

Além disso, diante das proibições do uso dos antibióticos, outros produtos modeladores de microbiota estão sendo testados e administrados como forma preventiva.

Para que os probióticos colonizem o trato gastrointestinal, as bactérias precisam encontrar um nicho e interagir com a comunidade já existente. De que forma essa interação irá ocorrer, e quais outras cepas serão beneficiadas ou prejudicadas é difícil prever, pois depende de diversos fatores, como a cepa introduzida, as bactérias presentes no hospedeiro, o status fisiológico do hospedeiro e as condições de desafio no ambiente (PEDROSO et al., 2012).

Uma segunda classe de probióticos que pode ser utilizada não é capaz de colonizar o intestino do hospedeiro, mas compõe a comunidade transiente e, quando dispersa no lúmen, pode produzir bacteriocinas contra cepas patogênicas e outras substâncias benéficas ao hospedeiro. Para selecionar um probiótico é importante considerar sua composição que é fundamental, pois microrganismos que não fazem parte da microbiota normal do hospedeiro devem ser utilizados continuamente, ou eles serão eliminados. Além disso, é importante o uso de um probiótico baseado em uma microbiota inespecífica no incubatório e assim que o animal chegar à granja de criação, quando a microbiota ainda não foi completamente estabelecida e o nicho

intestinal pode não estar colonizado. Muitas vezes, a utilização de um produto bacteriano não é eficiente porque o mesmo não foi utilizado no período adequado, ou foi utilizado por tempo insuficiente (MACARI et al., 2014).

Portanto, existe urgência em identificar alternativas viáveis e assertivas que substituam os antibióticos, ter um melhor entendimento e monitoria do dinamismo do ecossistema microbiano intestinal para desenvolver alternativas ou produtos capazes de modular a microbiota intestinal e melhorar o desempenho ou reduzir os fatores estressantes e controlar doenças entéricas (OVIEDO-RONDÓN, 2009).

Segundo Pedroso et al., (2012), pelo fato das técnicas normais de cultivo limitarem o entendimento do microbioma intestinal, o estudo da ecologia intestinal através de técnicas moleculares é, sem dúvida, eficiente para conhecer e entender o ecossistema intestinal. O uso das técnicas de biologia molecular baseadas no uso do DNA revelam que existe maior complexidade e diversidade do que se imaginava, e permitiu a expansão da perspectiva de estudo da comunidade microbiana, em termos de composição, diversidade e estrutura (WEI et al., 2013).

Diante do exposto, o objetivo do trabalho foi avaliar o impacto da adição de antibiótico melhorador de desempenho e probiótico sobre a diversidade da microbiota intestinal de frangos de corte.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no aviário experimental da Universidade Federal do Paraná (UFPR) – Setor Palotina onde todos os procedimentos com uso de animais neste trabalho foram submetidos à avaliação e aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da UFPR - Setor Palotina (Protocolo 24/2016).

Aves e Dietas Experimentais

Foram utilizados 1800 pintos de corte da linhagem *Cobb Slow*, machos, de um dia de idade, distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado, com 4 tratamentos com 9 repetições de 50 aves por box (15 aves/m²).

As Dietas experimentais consistiram de:

- Dieta experimental 1: Dieta controle;
- Dieta experimental 2: Dieta controle + probiótico;

- Dieta experimental 3: Dieta controle + AMD;
- Dieta experimental 4: Dieta controle + AMD + probiótico;

O AMD utilizado foi a Enramicina na dose de 125 gr/ton de ração (Enramax® - Farmabase Saúde Animal Ltda) e o probiótico (cepa de *Bacillus subtilis*), na dose de 100g/ton de ração (Baymix® Grobig™, Bayer Saúde Animal). O AMD e o probiótico foram adicionados às dietas respectivas, durante todo o período de criação das aves (1 a 42 dias de idade).

Foi utilizada a cama do aviário experimental de experimento anterior a qual foi incorporada a uma cama obtida de aviário comercial com histórico de enterites inespecíficas, visando resultar em desafio sanitário semelhante ao observado em condições comerciais.

O Programa nutricional foi dividido em três fases: inicial (1 – 18 dias idade), crescimento (19 – 35 dias idade) e abate (36 – 42 dias de idade). As rações experimentais, a base de milho e farelo de soja, foram formuladas visando atender as exigências nutricionais das diferentes fases de acordo com as recomendações das agroindústrias locais (TABELA 1).

TABELA 1 - COMPOSIÇÃO PERCENTUAL E CALCULADA DAS DIETAS EXPERIMENTAIS DOS FRANGOS DE CORTE NO PERÍODO INICIAL (1 A 18 DIAS), CRESCIMENTO (19 A 35 DIAS) E ABATE (36 A 42 DIAS)

Ingredientes	Inicial	Creascimento	Abate
Milho	574,50	596,79	609,42
Óleo de Soja	28,00	41,00	46,00
Farelo de Soja (46%)	334,00	301,00	290,00
Farinha de Carne	41,00	40,00	35,00
Calcáreo calcítico	4,40	4,40	4,40
Sal Branco Comum	2,90	2,60	2,90
Bicarbonato de Sódio	1,50	1,00	
DL-Metionina (98%)	3,75	3,50	3,40
L Lisina (50,7%)	3,96	3,84	3,72
Treonina (98%)	0,970	0,980	1,020
L-Valine (96,5%)	0,330	0,370	0,310
Colina (60%)	0,960	0,740	0,600
Salinomicina 12%		0,550	
Maxiban 80/80	0,500		
Caulim ¹	0,225	0,225	0,225
Premix vitamínico mineral ²	3,00	3,00	3,00
Valores calculados			
EM, Kcal/Kg	3.099	3.228	3.279
PB, %	22,527	21,108	20,460
Cálcio, %	0,901	0,879	0,818
P.Disp., %	0,459	0,448	0,419
Lis Dig., %	1,250	1,161	1,120
Met Dig., %	0,665	0,624	0,608
AAS Dig., %	0,963	0,905	0,883
ThrDig., %	0,813	0,766	0,751
Leuc Dig., %	1,662	1,573	1,538
Ile Dig., %	0,851	0,789	0,765
Val Dig., %	0,962	0,905	0,874
Phe Dig., %	0,932	0,869	0,851
Arg Dig., %	1,350	1,253	1,210
Na+K+Cl (MEQ/100g)	245	224	206

¹ Substituído por 100g/ton de AMD (dieta experimental 2), substituído por 150g/ton de probiótico (dieta experimental 2) e substituído por 100g/ton de AMD + 150g/ton de probiótico (dieta experimental 4).

² Nível por kg de premix inicial: Vitamina A (KUI/KG 4,000,00); Vitamina D3(KUI/KG 1,167,000); Vitamina E (UI/KG 10,000,00) Vitamina K3 (mg/kg 1,000,00); Vitamina B1-Tiamina (mg/kg 1,000,00); Vitamina B2 – Riboflavina (mg/kg 2,666,666); Vitamina B6 – Piridoxina (mg/kg 1,667,00); Vitamina B12 – Cianocobalamina (mg/kg 6,666,00); Ácido Pantatênico (mg/kg 6, 000,00) Niacina (mg/kg 13,000,00); Ácido Fólico (mg/kg 833,33); Biotina (mcg/kg 80,000,00); Manganês (ppm 40,000,00); Zinco (ppm 33,333,33); Ferro (ppm 23,333,00); Cobre (ppm 2,666,67); Iodo (ppm 333,33); Selênio (ppm 80,00); Etoxiquina (mg/Kg 22,200,00); Fitase Phyzyme (g/kg 16,667); AXTRA XAP 101 TPT (g/kg 33,333,00).

Nível por kg de premix crescimento: Vitamina A (KUI/KG 3,000,00); Vitamina D3(KUI/KG 1,000,000); Vitamina E (UI/KG 8,333,33) Vitamina K3 (mg/kg 1,000,00); Vitamina B1-Tiamina (mg/kg 800,00); Vitamina B2 – Riboflavina (mg/kg 2,166,667); Vitamina B6 – Piridoxina (mg/kg 1,400,00); Vitamina B12 – Cianocobalamina (mg/kg 5,000,00); Ácido Pantatênico (mg/kg 5,000,00) Niacina (mg/kg 11,666,667); Ácido Fólico (mg/kg 500,00); Biotina (mcg/kg 70,000,00); Manganês (ppm 33,333,00); Zinco (ppm 26,666,00); Ferro (ppm 20,000,00); Cobre (ppm 2,666,67); Iodo (ppm 333,33); Selênio (ppm 80,00); Etoxiquina (mg/Kg 22,200,00); Fitase Phyzyme (g/kg 16,667).

Nível por kg de premix abate: Vitamina A (KUI/KG 2,333,00); Vitamina D3(KUI/KG 834,000); Vitamina E (UI/KG 6,667,000) Vitamina K3 (mg/kg 1,000,00); Vitamina B1-Tiamina (mg/kg 600,00); Vitamina B2 – Riboflavina (mg/kg 1,667,000); Vitamina B6 – Piridoxina (mg/kg 1,167,00); Vitamina B12 – Cianocobalamina (mg/kg 4,000,00); Ácido Pantatênico (mg/kg 4,000,00) Niacina (mg/kg 10,000,000); Ácido Fólico (mg/kg 334,00); Biotina (mcg/kg 66,667,00); Manganês (ppm 33,333,00); Zinco (ppm 26,666,00); Ferro (ppm 20,000,00); Cobre (ppm 2,666,67); Iodo (ppm 333,33); Selênio (ppm 80,00); BHT (mg/Kg 33,333,00); Fitase Phyzyme (g/kg 16,667).

FONTE: A Autora (2018).

Os boxes experimentais têm a dimensão de 1,50 x 2,50, totalizando 3,52 m² de área disponível (descontado o espaço do balde). A temperatura ambiental foi mantida dentro da faixa de conforto térmico por meio de campânulas providas de lâmpadas de aquecimento infravermelho, ventiladores, exaustores e placas de resfriamento controlados por um sistema automatizado.

As aves receberam água e alimento *ad libitum* durante todo o período experimental de 42 dias. Nos primeiros 4 dias, a água foi oferecida em bebedouros infantis e a partir do 5º dia de idade, por meio de bebedouro *nipple*. As aves até os 14 dias de idade receberam 24 horas de luz, em função do sistema de aquecimento (lâmpada halógena de 300W). Após este período receberam 16 horas de luz e 8 horas de escuro diariamente até 21 dias de idade e posteriormente 14 horas de luz e 10 horas de escuro até o final do experimento.

Extração e Sequenciamento do 16S rDNA bacteriano

Aos 42 dias foram sacrificadas duas aves de quatro repetições (8 aves/tratamento) por tratamento para coleta do conteúdo intestinal dos segmentos do íleo e ceco. Imediatamente após o abate, os cecos foram retirados para não ocorrer contaminação com as excretas do íleo. Foi utilizado material esterilizado e com troca de luvas a cada ave coletada. Após a identificação, foram compostos pool das duas amostras da mesma unidade experimental, resultando em 16 amostras de íleo e 16 amostras de ceco para cada tratamento. As amostras foram armazenadas em ultra freezer à -80°C até o momento da extração do 16S rDNA bacteriano. Nestas amostras a microbiota intestinal foi analisada pela extração do material do DNA das amostras do conteúdo intestinal, seguido por amplificação e sequenciamento pela técnica de PCR.

A partir de 1ng de DNA, foi realizada a amplificação com os primers específicos da região V3-V4 do rRNA 16S, 341F (CCTACGGGGRSGCAGCAG) e 806R (GGACTACHVGGGTWTCTAAT) (TABELA 2), na concentração de 0,2uM. O preparo das bibliotecas de sequenciamento ocorreu de acordo com tecnologia proprietária da Neopropecta Microbiome Technologies e o sequenciamento realizado pela plataforma MiSeq (Illumina).

TABELA 2 - CARACTERÍSTICAS DOS PRIMERS UTILIZADOS NESTE ESTUDO.

Primer	Sequência	Referência
341F	CCTACGGGRRSGCAGCAG	Wang e Qian (2009)
806R	GGACTACHVGGGTWTCTAAT	Caporaso et al. (2012)

FONTE: A Autora (2018).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em estudos conduzidos por Oviedo-Rondón (2009), a primeira linha de defesa contra patógenos é a microbiota normal do intestino. Muitas bactérias comensais produzem ácidos orgânicos, incluindo os ácidos láctico, propiônico e butírico, bem como bacteriocinas que possuem efeito contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas.

Podem pertencer ao microbioma intestinal as bactérias categorizadas como comensais ou patogênicas. Ambas as populações podem ser afetadas por uma série de fatores, tais como, manejo da cama, dieta, instalações, biossegurança e aditivos alimentares.

A proibição na utilização de AMD tornou desafiadora a compreensão da microbiota intestinal e a possibilidade de sua modulação, contribuindo para que novos estudos com aditivos alternativos capazes de substituir os AMP sejam realizados.

O surgimento das técnicas moleculares, empregada em diversos estudos, possibilitou uma melhor caracterização e identificação da microbiota intestinal (PEDROSO, 2011), e a partir daí o dogma de que a ave recém eclodida era livre de microrganismos foi quebrado. Pedroso et al., (2005) estudaram por meio de técnicas de PCR, intestinos de pintos de um dia, antes da chegada a granja e concluíram que estes já possuem uma abundante e complexa comunidade de bactérias. O embrião pode ser colonizado por via vertical, durante a formação do ovo, onde os microrganismos presentes no aparelho reprodutor da matriz colonizam-no e também pode ocorrer ao ingerir o conteúdo do fluido amniótico a partir do 14º dia de incubação (PEDROSO, 2011). A máxima densidade bacteriana é detectada com menos de uma semana de vida e permanece constante até o final da criação (RINTTILLA e APAJALAHTI, 2013).

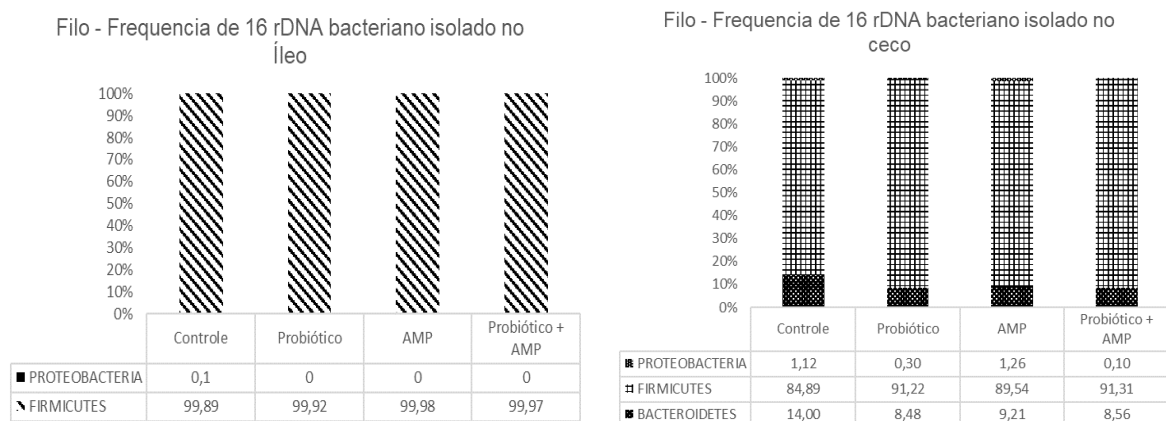
Através da análise de metagenômica, foi possível esclarecer de modo geral a dinâmica da microbiota encontrada em frangos de corte neste estudo.

Os resultados apresentados na figura 1 mostram a frequência dos filos bacterianos encontrados no íleo e ceco. O filo Firmicutes foi o mais frequente no íleo e ceco, 99 e 84%, respectivamente, seguido dos filos Bacteroidetes (10%) e Proteobacteria (- de 1%). O filo Bacteroidetes foi mais frequente quando as aves receberam dieta controle em relação aos demais tratamentos.

Brian et al., (2014), encontraram resultados semelhantes com predominância dos filos Firmicutes, Bacteroides e Proteobacteria respectivamente, no ceco de frangos de corte. A principal característica benéfica das bactérias desse filo é atribuída à capacidade de competição com *Salmonella spp.*, por sítios de ligação no intestino (LOPES, 2012). Além disso, sua maior frequência foi positivamente correlacionada com melhor conversão alimentar e eficiência energética em frangos de corte (SINGH et al., 2012).

A prevalência do filo Firmicutes entre os frangos dos grupos sem e com adição de aditivos mostra-se concordante com os resultados encontrados por Wang et al., (2016). Em relação ao grupo desafiado, submetido ao baixo potencial sanitário da cama de alojamento, os pesquisadores encontraram a maior prevalência do filo Firmicutes tanto no intestino delgado e ceco quanto na análise da cama do aviário. Conforme esses pesquisadores, o percentual encontrado é indicativo de estreita relação existente entre a prevalência dos membros desse filo na microbiota intestinal dos frangos com a microbiota existente na cama.

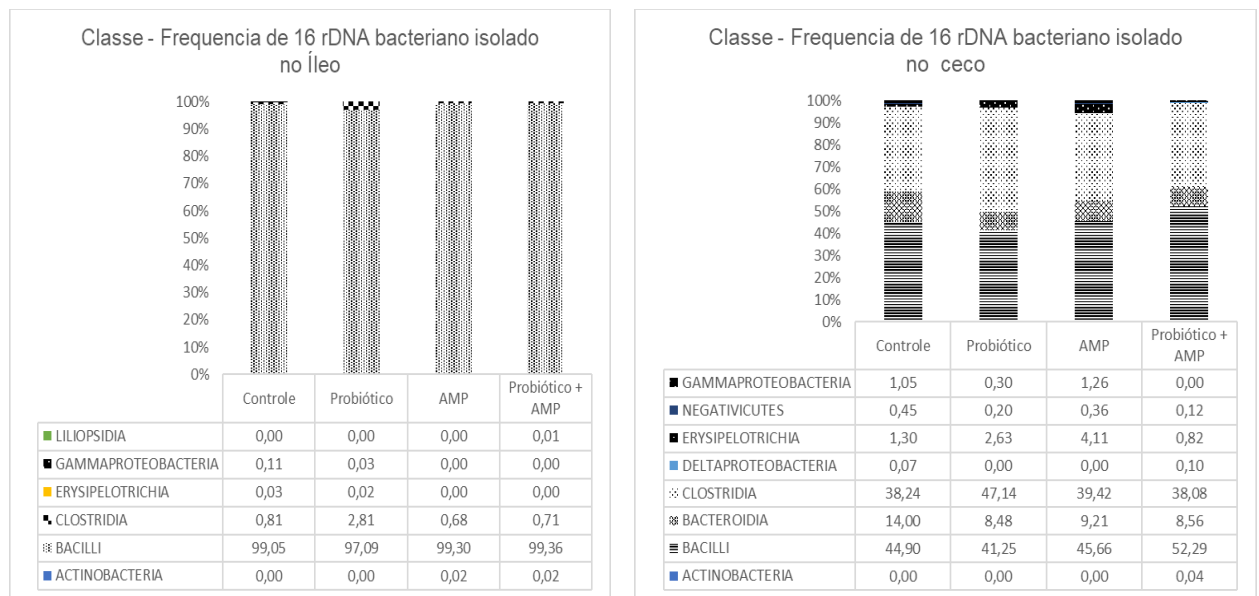
FIGURA 1 - FILO-FREQÜÊNCIA (%) DE 16S rDNA BACTERIANO ISOLADO NO ÍLEO E CECO DE FRANGOS DE CORTE AOS 42 DIAS DE IDADE ALIMENTADOS COM DIETAS ACRESCIDAS DE ANTIBIÓTICO MELHORADOR DE DESEMPENHO (AMD) E PROBIÓTICO ISOLADOS OU ASSOCIADOS.



FONTE: A Autora (2018).

Entre as classes bacterianas, no intestino delgado, íleo, prevaleceu a classe Bacilli, que pertencem ao filo Firmicutes (FIGURA 2). No ceco, a maior prevalência foi para Bacilli seguida da classe Clostridia. Houve maior diversidade de classes de bactérias com variados índices percentuais de Bacteroidia (filo Bacteroides), Gammaproteobacteria (filo Proteobacteria), Clostridia e Erysipelotrichia (filo Firmicutes).

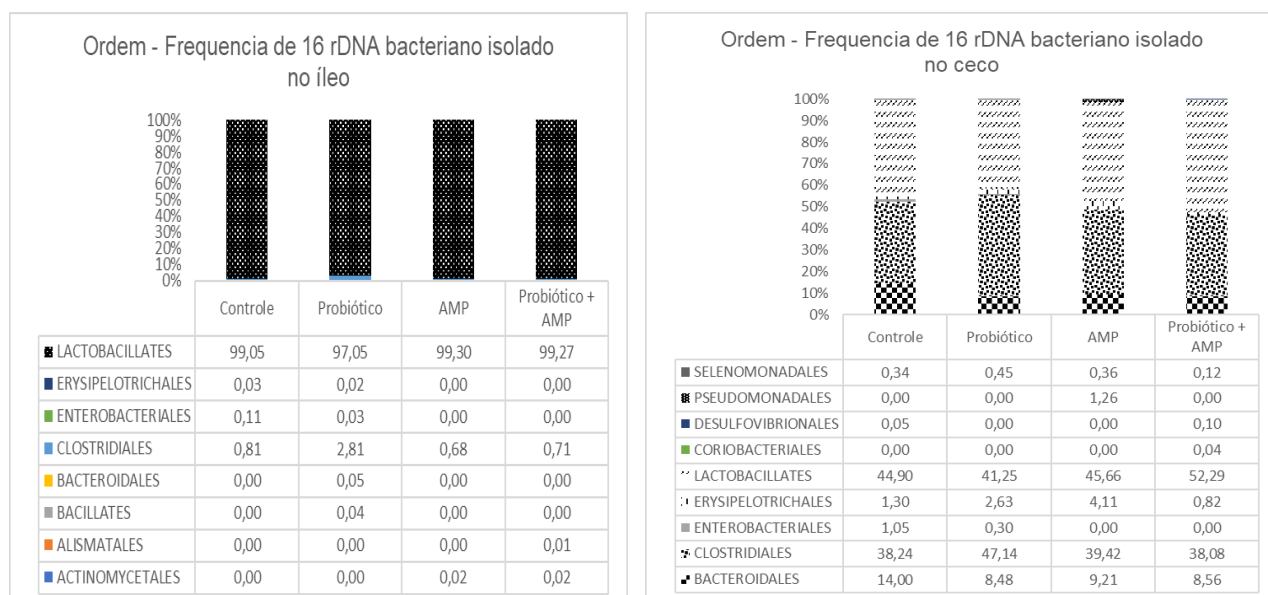
FIGURA 2 - CLASSE-FREQUÊNCIA (%) DE 16S rDNA BACTERIANO ISOLADO NO ÍLEO E CECO DE FRANGOS DE CORTE AOS 42 DIAS DE IDADE ALIMENTADOS COM DIETAS ACRESCIDAS DE ANTIBIÓTICO MELHORADOR DE DESEMPENHO (AMD) E PROBIÓTICO ISOLADOS OU ASSOCIADOS.



FONTE: A Autora (2018).

A ordem Lactobacilates (classe Bacilli) foi a mais prevalente (acima de 97%) no íleo e também no ceco, mas com menor ocorrência. No ceco, as ordens Clostridiales e Bacteroidales foram mais frequentes em relação às demais (FIGURA 3).

FIGURA 3 - ORDEM-FREQÜÊNCIA (%) DE 16S rDNA BACTERIANO ISOLADO NO ÍLEO E CECO DE FRANGOS DE CORTE AOS 42 DIAS DE IDADE ALIMENTADOS COM DIETAS ACRESCIDAS DE ANTIBIÓTICO MELHORADOR DE DESEMPENHO (AMD) E PROBIÓTICO ISOLADOS OU ASSOCIADOS.



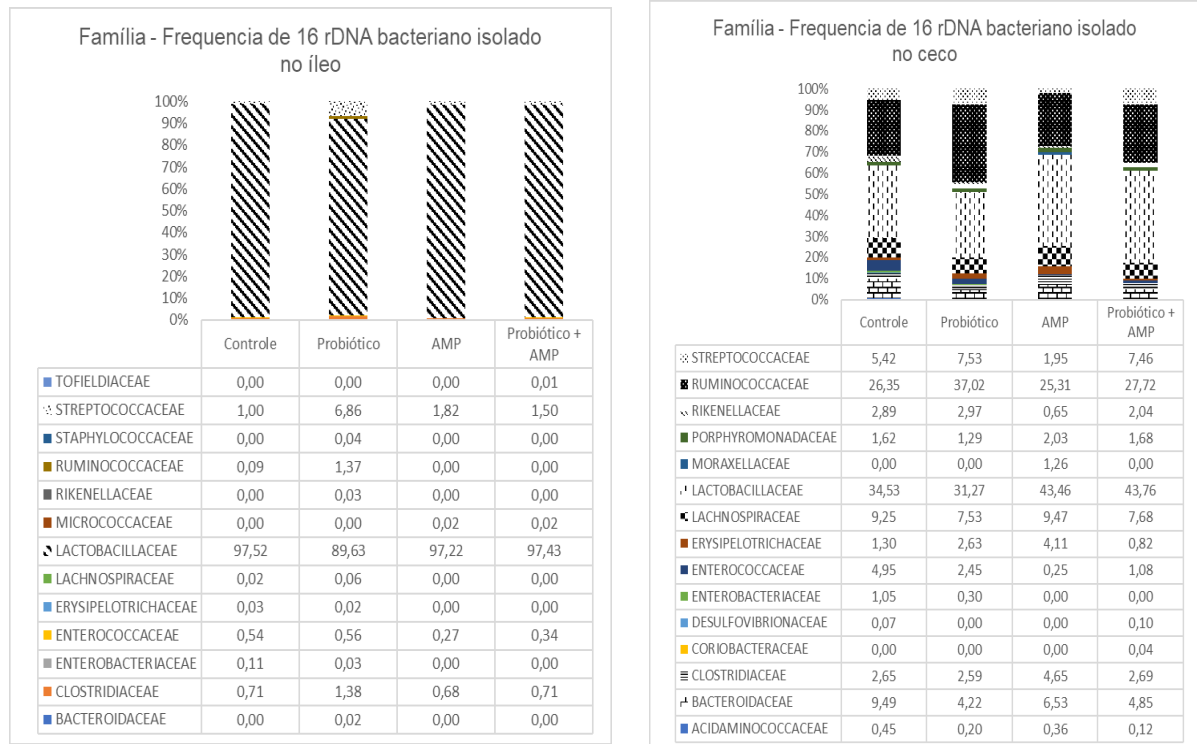
FONTE: A Autora (2018).

A família que prevaleceu na microbiota do íleo foi a *Lactobacillaceae* com mais de 97% de ocorrência. Com exceção da dieta suplementada com probiótico, em que a prevalência foi menor (89%) (FIGURA 4).

No ceco, as famílias identificadas foram: *Lactobacillaceae* e *Streptococcaceae* da ordem *Lactobacilates*, já para a ordem *Clostridiales*, houve uma maior diversidade de famílias identificadas: *Clostridiaceae*, *Ruminococcaceae* e *Lachnospiraceae* em comparação ao intestino. Também foram identificadas as famílias *Rikenellaceae* e *Bacteriaceae* da ordem *Enterobacteriales* (FIGURA 4).

Em relação à classificação filogenética gênero, no íleo (FIGURA 5), houve maior prevalência dos gêneros pertencentes à ordem *Lactobacilales*, cuja identificação das famílias aparece na figura 4. O gênero *Streptococcus* e *Clostridium* foram mais frequentes entre as aves suplementadas com probiótico.

FIGURA 4 - FAMÍLIA-FREQUÊNCIA (%) DE 16S rDNA BACTERIANO ISOLADO NO ÍLEO E CECO DE FRANGOS DE CORTE AOS 42 DIAS DE IDADE ALIMENTADOS COM DIETAS ACRESCIDAS DE ANTIBIÓTIICO MELHORADOR DE DESEMPENHO (AMD) E PROBIÓTIICO ISOLADOS OU ASSOCIADOS.



FONTE: A Autora (2018).

O gênero *Clostridium* é um grupo bastante heterogêneo composto por bactérias Gram-positivas anaeróbicas, formadoras de esporos (PAREDES et al., 2005). A espécie *Clostridium perfringens* é o patógeno mais importante deste gênero para aves por ser responsável pela enterite necrótica, resultando em prejuízos econômicos à avicultura industrial (TIMBERMONT et al., 2011).

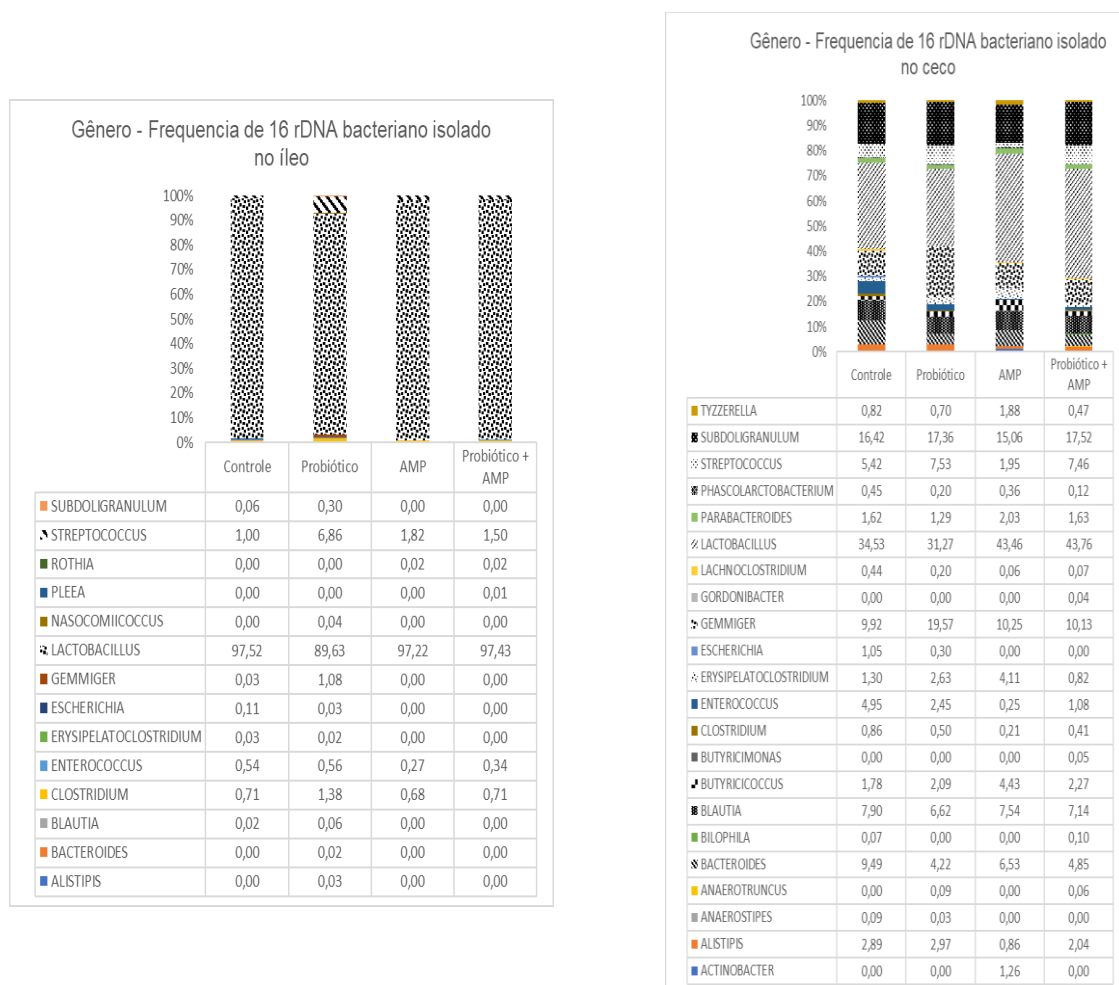
Para o ceco (FIGURA 5), observou-se ocorrência de maior frequência dos gêneros *Lactobacilales*, *Subdoligranulum*, *Gemmiger*, *Streptococcus*, *Blautia* e *Bacterioides*, independentemente da dieta. Bactérias do gênero *Bacterioides*, que foram mais frequentes nas aves que receberam a dieta controle, são capazes de se fixar à camada de muco, secretar enzimas e degradar a mucina, que é uma excelente fonte de nutrientes para algumas bactérias intestinais patogênicas. Dessa forma, a presença deste gênero é importante em episódios de enterite, uma vez que competem pela utilização da mucina (PAN e YU, 2014).

Lu et al., (2003) avaliaram a microbiota de frangos de corte semanalmente dos três aos 49 dias de idade e encontraram uma microbiota intestinal composta de *Lactobacillus* (70%), *Clostridiaceae* (11%), *Streptococcus* (6,5%), *Enterococcus*

(6,5%) e a microbiota dos cecos composta de Clostridiaceae (65%), *Fusobacterium* (14%), *Lactobacillus* (8%), *Bacteroides* (5%) e outros.

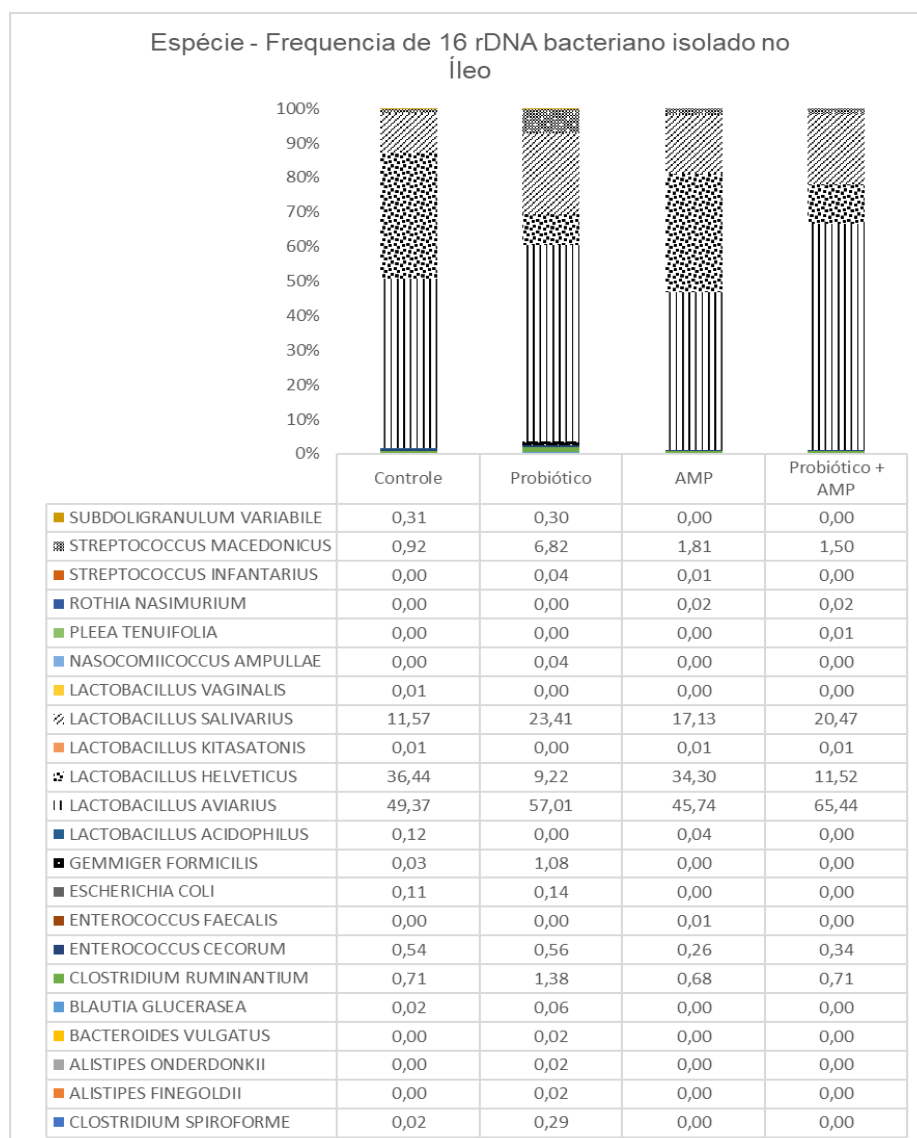
Dentre o gênero *Lactobacillus*, as espécies mais prevalentes no íleo das aves foram o *L. aviarius*, seguido do *L. helveticus* e *L. salivarius*, que variaram de acordo com os tratamentos. A dieta acrescida de probiótico + AMD resultou em maior prevalência do *L. aviarius*, enquanto que a dieta com probiótico reduziu a ocorrência de *L. helveticus*, mas aumentou a frequência do *L. salivarius* em relação à dieta controle (FIGURA 6). MIYAMOTO et al., (2000) isolaram *Lactobacillus salivarius* e realizaram testes “*in vitro*”, comprovando que esses microrganismos têm um efeito protetor contra a colonização de *Salmonella Enteritidis*, além de desempenhar um papel significativo como barreira química contra patógenos (ROJAN et al., 2014).

FIGURA 5 - GÊNERO-FREQÜÊNCIA (%) DE 16S rDNA BACTERIANO ISOLADO NO ÍLEO E CECO DE FRANGOS DE CORTE AOS 42 DIAS DE IDADE ALIMENTADOS COM DIETAS ACRESCIDAS DE ANTIBIÓTICO MELHORADOR DE DESEMPENHO (AMD) E PROBIÓTICO ISOLADOS OU ASSOCIADOS.



FONTE: A Autora (2018).

FIGURA 6 - ESPÉCIE-FREQUÊNCIA (%) DE 16S rDNA BACTERIANO ISOLADO NO ÍLEO DE FRANGOS DE CORTE AOS 42 DIAS DE IDADE ALIMENTADOS COM DIETAS ACRESCIDAS DE ANTIBIÓTICO MELHORADOR DE DESEMPENHO (AMD) E PROBIÓTICO ISOLADOS OU ASSOCIADOS.



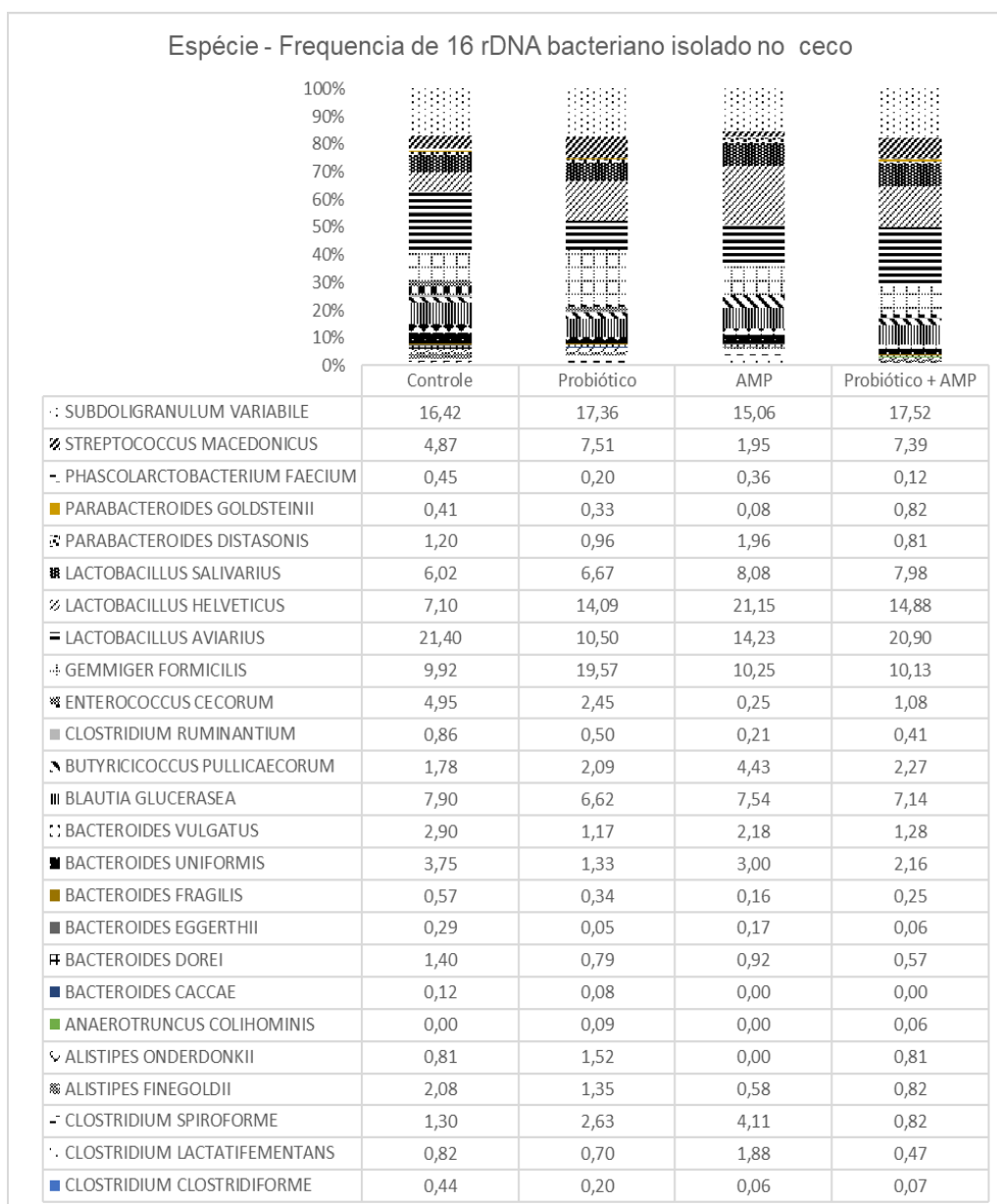
FONTE: A Autora (2018).

A diminuição do *Lactobacillus helveticus* associado ao uso do probiótico pode ser atribuído ao fato dessa bactéria estar diretamente relacionada com a inibição do *Bacillus subtilis* (PAN e YU, 2014), probiótico utilizado no presente estudo.

O aumento no número de *Lactobacillus* está associado com melhor saúde intestinal. Entretanto, Torok et al., (2011) verificaram que a presença de três espécies de *Lactobacillus* (*L. salivarius*, *L. aviarius* e *L. crispatus*) no íleo de frangos que foram associadas ao pior desempenho, assim como Peinado et al., (2013), que observaram melhor desempenho das aves com a diminuição do gênero *Lactobacillus*.

No ceco das aves, as espécies mais frequentes foram *L. helveticus*, *aviarius* e *salvarius*, *Subdoligranulum variable*, *Gemmiger formicilis*, *Blautia glucerasea* e *Streptococcus macedonicus*. As aves que receberam o probiótico na dieta, isolado ou associado ao AMD, apresentaram uma menor ocorrência do *S. macedonicus* (FIGURA 7).

FIGURA 7 - ESPÉCIE-FREQUÊNCIA (%) DE 16S rDNA BACTERIANO ISOLADO NO CECO DE FRANGOS DE CORTE AOS 42 DIAS DE IDADE ALIMENTADOS COM DIETAS ACRESCIDAS DE ANTIBIÓTICO MELHORADOR DE DESEMPENHO (AMD) E PROBIÓTICO ISOLADOS OU ASSOCIADOS.



FONTE: A Autora (2018).

Organismos pertencentes ao gênero *Bacteroides* também podem ser um importante agente patogênico, principalmente quando há condições predisponentes, como lesão na mucosa intestinal (HAMPSON et al., 2010). As espécies *Clostridium spiroforme*, *Bacteroides dorei*, *Bacteroides intestinalis*, *Bacteroides uniformis*, *Escherichia coli*, *Bacteroides xylanisolvens*, *Gemmiger formicilis* estão associadas a problemas intestinais em frangos de corte. A ocorrência dessas bactérias foram semelhantes entre os tratamentos. Porém, a ocorrência de *Gemmiger formicilis* nas aves suplementadas com probiótico foi cerca do dobro do que observado em outros tratamentos.

A espécie *Subdoligranulum variabile* constitui fração relevante na composição da comunidade bacteriana cecal em frangos de corte. Lund et al., (2010) e Wang et al., (2016) mencionam que o ambiente de alojamento dos frangos na granja desempenha relevante papel no recrutamento e desenvolvimento dessas bactérias na microbiota cecal, o que, em hipótese, explicaria frequência semelhante da *Subdoligranulum variabile* nas excretas das aves, já que todas as aves foram alojadas sobre cama reutilizada e associada com quadros de enterites inespecíficas em aviário comercial. Por outro lado, algumas espécies do gênero *Subdoligranulum* são produtoras de butirato, que é anti-inflamatório natural presente no intestino das aves.

Nesse mesmo sentido, Wang et al., (2016) investigaram a população bacteriana intestinal em frangos de corte submetidos ao desafio sanitário com reutilização da cama do aviário. Os pesquisadores observaram que a população da microbiota presente na mucosa ileal e cecal dos frangos e nas amostras da cama de alojamento diferia percentualmente. A composição dessa microbiota, basicamente, era constituída por *Bacteroides fragilis*, *Bhtyricococcus pullicaecorum*, *Streptococcus cecorum*, *Faecalibacterium prusnitzii*, *Lactobacillus coleohominis*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus salivarius*, *Lactobacillus vaginalis*, *Staphylococcus sciuri*, *Streptococcus alactolyticus* e *Subdoligranulum variabile*. Em termos de filogenia, a composição da população bacteriana encontrada pelos pesquisadores não é semelhante a observada no presente experimento.

Molnár et al., (2011) relataram que a suplementação dietética com probiótico a base de esporos de *Bacillus subtilis* diminuiu significativamente a população de *Escherichia coli* no íleo de frangos de corte, evitando assim quadros clínicos de enterites. No presente estudo, apesar do uso de probiótico com a mesma cepa

relatada por esses pesquisadores, não foi observada nenhuma associação da ocorrência com o uso do probiótico.

Sen et al (2012) concluíram que o uso de *Bacillus subtilis* como promotor de crescimento em dietas de frangos de corte pode melhorar o equilíbrio microbiano intestinal e, em consequência, a saúde intestinal das aves. Mookiah et al (2014) indicaram que prebióticos e probiótico e suas combinações foram eficazes para promover melhoria no desempenho de frango de corte, principalmente, motivada pelo aumento das bactérias cecais benéficas.

Trabalhos de pesquisa são necessários a fim de identificar grupos de bactérias potencialmente associadas ao desempenho do crescimento de frangos de corte para determinar se estas bactérias são a causa ou a consequência das variações na eficiência de utilização dos alimentos.

A microbiota do intestino é atualmente reconhecida como um componente essencial do ecossistema intestinal e é referida como um “órgão esquecido” (PAN e YU, 2014). Portanto, a manipulação da microbiota intestinal por meio de intervenções dietéticas e gerenciais deve ser utilizada para melhorar o crescimento das aves e reduzir a incidência de doenças.

4 CONCLUSÃO

A utilização de probiótico contendo *Bacillus subtilis* de forma contínua na ração, assim como o uso de um AMD resultou em mudanças no perfil da microbiota, entretanto, sem resultar em desequilíbrio ou favorecimento de comunidades específicas de bactérias.

O desafio sanitário representado pela cama obtida de aviário comercial com histórico de enterites inespecíficas pode ter impactado mais a diversidade e ocorrência da microbiota do que propriamente a inclusão dos aditivos na dieta. O que comprova a estreita relação existente entre a microbiota intestinal dos frangos com a microbiota da cama.

Desta forma, mais trabalhos de pesquisa são necessários a fim de identificar grupos de bactérias potencialmente associadas ao desempenho do crescimento de frangos de corte para determinar se estas bactérias são a causa ou a consequência das variações na eficiência de utilização dos alimentos.

REFERÊNCIAS

- ABPA. Associação Brasileira de Proteína Animal. Disponível em: <<http://abpabr.com.br/noticia/producao-de-carne-de-frango-totaliza-13146-milhoes-de-toneladas-em-2015-1545>> Acesso em 20 de dezembro de 2017.
- ANDREATTI FILHO, R. L. Alimentos funcionais na produção avícola. IN: ANDREATTI FILHO, R. L. **Saúde aviária e doenças**. Ed. Rocca Ltda, São Paulo, cap. 6, p. 41-51, 2007.
- AMIT-ROMACH, E.; SKLAN, D.; UNI, Z. Microflora ecology of chicken intestine using 16S ribosomal DNA primers. **Poultry Science**, Champaign, v. 83, p. 1093-1098, 2004.
- APAJALAHTI, J.; KETTUNEN, A.; GRAHAM, H. Characteristics of the gastrointestinal microbial communities, with special reference to the chicken. **World's Poultry Science Journal**, Amsterdam, v. 60, p. 223-232, 2004.
- APAJALAHTI, J. H. A., KETTUNEN, A., M. R. BEDFORD., W.E. HOLBEN. Percent g+c profiling accurately reveals diet-related differences in the gastrointestinal microbial community of broiler chickens. **Applied and Environmental Microbiology**. Missoula, v. 67, n. 12, p. 5656 – 5667, 2001.
- BARNES, E.M.; MEAD, G.C.; BARMUN, D.A.; HARRY, E.G. The intestinal flora of the chicken in the period 2 to 6 weeks of age, with particular reference to the anaerobic bacteria. **British Poultry Science**, Edinburgh, v. 13, p. 311-326, 1972.
- BOLELI, I. C., MAIORKA, A., MACARI, M. Estrutura funcional do trato digestório. IN: MACARI, M.; FURLAN, R. L.; GONZALES, E. **Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte**. 2º edição, Ed. Funep, Jaboticabal, 2008, cap. 5, p. 75-95.
- BURKHOLDER, K.M.; THOMPSON, K.L.; EINSTEIN, M.E.; APPLGATE, T.J.; PATTERSON, J.A. Influence of Stressors on Normal Intestinal Microbiota, Intestinal Morphology, and Susceptibility to *Salmonella Enteritidis* Colonization in Broilers. **Poultry Science**, v.87, n.9, p.1734-1741, 2008.
- CAPORASO, J.G.; LAUBER, C.L.; WALTERS, W.A.; BERG-LYONS, D.; HUNTLEY, A.; FIERER, N. OWENS, M. S.; BETLEY, J.; FRASER, L.; BAUER, A.; GORMLEY, N.; GILBERT, J.A.; SMITH, G.; KNIGHT, R. Ultra-high-throughput microbial community analysis on the Illumina HiSeq and MiSeq platforms. **The ISME Journal**, V. 6, N.8, P. 1621–1624. 2012.
- COX, N.A. et al. Evidence for horizontal and vertical transmission in *Campylobacter* passage from hen to her progeny. **Journal of Food Protection**, 75:1896-1902, 2012.
- DUMONCEAUX, T.J.; HILL, J.E.; HEMMINGSEN, S.M.; VAN KESSEL, A.G. Characterization of intestinal microbiota and response to dietary virginiamycin supplementation in the broiler chicken. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 72, n. 4, p. 2815-2823, 2006.

ENGBERG, R. M. et al. Effect of zinc bacitracin and salinomycin on intestinal microflora and performance of broilers. **Poultry Science**, 79:1311–1319, 2000.

ENGBERG, R.M.; HEDEMANN, M.S.; STEENFELDT, S.; JENSEN, B.B. Influence of whole wheat and xylanase on broiler performance and microbial composition and activity in the digestive tract. **Poultry Science**, Champaign v. 83, p. 925-938, 2004.

FULLER, R. Probiotics in man and animals. **Journal of Applied Bacteriology**, v.66, n.5, 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: SIMPÓSIO TÉCNICO DE INCUBAÇÃO, MATRIZES DE CORTE E NUTRIÇÃO, 5., Santa Catarina, 2004. **Anais...** Santa Catarina, 2004.

GABRIEL, I.; LESSIRE, M.; MALLET, S.; GUILLOT, J.F. Microflora of the digestive tract: critical factors and consequences for poultry. **World's Poultry Science Journal**, Cambridge, v. 62, p. 499-511, 2006.

GAST, R.K. et al. Colonization of internal organs by *Salmonella enteritidis* in experimentally infected laying hens housed in conventional or enriched cages. **Poultry Science**, 92:468-473, 2013.

GUARD, J. et al. R. Colonization of avian reproductive tract tissues by variant subpopulations of *Salmonella enteritidis*. **Avian Disease**, 54:857- 861, 2010.

GUBAN, J.; KORVER, D.R.; ALLISON, G.E.; TANNOCK, G.W. Relationship of dietary antimicrobial drug administration with broiler performance, decreased population levels of *Lactobacillus salivarius*, and reduced bile salt deconjugation in the ileum of broiler chickens. **Poultry Science**, Champaign, v. 85, n. 12, p. 2186-2194, 2006.

KAUR, I.P. et al. Probiotics: potential pharmaceutical applications. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.15, p.1–9, 2002.

KISIELINSKI, K.; WILLIS, S.; PRESCHER, A. et al. A simple new method to calculate small intestine absorptive surface in the rat. **Clin. Exp. Med.**, v.2, p.131-135, 2002.

KNARREBORG, A. et al. Effects of dietary fat source and subtherapeutic levels of antibiotic on the bacterial community in the ileum of broiler chickens at various ages. **Applied and Environmental Microbiology**, 68:5918–5924, 2002.

KNARREBORG, A.; SIMON, M.A.; ENGBERG, R.M.; JENSEN, B.B.; TANNOCK, G.W. Effects of dietary fat source and subtherapeutic levels of antibiotic on the bacterial community in the ileum of broiler chickens at various ages. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 68, n. 12, p. 5918–5924, 2002.

KOUTSOS, E.A.; ARIAS, V.J. Intestinal ecology: interactions among the gastrointestinal tract, nutrition and the microflora. **Journal Applied Poultry Research**, Champaign, v. 15, p. 161-173, 2006.

LAN, Y., VERSTEGEN, M.W.A., TAMMINGA, S., WILLIAMS, B.A. The role of the commensal gut microbial community in broiler chickens. **World's Poultry Science Journal**. Cambridge, vol. 61, n. 01, p. 95-104, 2005.

LAPARRA, J.M.; SANZ, Y. Interactions of gut microbiota with functional food components and nutraceuticals. **Pharmacological Research**, Philadelphia, v. 61, n. 3, p. 219-225, 2010.

LU, J. et al. Diversity and succession of the intestinal bacterial community of the maturing broiler chicken. **Applied and Environmental Microbiology**, 69:6816-6824, 2003. Mack *et al.* Probiotics inhibit enteropathogenic

LUND, M.; BJERRUM, L.; PEDERSEN, K.. Quantification of *Faecalibacterium prausnitzii*-and *Subdoligranulum variabile*-like bacteria in the cecum of chickens by real-time PCR. **Poultry Science**, v. 89, n. 6, p. 1217-24, 2010.

MACARI, M.; PEDROSO, A. A; LUNEDO, R; Produção de Frangos de Corte, **Microbiota intestinal de aves**, p. 4-18, 2014.

MOLNÁR, A. K. et al. Effect of different concentrations of *Bacillus subtilis* on growth performance, carcass quality, gut microflora and immune response of broiler chickens. **British Poultry Science**, v. 52, n. 6, p. 658-65, 2011.

OAKLEY, B.B.; LILLEHOJ, H.S.; KOGUT, M.H.; KIN, W.K.; MAURER, J.J.; PEDROSO, A.; LEE, M.D.; COLLET, S.T.; JOHNSON, T.J.; COX, N.A. The chicken gastrointestinal microbiome. **FEMS Microbiology Letters**, Oxford, v. 360, p. 100-112, 2014.

OVIEDO-RONDON, E.O. Molecular methods to evaluate effects of feed additives and nutrients in poultry gut microflora. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 38, p. 209-225, 2009.

PAN, D.; YU, Z. Intestinal microbiome of poultry and its interaction with host and diet. **Gut Microbes**, v. 5, n. 1, p. 108-19, 2014.

PAREDES, C. J.; ALSAKER, K. V.; PAPOUTSAKIS, E.T. A comparative genomic view of clostridial sporulation and physiology. **Nature Reviews. Microbiology**, London, v. 3, n. 12, p. 969-78, 2005

PEDROSO, A.A.; MAURER, J.; CHENG, Y.; LEE, M. D. Remodeling the intestinal ecosystem toward better performance and intestinal health. **Journal Applied Poultry Research**, Champaign, v. 21, p. 432-443, 2012.

PEDROSO, A.A. Microbiota do trato digestório: transição do embrião ao abate. In: CONFERÊNCIA FACTA, 2011, Santos. **Anais...** Campinas: Facta, 2011. p. 123-130.

PEDROSO, A.A. et al. Embryonic chicks may possess an intestinal bacterial community within the egg. In: General Meeting American Society for Microbiology, 108., **Abstracts...** Washington: American Society for Microbiology, 2008. Abstract N-068.

PEDROSO, A.A. et al. Intestinal bacterial community and growth performance of chickens fed diets containing antibiotics. **Poultry Science**, 85:747- 752, 2006.
Pedroso, A.A.

PEDROSO, A.A. et al. The structure of bacterial community in the intestines of newly hatched chicks. **The Journal of Applied Poultry Research**, 14:232-237, 2005.

PEINADO, M.J.; RUIZ, R.; ECHAVARRI, A.; ARANDA-OLMEDO, I.; RUBIO, L.A. Garlic derivative PTS-O modulates intestinal microbiota composition and improves digestibility in growing broiler chickens. **Animal feed Science and Technology**, Philadelphia, v. 181, n. 1/4, p. 87-92, 2013.

RINTTILA, T.; APAJALAHTI, J. Intestinal microbiota and metabolites: implications for broiler chicken health and performance. **Journal Applied Poultry Research**. Champaign, v. 22, n. 3, p. 647-658, 2013.

RIVOAL, K. et al. Detection of *Listeria monocytogenes* in raw and pasteurized liquid whole eggs and characterization by PFGE. **International Journal of Food Microbiology**, 138:56-62, 2010.

SAKOMURA, N.K.; ROSTAGNO, H.S.
. Jaboticabal: Funep, p.283, 2007.

SANTOS, I. I.; CORÇÃO, G.; KESSLER, A. M. D.E; LARANJEIRA, V. S. DOS.; LIMA, M. S. Microbiota ileal de frangos de corte submetidos a diferentes dietas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 41, n. 3, p. 643-647, 2012.

SANTOS Jr., A. A. et al. Change in ileal bacterial population of turkeys fed different diets and after infection with *Salmonella* as determined with denaturing gradient gel electrophoresis of amplified 16S ribosomal DNA. **Poultry Science**, 87:1415-1427, 2008.

SATO R. N., LODDI M. M. & NAKAGHI L. S. O. Uso de antibiótico e/ou probiótico como promotores de crescimento em rações iniciais de frangos. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 4, p. 37, 2002.

SEN, S. et al. Effect of supplementation of *Bacillus subtilis* LS 1-2 to broiler diets on growth performance, nutrient retention, caecal microbiology and small intestinal morphology. **Research in veterinary science**, v. 93, n. 1, p. 264-68, 2012.

TANNOCK, G. W. Studies of the intestinal microflora: a prerequisite for the development of probiotics. **International Dairy Journal**, Barking, v. 8, n. 5-6, p. 527-533, 1998.

TIMBERMONT, L.; HAESBROUCK, F.; DUCATELLE, R.; BAN IMMERSEEL, F. Necrotic enteritis in broilers: an updated review on the pathogenesis. **Avian Pathology**, Houghton, v. 40, n. 4, p. 341-7, 2011.

TOROK, V. A. et al. Identification and characterization of potential performance-related gut microbiotas in broiler chickens across various feeding trials. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 77, n. 17, p. 5868-78, 2011.

TOROK, V.A.; HUGHES, R.J.; MIKKELSEN, L.L.; PEREZ-MALDONADO, R.; BALDING, K.; McALPINE, R.; PERCY, N.J.; OPHEL-KELLER, K. Identification and characterization of potential performance-related gut microbiota in broilers chickens across various feeding trials. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 77, n. 17, p. 5868-5878, 2011.

WEI, C.; MORRISON, M.; YU, Z Bacterial census of poultry intestinal microbiome. **Poultry Science**, Champaign, v. 92, n. 3, p. 671-683, 20

WISE, M.G.; SIRAGUSA, G.R. Quantitative analysis of the intestinal bacterial community in one- to threeweek- old commercially reared broiler chickens fed conventional or antibiotic-free vegetablebased diets. **Journal of Applied Microbiology**, 102:1138-1149, 2007.

WANG, L.; LILBURN, M.; YU, Z. Intestinal microbiota of broiler chickens as affected by litter management regimens. *Frontiers in microbiology*, v. 7, p. 593, 2016.

WANG, Y., QIAN, P. Y. Conservative fragments in bacterial 16S rRNA genes and primer design for 16S ribosomal DNA amplicons in metagenomic studies. **PLoS ONE**. V. 4, n. 10, p. e7401, 2009.

YANG, Y.; IJI, P. A.; CHOST, M. Dietary modulation of gut microflora in broiler chickens: a review of the role of six kinds of alternatives to in-feed antibiotics. **World's Poultry Science Journal**, v.65, n.1, p.97-114, 2009.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A suplementação de probiótico isolado ou associado a um antibiótico melhorador de desempenho não alterou o desempenho produtivo das aves, com exceção da conversão alimentar que foi pior no tratamento antibiótico+probiótico quando comparada ao grupo controle. Observou-se ainda, que o peso absoluto ou relativo da carcaça e dos cortes comerciais não foram influenciados pelos tratamentos. A deposição de gordura abdominal foi maior nas aves suplementadas com probiótico em comparação às aves que receberam antibiótico.

O uso do probiótico na dieta isolado ou associado a um antibiótico melhorador de desempenho não alterou nenhuma das medidas morfometrias do intestino, assim como a força de ruptura e elasticidade da mucosa do duodeno e mais pesquisas são necessárias para um melhor entendimento dos efeitos destes aditivos, principalmente em aves criadas em condições comerciais de desafio sanitário.

A microbiota intestinal é influenciada pelos tratamentos de forma inespecífica e sua modulação é variável e dinâmica. Novos estudos testando probióticos na dieta isolado ou associado a um antibiótico melhorador de desempenho sobre a microbiota de frangos submetidos ao desafio sanitário devem ser realizados para avaliar os diversos e distintos microrganismos.

Em um cenário de proibição do uso de antibióticos como melhoradores de desempenho, surgem como alternativas o uso de aditivos que permitam manipular a microbiota intestinal das aves, em especial trazendo equilíbrio a este complexo ecossistema. Práticas de manejo, de medidas higiênico-sanitárias, instalações mais apropriadas, densidades menores de criações, seleção de ingredientes com melhor qualidade e a manipulação precisa dos níveis nutricionais das dietas devem ser consideradas com seriedade como alternativas para reduzir a queda de produtividade com a retirada dos antibióticos melhoradores de desempenho.

Portanto, aprender a manipular a microbiota intestinal, e mesmo recuperá-la, após episódios de desequilíbrio como nas disbioses, frequentemente nos sistemas de criação atuais, reveste-se de importância fundamental quando se pretende melhorar o desempenho, a qualidade sanitária das aves e a rentabilidade da atividade.

REFERÊNCIAS

- ABPA. Associação Brasileira de Proteína Animal. Disponível em: <[http://abpabr.com.br/noticia/producao-de-carne-de-frango-totaliza-13146 milhoes-de-toneladas em-2015-1545](http://abpabr.com.br/noticia/producao-de-carne-de-frango-totaliza-13146-milhoes-de-toneladas-em-2015-1545)> Acesso em 20 de dezembro de 2017.
- ADHIKARI, P.A., KIM, W.K. **Overview of prebiotics and probiotics: focus on performance, gut health and immunity** – a review. *Ann. Anim. Sci.*, Vol. 17, No. 4; p. 949–966, 2017.
- AJUWON, K.M. **Toward a better understanding of mechanisms of probiotics and prebiotics action in poultry species**. *J. Appl. Poult. Res.*, 25: 277–283, 2015.
- ALBUQUERQUE, R. Antimicrobianos como promotores do crescimento. In: PALERMO NETO, J., SPINOSA, H. S., GORNIK, S. L. **Farmacologia aplicada a avicultura**. Rio de Janeiro: Roca, 2005.
- AL-ZENKI, S. F. et al. Effects of using a chicken-origin competitive exclusion culture and probiotic cultures on reducing *Salmonella* in broilers. **Journal of Applied Poultry Research**, v.18, p.23-29, 2009.
- AMANN, R.L.; LUDWIG, W.; SCHLEIFER, K. Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation. **Microbiological reviews**, v.59, n.1, p.142-169, 1995.
- AMIT-ROMACH, E.; SKLAN, D.; UNI, Z. Microflora ecology of chicken intestine using 16S ribosomal DNA primers. **Poultry Science**, Champaign, v. 83, p. 1093-1098, 2004.
- ANDREATTI FILHO, R. L. Alimentos funcionais na produção avícola. IN: ANDREATTI FILHO, R. L. **Saúde aviária e doenças**. Ed. Rocca Ltda, São Paulo, cap. 6, p. 41-51, 2007.
- APAJALAHTI, J. H. A., KETTUNEN, A., M. R. BEDFORD., W.E. HOLBEN. Percent g+c profiling accurately reveals diet-related differences in the gastrointestinal microbial community of broiler chickens. **Applied and Environmental Microbiology**. Missoula, v. 67, n. 12, p. 5656 – 5667, 2001.
- APAJALAHTI, J.; KETTUNEN, A.; GRAHAM, H. Characteristics of the gastrointestinal microbial communities, with special reference to the chicken. **World's Poultry Science Journal**, Amsterdam, v. 60, p. 223-232, 2004.
- APAJALAHTI, J.H.A.; KETTUNEN, A.; GRAHAM, H. Characteristics of the gastrointestinal microbial communities, with special reference to the chicken. **World's Poultry Science Journal**, v.60, n.2, p.223-232, 2004.
- APPELT, M.D.; NUNES, R.V.; POZZA, P.C. et al. Níveis de probiótico em rações de origem animal e vegetal para frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.4, p.765-771, 2010.
- ARAÚJO, J. A.; SILVA, J. H. V.; AMÂNCIO, A.L.L.; LIMA, M.R.; LIMA, C.B. Uso de aditivos na alimentação de aves. *Acta Veterinaria Brasília*, v.1, n.3, p.69-77, 2007.
- AWAD, W, A, et al. Effects of dietary inclusion of probiotic and symbiotic on growth performance, organ weights and intestinal histomorphology of broiler chickens. **Poultry Science**, Savoy. V. 88; p. 49-55. 2009

- BAI, S.P., WU A.M., DING, X.M., Lei Y., Bai J., Zhang K.Y., Chio J.S. Effects of probiotic-supplemented diets on growth performance and intestinal immune characteristics of broiler chickens. **Poultry Sci.**, 92: 663–670, 2013.
- BARNES, E.M.; MEAD, G.C.; BARMUN, D.A.; HARRY, E.G. The intestinal flora of the chicken in the period 2 to 6 weeks of age, with particular reference to the anaerobic bacteria. **British Poultry Science**, Edinburgh, v. 13, p. 311-326, 1972.
- BEÇAK WPJ. **Técnicas de citologia e histologia**. Rio de Janeiro: Editora Livros Técnicos e Científicos S.A., 1976.
- BERNARDEAU, M.; GUEGUEN, M.; VERNOUX, J.P. In vitro evaluation of probiotic potential of two heat-inactivated Lactobacilli cells for animal feed supplementation. Proceedings of the 20th **IPVS Congress**, Durban, South Africa, 2008.
- BETERCHINI, A.G. **Nutrição de monogástricos**. Editora UFLA. Lavras – MG, 2012.
- BITTERN COURT, LETÍCIA CARDOSO, SILVA, CLAUDIA CASSIMIRA da, GARCIA, PAULA DUARTE SILVA RANGEL, DONATO, DANIELLA CAROLINA ZANARDO, ALBUQUERQUE, RICARDO de, & ARAÚJO, LÚCIO FRANCELINO. (2011). Influence of a probiotic on broiler performance. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 40(12), 2739-2743.
- BOARO, M. **Morfofisiologia do trato intestinal**. In: Conferência apinco de ciência e tecnologia avícolas, p.262-274, Facta: Campinas, 2009.
- BOLELI, I. C., MAIORKA, A., MACARI, M. Estrutura funcional do trato digestório. IN: MACARI, M.; FURLAN, R. L.; GONZALES, E. **Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte**. 2º edição, Ed. Funep, Jaboticabal, 2008, cap. 5, p. 75-95.
- BOLELI, I. C; MAIORKA, A. MAKARI, M.. Estrutra funcional do trato digestório. In: Marcos Macari, Renato Luis Furlan, Elisabeth Gonzales..(Org.). Fisiologia aviária – Aplicada a Frangos de Corte. **Fisiologia Aviária – Aplicada a Frangos de Corte**. 2 ed. Jaboticabal: Fneq , v., p. 75-98, 2008.
- BOLELI, I.C.; MAIORKA, A.; MACARI, M. Estrutura funcional do trato digestório. In: MACARI, M.; FURLAN, R.L.; GONZALES, E. (Ed.). **Fisiologia Aviária aplicada a frangos de corte**. 2 ed. Jaboticabal: FUNEP/UNESP, p.75-95, 2002.
- BORATTO, A. J, LOPES, D. C, OLIVEIRA, R. F. M, ALBINO, L. F. T, SÁ, L. M, OLIVEIRA, G. A. Uso de antibiótico, de probiótico e de homeopatia em frangos de corte criados em ambiente de conforto, inoculados ou não com Escherichia coli. **Revista Brasileira de Zootecnia**. 2004;33(6):1477-1485.
- BOURLLOUX, P.; KOLETZCO, B.; GUARNER, F.; BRAESCO, V. The intestine and its microbiota are partners for the protection of the host: report on the Danone Symposium: “The Intelligent Intestine”, held in Paris, June 14, 2002. **American Journal Clinical Nutrition**; 78:675-83, 2003.
- BRANDT, K. G.; SAMPAIO M.; MIUKI, C. J. **Importância da microbiota intestinal**. *Pediatria (São Paulo)*, v. 28 (2), p. 117-127, 2006.
- BRISBIN J.T., GONG J., OROUJI, S., ESUFALI J., MALLICK A.I., PARVIZI, P., SHEWEN,P.E., SHAHARIF, S. (2011). Oral treatment of chickens with lactobacilli influences elicitation of immune responses. **Clinic. Vacc. Immunol.**, 18: 1447–1455.
- BROCK, T. D.; MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M e PARKER, J. Biology of microorganisms. 7a ed, Prendice-Hall, New Jersey, P.909, 1994.

- BRUGALLI, I. Alimentação alternativa: a utilização de fitoterápicos ou nutracêuticos como moduladores da imunidade e desempenho animal. **Anais do Simposio sobre Manejo e Nutrição de Aves e Suínos**; 2003; Campinas, São Paulo. Brasil. Campinas: CBNA; p.167-182, 2003.
- BURKHOLDER, K.M.; THOMPSON, K.L.; EINSTEIN, M.E.; APPLGATE, T.J.; PATTERSON, J.A. Influence of Stressors on Normal Intestinal Microbiota, Intestinal Morphology, and Susceptibility to *Salmonella Enteritidis* Colonization in Broilers. **Poultry Science**, v.87, n.9, p.1734-1741, 2008.
- BUTAYE, P.; DEVRIESE, L.A.; HAESBROUCK, F. Antimicrobial growth promoters used in animal feed: Effects of less well know antibiotics on Gram positive bacteria. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 16, n.2, p.175-188, 2003.
- CAPORASO, J.G.; LAUBER, C.L.; WALTERS, W.A.; BERG-LYONS, D.; HUNTLEY, A.; FIERER, N. OWENS, M. S.; BETLEY, J.; FRASER, L.; BAUER, A.; GORMLEY, N.; GILBERT, J.A.; SMITH, G.; KNIGHT, R. Ultra-high-throughput microbial community analysis on the Illumina HiSeq and MiSeq platforms. **The ISME Journal**, V. 6, N.8, P. 1621–1624. 2012.
- CHANDER, Y.; GUPTA, S.C.; GOYAL, S.M.; KUMAR, K. Antibiotics: Has the magic gone? **Journal Science Food Agriculture**, v.87, p.739-742, 2007.
- CHEN CC, WALKER WA. **Probiotics and prebiotics**: role in clinical disease states. *Adv Pediatr*. 52(1):77-113, 2005.
- COGLIANI, C., H. GOOSSES, and C. GREKO. Restricting Antimicrobial Use in Fod Animals: Lessons from Europe. **Microbe** 6, p. 274-279, 2011.
- CONSEJO NACIONAL DE INVESTIGACIÓN (NRC, EUA). Crean resistencia los antibióticos? **Industria Avicola**, v.46, n.3, p. 42 - 46, 1999.
- COUNCIL OF THE EUROPEAN UNION. Council regulation on the authorization of the additive avilamycin in feedingst. Disponível em: <http://register.consi-> **Alternativas ao uso de antibióticos como promotores de crescimento para frangos de corte** acesso em 10 janeiro de 2018.
- COX, N.A. et al. Evidence for horizontal and vertical transmission in *Campylobacter* passage from hen to her progeny. **Journal of Food Protection**, 75:1896-1902, 2012.
- CRESSMAN, M.D.; YU, Z.; NELSON, M.C.; MOELLER, S. J.; LILBURN, M. S.; ZERBY, H. N. Interrelations between the Microbiotas in the Litter and in the Intestines of Commercial Broiler Chickens. **Applied and Environmental Microbiology**. Columbus, v. 76, n. 19, p. 6572–6582, 2010.
- CROSS, M.L. Microbes versus microbes: immune signals generated by probiotic *lactobacilli* and their role in protection against microbial pathogens. **FEMS Immunology & Medical Microbiology**, v.34, n.4, p.245-253, 2002.
- CUKROWSKA, B., LODINOVA – Z a dnikova, R., ENDERS, C., SONNENBORN, U., SCHULZE, J. and TLASKALOVA, H. (2002) Specific proliferative and antibody responses of premature infants to intestinal colonization with nonpathogenic probiotic *E. coli* strain Nissle 1917. **Scand J Immunol** 55, 204– 209.
- DELCENSERIE, V.; MARTEL, D.; LAMOUREUX, M.; AMIOT, J.; BOUTIN, Y.; ROY, D. Immunomodulatory effects of probiotics in the intestinal tract. **Current Issues in Molecular Biology**, v. 10, p.37–54, 2008.

- DIBNER, J. J.; RICHARDS, J. D. Antibiotic growth promoters in agriculture: history and mode of action. **Poultry Science**, v. 84, n.4, p.634-643, 2005.
- DIBNER, J. J.; RICHARDS, J. D. The Digestive System: Challenges and Opportunities. **Journal of Applied Poultry Research**, v.13, n,1, p.86–93, 2004.
- DIONIZIO, M. A. et al. Prebióticos como promotores de crescimento para frangos de corte-desempenho e rendimento de carcaça, **Ciência e Agroecologia**. Lavras. Edição especial. P. 1580-1587. Dezembro de 2002.
- DOBROGSZ, W. J.,BLACK, B. L. E CASAS, I.A. **Delivery of viable Lactobacillus reuteri to the gastrointestinal tract of poultry**. Poultry Science, 70, 158, 1991.
- DUMONCEAUX, T.J.; HILL, J.E.; HEMMINGSEN, S.M.; VAN KESSEL, A.G. Characterization of intestinal microbiota and response to dietary virginiamycin supplementation in the broiler chicken. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 72, n. 4, p. 2815-2823, 2006.
- EDENS, F.W. An alternative for antibiotic use in poultry: probiotics. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v.5, n.2, p.75-97, 2003.
- ENGBERG, R. M. et al. Effect of zinc bacitracin and salinomycin on intestinal microflora and performance of broilers. **Poultry Science**, 79:1311–1319, 2000.
- ENGBERG, R.M.; HEDEMANN, M.S.; STEENFELDT, S.; JENSEN, B.B. Influence of whole wheat and xylanase on broiler performance and microbial composition and activity in the digestive tract. **Poultry Science**, Champaign v. 83, p. 925-938, 2004.
- ENGLERT, S. I. **Avicultura**: tudo sobre raças, manejo e nutrição. São Paulo: Agropecuária, 1998.
- EROSCHENKO, V. Atlas of histology: with functional correlations. 11.ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, p.532, 2008.
- ERPELDING, D. L. Promotores de crescimento: ciência vs política. In: Simpósio Internacional Sobre Nutrição de Aves, Campinas, FACTA, 31 de agosto a 01 de setembro de 1999. p.187-197.
- ESTRADA, A. et al. Administration of *Bifidobacterium bifidum* to chicken broilers reduces the number of carcass condemnations for cellulitis at the abattoir. **Journal of Applied Poultry Research**, v.10, n.4, p.329-334, 2001.
- FAO-FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS; WHOWORLD HEALTH ORGANIZATION. **Working Group Report on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food London**, Ontario, Canada, 2002.
- FERNANDES, B. C. S, MARTINS, M. R. F. B, MENDES, A. A, MILBRADT, E. L, S ANFELICE, C, MARTINS, B. B, AGUIAR, E. F, & BRESNE, C. (2014). Intestinal integrity and performance of broiler chickens fed a probiotic, a prebiotic, or an organic acid. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, 16(4), 417-424.
- FERNANDES, P.C.C.; LADEIRA, I.Q.; FERREIRA, C.L.L.F.; et al. Viabilidade do uso de probióticos na alimentação de monogástricos. **Caderno Técnico de Veterinária e Zootecnia**, Minas Gerais, n.31, p 53-71, 2000.
- FERNANDEZ, J.; CRESPO, N. New avances in the application of probiotics. **International Pig Topics**, Driffield, v. 18, n. 7, p. 11-13, 2003.

- FERREIRA, A.P.; ASTOLFI-FERREIRA, C.S. Medidas inespecíficas para o controle bacteriano. In: SIMPÓSIO BRASIL SUL DE AVICULTURA, Chapecó, 2006, **Anais...** Chapecó, p.56-66, 2006.
- FLEMMING, J.S.; FREITAS, R.J.S. Avaliação de efeito de prebiótico (MOS), probióticos (*Bacillus lecheniformes* e *Bacillus subtilis*) e promotor de crescimento na alimentação de frangos de corte. **Archives of Veterinary Science**, Curitiba, v.10, n.2, p.41-47, 2005.
- FRANCO, L.G. **Integridade intestinal na avicultura**. Alliance, 2011.
- FRANCO, S.S.; ROSA, A.P.; LENGLER, S.; UTTPATEL, R.; ZANELLA, I.; GRESSLER, C.; SOUZA, H.M. Índices produtivos e rendimento de carcaça de frangos de corte alimentados com dietas contendo níveis de extrato etanólico de própolis ou promotores de crescimento convencionais. **Ciência Rural**, v.37, n.6, p.1765-1771, 2007.
- FULLER, R. Probiotics in man and animals. **Journal of Applied Bacteriology**, v.66, n.5, p.365-378, 1989.
- FULLER, R. **Probiotics: The Scientific Basis**. 1a ed. London: Chapman end Hall, p. 398, 1992.
- FURLAN, R. L.; MACARI, M. e LUQUETTI, B. C. Como avaliar os efeitos do uso de prebióticos, probióticos e flora de exclusão competitiva. In: SIMPÓSIO TÉCNICO DE INCUBAÇÃO, MATRIZES DE CORTE E NUTRIÇÃO. 5, 2004, Balneário Camboriú/Santa Catarina. **Anais...** Balneário Camboriú/SC. 2004. P. 06-28.
- GABRIEL, I.; LESSIRE, M.; MALLET, S.; GUILLOT, J. F. Microbiota of the digestive tract: critical factors and consequences for poultry. **World's Poultry Science Journal**, v. 62, p. 499-511, 2006.
- GABRIEL, I.; LESSIRE, M.; MALLET, S.; GUILLOT, J.F. Microflora of the digestive tract: critical factors and consequences for poultry. **World's Poultry Science Journal**, Cambridge, v. 62, p. 499-511, 2006.
- GARLICH, J.D. Microbiologia do tracto intestinalaviar. In: CONGRESSO LATINOAMERICANO DE AVICULTURA. 16., 1999, Lima. **Anais...** Lima: 1999. p. 110-120.
- GASKINS, H. R. 2001. Intestinal bacteria and the influence on swine growth. **Swine Nutrition**. (Ed. A.J. Lewis and L.L. Southern) CRC Press, New York. 583-606.
- GAST, R.K. et al. Colonization of internal organs by *Salmonella enteritidis* in experimentally infected laying hens housed in conventional or enriched cages. **Poultry Science**, 92:468-473, 2013.
- 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. **Efeito de probióticos na translocação de *Salmonella enteritidis* e na eficiência alimentar e frangos de corte**, 80f. Dissertação (Mestrado e Veterinária) – Programa de Pós-Graduação em Vetrinaria, universidade Federal de Pelotas, 2004.
- GONZALES, E.; SARTORI, J.R. **Aditivos para aves e suínos**. Botucatu: DPEA/Unesp, P. 69 (Apostila), 2001.

- GUARD, J. et al. R. Colonization of avian reproductivetract tissues by variant subpopulations of *Salmonella enteritidis*. **Avian Disease**, 54:857- 861, 2010.
- GUBAN, J.; KORVER, D.R.; ALLISON, G.E.; TANNOCK, G.W. Relationship of dietary antimicrobial drug administration with broiler performance, decreased population levels of *Lactobacillus salivarius*, and reduced bile salt deconjugation in the ileum of broiler chickens. **Poultry Science**, Champaign, v. 85, n. 12, p. 2186-2194, 2006.
- GUILLOT, J.F. The pros and cons of probiotics – make probiotics work poultry. **Feed Mix**, v.23, n.8, p.28-30, 2000.
- HAVENAAR, R.; BRINK, B.T.; HUIS INT'VELD, J.H.J. Selection of strains for probiotic use. In: FULLER, R. **Probiotics: the scientific basis**. London : Chapman e Hall, P. 209-224, 1992.
- 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.
- HENRIQUE, A.P.F., FARIA, D.E., NETO, R.F. et al. **Uso de probióticos e antibióticos como promotores de crescimento para frangos de corte**. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 1997, São Paulo.
- HOLZAPFEL, W.H.; SCHILLINGER, U. Introduction to pre and probiotics. **Food Research International**, Amsterdam, v.35, n.2-3, p.109-116, 2002.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, **Estatística da Produção Pecuária**, p. 18, 2017.
- ISOLAURI, E, KAILA, M, ARVOLA, T, MAJAMAA, H, RANTALA, I, VIRTANEN, E, ARVILOMMI, H. Diet during rotavirus enteritis affects jejunal permeability to macromolecules in suckling rats. **Pediatr Res**. Jun;33(6):548–553, 1993.
- ITO, N.M.K.; MIYAJI, C.; OKABAYASHI, S.M. Saúde gastrointestinal, manejo e medidas para controlar enfermidades gastrointestinais. In: MENDES, A.A.; NÄÄS, I.A.; MACARI, M. **Produção de Frangos de Corte**. Campinas: FACTA, p. 356, 2004.
- ITO, N.M.K.; MIYAJI, C.I.; OKABAYASHI, S.M. Saúde intestinal de frangos de corte. **Circular técnico**, 2007.
- JAMEOZ, D. et al. response of broiler chickens to the diets supplemented with feeding antibiotic or mananoligosaccharides. **Eletronic Journal of Polish Agricultural Universities**. 2004
- JIN, L. Z.;MARQUARDT, R. R.;BAIDOO, S. K.Inhibition of enterotoxigenic Escherichia coli K88, K99 and 987P by the *Lactobacillus isolates* from porcine intestine. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 80, n. 5, p. 619-624, 2000.
- JIN, L.Z., HO, Y.W., ABDULLAH, N. et al. 1997. Probiotics in poultry: modes of action. **World's Poult. Sci. J.**, 53:351-368.
- JUNQUEIRA, O.M. TANAKA, A.H. DALANEZI, J.A. GARCIA, E. A. DUARTE, K.F.DALANEZI, L.M. Antibiótico, probiótico, prebiótico e simbiótico sobre desempenho de frangos de corte de 21 dias de idade. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**,. Campinas, Suplemento 8. p 60, 2006.

- KATO, I.; ENDO, K.; YOKOKURA, T. Effects of oral administration of *Lactobacillus casei* on antitumor responses induced by tumor resection in mice. **International Journal of Immunopharmacology**, v. 16, p. 29-36, 1994.
- KAUR, I.P. et al. Probiotics: potential farmacêutica applications. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.15, p.1-9, 2002.
- KAUR, I.P. et al. Probiotics: potential farmacêutica applications. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.15, p.1-9, 2002.
- KHACHATOURIANS, G. G. **Agricultural use of antibiotics and the evolution and transfer of antibiotic-resistant bacteria**. CMAJ.159:1129-1136,1998.
- KHAN, R.NAZ, S. The applications of probiotics in poultry production. **World's Poultry Science Journal**, v. 69, n. 03, p. 621-632, 2013.
- KISIELINSKI, K.; WILLIS, S.; PRESCHER, A. et al. A simple new method to calculate small intestine absorptive surface in the rat. **Clin. Exp. Med.**, v.2, p.131-135, 2002.
- KNARREBORG, A. et al. Effects of dietary fat source and subtherapeutic levels of antibiotic on the bacterial community in the ileum of broiler chickens at various ages. **Applied and Environmental Microbiology**, 68:5918-5924, 2002.
- KNARREBORG, A.; SIMON, M.A.; ENGBERG, R.M.; JENSEN, B.B.; TANNOCK, G.W. Effects of dietary fat source and subtherapeutic levels of antibiotic on the bacterial community in the ileum of broiler chickens at various ages. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 68, n. 12, p. 5918-5924, 2002.
- KORB, A.; NAZARENO, E.R.; COSTA, L.D.; NOGUEIRA, K.S.; DALSENTER, P.R.; TUON, F.F.V.; POMBA, M.C. Tipagem molecular e resistência aos antimicrobianos em isolados de *Escherichia coli* de frangos de corte e de tratadores na Região Metropolitana de Curitiba, Paraná. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.35, n.3, p.258-264, 2015.
- KOUTSOS, E.A.; ARIAS, V.J. Intestinal ecology: interactions among the gastrointestinal tract, nutrition and the microflora. **Journal Applied Poultry Research**, Champaign, v. 15, p. 161-173, 2006.
- KOZASA, M. Probiotics for animal in Japan. **Revisal Scientific Technology**, v.8, n.2, p.517- 531, 1989.
- KUZMUK, k. N.; SWANSON, K. S.; TAPPENDEN, K. A.; SCHOOK, L. B.; FAHEY, G. C. Diet and age affect intestinal morphology and large bowel fermentative end-product concentrations in senior and young adult dogs. **The Journal of Nutrition**, Rockville Pike, v. 135, n. 8, p. 1940-1945, 2005.
- LAN, Y., VERSTEGEN, M.W.A., TAMMINGA, S., WILLIAMS, B.A. The role of the commensal gut microbial community in broiler chickens. **World's Poultry Science Journal**. Cambridge, vol. 61, n. 01, p. 95-104, 2005.
- LANCINI, J. B. **Fatores exógenos na função gastrointestinal: aditivos**. In: FUNDAÇÃO APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA, 1994.
- LANGHOUT, P. Alternativas ao uso de quimioterápicos na dieta de aves: a visão da indústria e recentes avanços. In: CONFERENCIA APINCO DE CIENCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2005, Santos, SP. **Anais...** Santos: Apinco, p.21-33, 2005.

- LAPARRA, J.M.; SANZ, Y. Interactions of gut microbiota with functional food components and nutraceuticals. **Pharmacological Research**, Philadelphia, v. 61, n. 3, p. 219-225, 2010.
- LEE et al. Effects of dried-fed microbials on growth performance, gut morphometry, and immune characteristics in broiler chickens. **Poultry Science**, Savoy. V. 89; p. 203-2016. 2010.
- LILLY, D.M.; STILLWEL, R.H. Probiotics. Growth promoting factors produced by micro-organisms. **Science**, Washington, v.147, n.3659, p.747–748, 1965.
- LIMA, A.C.F. 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, p.200-2007, 2003.
- LIU, X., YAN, H., LV L., XU Q., YIN C., ZHANG, K., WANG, P., HU J. Growth performance and meat quality of broiler chickens supplemented with *Bacillus licheniformis* in drinking water. **Asian-Australas. J. Anim. Sci.**, 25: 682–689, 2012.
- LODDI, M. M.; GONZALES, E.; TAKITA, T. S.; MENDES, A. A.; ROÇA, R. O. Uso de probiótico e antibiótico sobre o desempenho, o rendimento e a qualidade de carcaça de frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n. 4, p.1124-1131, 2000.
- LORENÇON, L.; NUNES, R.V.; POZZA, P.C.; POZZA, M.S.dos.S., APPELT, M.D., SILVA. W.T.M da. Utilização de promotores de crescimento para frangos de corte em rações fareladas e peletizadas. **Acta Scientiarum Animal Science**, Maringá, v.29, n.2, p 151-158, 2007.
- LU, J. et al. Diversity and succession of the intestinal bacterial community of the maturing broiler chicken. **Applied and Environmental Microbiology**, 69:6816-6824, 2003. Mack *et al.* Probiotics inhibit enteropathogenic
- LUND, M.; BJERRUM, L.; PEDERSEN, K.. Quantification of *Faecalibacterium prausnitzii*-and *Subdoligranulum variabile*-like bacteria in the cecum of chickens by real-time PCR. **Poultry Science**, v. 89, n. 6, p. 1217-24, 2010.
- MACARI, M. A.; MAIORCA, A. **Aspectos Fisiológicos da Qualidade Intestinal e Produtividade em Frangos de Corte**. Departamento de Morfologia e Fisiologia Anula, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Campus Jaboticabal, 2002.
- MACARI, M.; FURLAN, R.L. Probióticos. In: CONFERÊNCIA APINCO, Santos, 2005. **Anais...** Santos: FACTA, p 53-68, 2005.
- MACARI, M.; MENDES, A.A.; MENTEN, J.F.; NASS, I.A. **Produção de frangos de corte**. IN: MACARI, M.; LUNEDO R.; PEDROSO, A.A. Microbiota intestinal das aves. Aves domésticas – produção de frangos de corte. 2. ed. Campinas: Facta, 2014. p. 299-320, 2008.
- MACARI, M.; PEDROSO, A. A; LUNEDO, R; Produção de Frangos de Corte, **Microbiota intestinal de aves**, p. 4-18, 2014.
- MACK et al., 1999 FALTA MACK, S.; BERCOVICI, D.; DE GROOTE, G. et al. Ideal amino acid profile and dietary lysine specification for broiler chickens of 20 to 40 days of age. **British Poultry Science**, v.40, p.257-265, 1999.
- MAIORCA, A. Impacto da saúde intestinal na produtividade avícola. **Anais do V Simpósio Brasil Sul de Avicultura**. Chapecó, Santa Catarina, Brasil, 26–41, 2004.

- MAIORKA, A.; SANTIN, E.; DAHLKE, F.; BOLELI, I.C.; FURLAN, R.L.; MACARI, M. Posthatching water and feed deprivation affect the gastrointestinal tract and intestinal mucosa development of broiler chicks. **Journal of Applied Poultry Research**, v.12, n.4, p.483-492, 2003.
- MAIORKA, A.; SANTIN, E.; SUGETA, S.M. et al. Utilização de prebióticos, probióticos ou simbióticos em dieta para frangos. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v.3, n.1, p.75-82, 2001.
- MAIORKA, A.; BOLELI, I. C. e MACARI, M. Desenvolvimento e reparo da mucosa intestinal, In: **Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte**. MACARI, M.; FURLAN, R. L. e gonzales, E. Jaboticabal: FUNEP/UNESP. 2 Edição. Cap. 08; 375 pág. 2002.
- MARSHMAN, E.; BOOTH, C.; POTTEN, C.S. The intestinal epithelial stem cell. **Bioessays, Cambridge**, v. 24, n. 1, p. 91–98, 2002.
- MARUTA, K. Probióticos e seus benefícios. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 1993, Santos. **Anais ...** Santos: Associação Brasileira de Produtores de Pintos de Corte, p. 203-219, 1993.
- MATTAR, A. F., D. H. TEITELBAUM, R. A. DRONGOWSKI, F. YONGY, C. M. HARMON, and A. G. CORAN. 2002. Probiotics up-regulate MUC-2 mucin gene expression in a Caco-2 cell- culture model. **Pediatr. Surq. Int.** 18:586–590.
- MC BRIDE, B. W., and KELLY J. M.. 1990. Energy cost of absorption and metabolism in the ruminant gastrointestinal tract and liver: **A review. J. Anim. Sci.** 68:2997–3010.
- MENTEN, J.F.M. Aditivos alternativos na produção de aves: probióticos e prebióticos. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 2001, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz, p 141-157, 2001.
- MENTEN, J.F.M. Probióticos, prébióticos e aditivos fitogênicos na nutrição de aves. In: Simpósio sobre Ingredientes na Alimentação Animal, 2, 2002, Campinas. **Anais:** Campinas: Colégio Brasileiro de Nutrição Animal, p.251-276, 2002.
- MISHRA, P.K. Phytobiotics: an alternative to antibiotic growth promoters. **Artigos Técnicos**. Disponível em: http://en.engormix.com/MA_poultryindustry/nutrition/articles/phytobiotics-alternative-antibiotics-growth-t3185/141-p0.htm, 2014. Acessada em: 30/12/2017.
- MOLNÁR, A. K. et al. Effect of different concentrations of *Bacillus subtilis* on growth performance, carcass quality, gut microflora and immune response of broiler chickens. **British Poultry Science**, v. 52, n. 6, p. 658-65, 2011.
- MONTZOURIS, K. C. et al. Evaluation of the efficacy of a probiotic containing *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus* and *Pedococcus* strains in promoting broiler performance and modulating cecal microflora composition and metabolic activities. **Poultry Science**, Savoy. V, 86, p.309-317. 2007.
- MORENO, J.E.G. et al. Adición de dos tipos de probiótico en el agua de bebida de pollos de engorde y su efecto en el comportamiento productivo, metabólico, anatomopatológico e inmunológico. **Expedición Científica y Cultural**, v. 8, 2002.
- NEPOMUCENO, E.S.; ANDREATTI, R.L.F. Probióticos e prebióticos na avicultura. In: II SIMPÓSIO DE SANIDADE AVÍCOLA, 2000, Santa Maria, RS. **Anais...** Concórdia, SC : EMBRAPA SUÍNOS E AVES, v.1, p.45-55, 2000.

- OAKLEY, B.B.; LILLEHOJ, H.S.; KOGUT, M.H.; KIN, W.K.; MAURER, J.J.; PEDROSO, A.; LEE, M.D.; COLLET, S.T.; JOHNSON, T.J.; COX, N.A. The chicken gastrointestinal microbiome. **FEMS Microbiology Letters**, Oxford, v. 360, p. 100-112, 2014.
- OECD-FAO. 2015. **OECD-FAO Agricultural Outlook 2015**, OECD Publishing, Paris. doi: 10.1787/agr-outlook-2015-en.
- OGAWA, M.; SHIMIZU, K.; NOMOTO, K. Inhibition of in vitro growth of Shiga toxin producing *Escherichia coli* O157:H7 by probiotic *Lactibacillus* strains due to production of lactic acid. **International Journal of Food Microbiology**, v. 68, n.1-2, p. 135-140, 2001.
- OLIVEIRA, M.C.; CANCHERINI, L.C.; MARQUES, R.H. et al. Mananoligossacarídeos e complexo enzimático em dietas para frangos de corte **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, n.5, p.879-886, 2009.
- O'TOOLE, P.W.; COONEY, J.C. Probiotic Bacteria Influence the Composition and Function of the Intestinal Microbiota. **Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases**, 9p, 2008.
- OUWEHAND, A.C. et al. Probiotics: mechanisms and established effects. **International Dairy Journal**, Amsterdam, v.9, n.1, p.43-52, 1999.
- OUWEHAND, A.C.; TOLKKO, S.; KULMALA, J.; SALMINE, S., SALMINE, E. Adhesion of inactivated probiótico strains to intestinal mucus. **Letters in Applied Microbiology**, Oxford, v.31, p.82-86, 2000.
- OVIEDO-RONDÓN, E.O. Molecular methods to evaluate effects of feed additives and nutrients in poultry gut microflora. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, p.209-225, (supl. Especial), 2009.
- PAN, D.; YU, Z. Intestinal microbiome of poultry and its interaction with host and diet. **Gut Microbes**, v. 5, n. 1, p. 108-19, 2014.
- PANDA, A.K. et al. Growth, carcass characteristics, immunocompetence and response to *Escherichia coli* of broilers fed diets with various levels of probiotic. **Archiv Fur Geflügelkunde**, v.64, n.4, p.152-156, 2000.
- PANDA, A.K.; RAO, S.V.R.; RAJU, M.V.L.N. et al. Effect of butyric acid on performance, gastrointestinal tract health and carcass characteristics in broiler chickens. **Asian-Australasian Journal Animal Science**, v.7, p.1026-1031, 2009.
- PAREDES, C. J.; ALSAKER, K. V.; PAPOUTSAKIS, E.T. A comparative genomic view of clostridial sporulation and physiology. **Nature Reviews. Microbiology**, London, v. 3, n. 12, p. 969-78, 2005
- PARKER, R.B. Probiotics, the other half of the antibiotic story. **Animal Nutrition Health**, n.29, p.4-8, 1974.
- PATEL, S.G.; RAVAL, A.P.; BHAGWAT, S.R.; SADRASANIYA, D.A., Patel, A.P., Joshi, S.S. Effects of Probiotics Supplementation on Growth Performance, Feed Conversion Ratio and Economics of Broilers. **Journal of Animal Research**: v.5 n.1, p. 155-160, 2015.
- PEDROSO, A. A. Microbiota do trato digestório: transição do embrião ao abate. In: Conferência Apinco Facta, **Anais...** Santos, 2011, p. 123- 130.

- PEDROSO, A.A. et al. Embryonic chicks may possess an intestinal bacterial community within the egg. In: General Meeting American Society for Microbiology, 108., **Abstracts...** Washington: American Society for Microbiology, 2008. Abstract N-068.
- PEDROSO, A.A. et al. Intestinal bacterial community and growth performance of chickens fed diets containing antibiotics. **Poultry Science**, 85:747- 752, 2006. Pedroso, A.A.
- PEDROSO, A.A. et al. The structure of bacterial community in the intestines of newly hatched chicks. **The Journal of Applied Poultry Research**, 14:232-237, 2005.
- PEDROSO, A.A. Microbiota do trato digestório: transição do embrião ao abate. In: CONFERÊNCIA FACTA, 2011, Santos. **Anais...** Campinas: Facta, 2011. p. 123-130.
- PEDROSO, A.A.; MAURER, J.; CHENG, Y.; LEE, M. D. Remodeling the intestinal ecosystem toward better performance and intestinal health. **Journal Applied Poultry Research**, Champaign, v. 21, p. 432-443, 2012.
- PEDROSO, A.A.; MENTEN, J.F.M.; LAMBAIS, M.R. The structure of bacterial community in the intestine of newly hatched chicks. **The Journal of Applied Poultry Research**, v.14, n.2, P.232-237, 2005.
- PEINADO, M.J.; RUIZ, R.; ECHAVARRI, A.; ARANDA-OLMEDO, I.; RUBIO, L.A. Garlic derivative PTS-O modulates intestinal microbiota composition and improves digestibility in growing broiler chickens. **Animal feed Science and Technology**, Philadelphia, v. 181, n. 1/4, p. 87-92, 2013.
- PELICANO et al. Morfometia e ultra-estrutura da mucosa intestinal de frangos de corte alimentados com dietas contendo diferentes probióticos. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**. Lisboa/Portugal. V. 98; n. 547: p. 125-134. 2003.
- PELICANO, E.R.L.; SOUZA, P.A.; SOUZA, H.B.A. et al. Morphometry and ultrastructure of the intestinal mucosa of broilers feed different additives. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v.9, n.3, p.173-180, 2007.
- PELICANO, E.R.L.; SOUZA, P.A.; SOUZA, H.B. 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.
- PELICANO, E.R.L.; SOUZA, P.A.; SOUZA, H.B.A.; OBA, A.; NORKUS, E.A.; KODAWARA, L.M.; LIMA, T.M.A. Effect of different probiotics on broiler carcass and meat quality. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 5, n.3, p. 207-214, 2003.
- 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. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, Campinas, v.6, n.4, p.231-236, 2004.
- PETRI, R. Uso de exclusão competitiva na avicultura no Brasil. II SIMPÓSIO DE SANIDADE AVÍCOLA, 2000, Santa Maria-RS, **Anais...** 2000.
- PROBIÓTICOS EM AVICULTURA (PDF Download Available). Available from: https://www.researchgate.net/publication/26405623_Probioticos_em_avicultura [accessed Feb 09 2018].

- 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.
- RASSCHAERT, G. et al. Impact of the slaughter line contamination on the presence of *Salmonella* on broiler carcasses. **Journal of Applied Microbiology**, v.103, n.2, p.333-341, 2007.
- RIBEIRO, A., VOGT, L., CANAL, C., CARDOSO, M., LABRES, R., STRECK, A., BESSA, M. (2007). Effects of prebiotics and probiotics on the colonization and immune response of broiler chickens challenged with *Salmonella enteritidis*. **Rev. Bras. Ciência Avícola**, 9: 193–200.
- RINTTILA, T.; APAJALAHTI, J. Intestinal microbiota and metabolites: implications for broiler chicken health and performance. **Journal Applied Poultry Research**. Champaign, v. 22, n. 3, p. 647-658, 2013.
- RIVOAL, K. et al. Detection of *Listeria monocytogenes* in raw and pasteurized liquid whole eggs and characterization by PFGE. **International Journal of Food Microbiology**, 138:56-62, 2010.
- ROSTAGNO, M. H. 2011. Impacto da restrição de antimicrobianos na indústria avícola. **Artigos Técnicos**. [on line]. Disponível em: <http://pt.engormix.com/MA/avicultura/saude/artigos/impacto-restricaoantimicrobianos-industria-t454/165-p0.htm>. Acessada em: 03/01/2018.
- ROTH, L. The battle of the bugs the direct fed microbial concept. **Pig Progress**, v.16, p 12-15, 2000.
- RUEMMELE, F. M.; BIER, D.; MARTEAU, P.; RECHEKEMMER, G.; BOURDET – SICARD R.; WALKER, W.A.; GOULET, O. Clinical evidence for immunomodulatory effects of probiotic bacteria. *J. Pediatr. Gastroenterol Nutr*, v. 48 (2), p.126-41, 2009.
- SAAD, S. M. Probióticos e prebióticos: o estado da arte. **Revista Brasileira de Ciências farmacêuticas**; n.42 (1), p. 1-16, 2006.
- SAARELA, M. et al. Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties. **Journal of Biotechnology**, Amsterdam, v.84, n.3, p.197-215, 2000.
- SAAVEDRA, J. M.; TSCHERMIA, A. human studies with probiotics and prebiotics: clinical implications. **Britis Journal Nutrition**. 87, p.241-246, 2002.
- SAKOMURA, N.K.; ROSTAGNO, H.S.
. Jaboticabal: Funep, p.283, 2007.
- SALEHA, A.A.; MYAING, T.T.; GANAPATHY, K.K.; ZULKIFLI, I.; RAHA, R.; ARIFAH, K. Possible effect of antibiotic-supplemented feed and environment on the occurrence of multiple antibiotic resistant *Escherichia coli* in chickens. **International Journal of Poultry Science**, v.8, n.1, p.28-31, 2009.
- SALMINEN, S. et al. Probiotics: how should they be defined? **Trends in Food Science & Technology**, v.10, p.107-110, 1999.
- SALMINEN, S.; OUWEHAND, A.C.; ISOLAURI, E. Clinical applications of probiotic bacteria. **International Dairy Journal**, Amsterdam, v.8, n.5-6, p.563-572, 1998.
- SANTOS Jr., A. A. et al. Change in ileal bacterial population of turkeys fed different diets and after infection with *Salmonella* as determined with denaturing gradient gel

electrophoresis of amplified 16S ribosomal DNA. **Poultry Science**, 87:1415-1427, 2008.

SANTOS, I. I.; CORÇÃO, G.; KESSLER, A. M. D.E; LARANJEIRA, V. S. DOS.; LIMA, M. S.; Microbiota ileal de frangos de corte submetidos a diferentes dietas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 41, n. 3, p. 643-647, 2012.

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

SATO R. N., LODDI M. M. & NAKAGHI L. S. O. Uso de antibiótico e/ou probiótico como promotores de crescimento em rações iniciais de frangos. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 4, p. 37, 2002.

SAVAGE, D. C. The effect of stress, diet and environment on the stability of the SCHREZENMEIR, J.; DE VRESE, M. Probiotics, prebiotics and symbiotics-approaching a definition. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.73, p.361S-364S, 2001.

SCHNEITZ, C. Automated droplet application of a competitive exclusion preparation. **Poult. Sci.**, v.71, p.2125-8, 1992.

SEN, S. et al. Effect of supplementation of *Bacillus subtilis* LS 1-2 to broiler diets on growth performance, nutrient retention, caecal microbiology and small intestinal morphology. **Research in veterinary science**, v. 93, n. 1, p. 264-68, 2012.

SHIM, S.B. **Effects of prebiotics, probiotics and symbiotic in the diet of young pigs**. 2005, 179 p, P.H.D Tese (PhD in Animal Nutrition Group) Wageningen Institute of Animal Science, Wageningen University and Research Centre, Wageningen, Holanda, NL, 2005.

SILVA W.T.M.; NUNES R.V.; POZZA, P.C. et al. Avaliação de inulina e probiótico para frangos de corte. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, v.33, n.1, p.19-24, 2011.

SILVA, E. N. Antibióticos Intestinais Naturais: Bacteriocinas. In: Simpósio sobre aditivos alternativos na nutrição animal, Campinas. **Anais...** Campinas: UNICAMP, p. 16-26, 2000.

SILVA, E.N.; ALVES FILHO, R.L. Probióticos e prebióticos na avicultura. In: II SIMPÓSIO DE SANIDADE AVÍCOLA, 2000, Santa Maria, RS. **Anais...** 2000.

SILVA, L.P.; NORBERG, J. L. Prebióticos na nutrição de não-ruminantes. **Ciência Rural**, v. 33, n. 5, p 983-990, 2003.

SILVA, M.A.; PESSOTTI, B.M.S.; ZANINI, S.F; COLNAGO, G.L.; NUNES, L.C.; RODRIGUES, M.R.A; FERREIRA, L. Óleo essencial de aroeira-vermelha como aditivo na ração de frangos de corte. **Ciência Rural**, v.41, n.4, p. 676-681, 2011.

SIMPOSIO SOBRE INGREDIENTES NA ALIMENTAÇÃO ANIMAL, 2002, Uberlândia. **Anais...**Uberlândia, MG, 2002, p. 251- 276.

SMITH, A.L.; BEAL, R. The avian enteric immune system in health and disease. In: DAVISON, F.; KASPERS, B.; SCHAT, K.A. **Avian Immunology**. Academic Press, London, cap. 13, p. 243-271, 2008.

SOARES, L. L. P. **Restrições e uso de aditivos (promotores de crescimento) em rações de aves**: visão do fabricante. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 1996, Curitiba. Painel. Curitiba: Associação Brasileira de Produtores de Pintos de Corte, 1996.

STAVRIC, S. Defined cultures and prospects. **Int. J. Food Microbiol.**, v.15, p.245–63, 1992.

SZAJEWSKA H, SETTY M, MRUKOWICZ J, GUANDALINI S. Probiotics in gastrointestinal diseases in children: hard and not-so-hard evidence of efficacy. **J Pediatric Gastroenterol Nutr.**42(5):454-75, 2006.

TANNOCK, G. W. Studies of the intestinal microflora: a prerequisite for the development of probiotics. **International Dairy Journal**, Barking, v. 8, n. 5-6, p. 527-533, 1998.

TIMBERMONT, L.; HAESEBROUCK, F.; DUCATELLE, R.; BAN IMMERSEEL, F. Necrotic enteritis in broilers: an updated review on the pathogenesis. **Avian Pathology**, Houghton, v. 40, n. 4, p. 341-7, 2011.

TOLEDO, G. I. S. P.; COSTA, P. T. C.; SILVA, L. P.; PINTO, D.; FERREIRA, P.; POLETO, C. J. Desempenho de frangos de corte alimentados com dietas contendo antibiótico e/ou fitoterápico como promotores, adicionados isoladamente ou associados. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 37, n. 6, p 1760-1764, 2007.

TORNUT, J. R. Probiotics . In:REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECHNIA, 35., 1998, Botucatu. **Anais...Botucatu: SBZ**, p. 179 – 199, 1998.

TOROK, V.A.; HUGHES, R.J.; MIKKELSEN, L.L.; PEREZ-MALDONADO, R.; BALDING, K.; McALPINE, R.; PERCY, N.J.; OPHEL-KELLER, K. Identification and characterization of potential performance-related gut microbiota in broilers chickens across various feeding trials. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 77, n. 17, p. 5868-5878, 2011.

TURNELL, J. R.; FAULKNER, R. D.; HINCH, G. N. Recent advances in Australian broiler litter utilization. **World's Poultry Science Journal Cambridge**, v. 63, p. 223-231, 2007.

UNI, Z.; GANOT, S.; SKLAN, D. Posthatch development of mucosal function in the broiler small intestine: effect of delayed access to feed. **Poultry Science**, v.77, n.1, p.75-82, 1998.

UTIYAMA, C.E. **Utilização de agentes antimicrobianos, probióticos, prebióticos e extratos vegetais como promotores de leitões recém-desmamados**. 2004. 110f. Tese (Doutorado). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba-SP, 2004.

VASSALO, M.; FIALHO, E.T.; OLIVEIRA, A.I.G. et al. Probióticos para leitões dos 10 aos 30 kg de peso vivo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.26, n.1, p.131-138, 1997.

WANG, L.; LILBURN, M.; ZHONGTANG, Y. Intestinal microbiota of broiler chickens as affected by litter management regimens. **Frontiers in Microbiology**, v.7, p.593, 2016.

WANG, Y., QIAN, P. Y. Conservative fragments in bacterial 16S rRNA genes and primer design for 16S ribosomal DNA amplicons in metagenomic studies. **PLoS ONE**. V. 4, n. 10, p. e7401, 2009.

WEI, C.; MORRISON, M.; YU, Z Bacterial census of poultry intestinal microbiome. **Poultry Science**, Champaign, v. 92, n. 3, p. 671-683, 20

WELTZIEN, E. M. Effectes of feed form on gut microbiota in broilers. **Poultry Industry Council**, Ontario, v. 1, n. 5, 2003.

WHO – WORLD HEALTH ORGANIZATION. The medical impact of antimicrobial use in farm animals. WHO/EMC/ZOO/97.4, **Report of a WHO Meeting**, Berlin, Germany, 13-14 October, p.1-24, 1997.

WISE, M.G.; SIRAGUSA, G.R. Quantitative analysis of the intestinal bacterial community in one- to threeweek- old commercially reared broiler chickens fed conventional or antibiotic-free vegetablebased diets. **Journal of Applied Microbiology**, 102:1138-1149, 2007.

YANG, Y.; IJI, P. A.; CHOST, M. Dietary modulation of gut microflora in broiler chickens: a review of the role of six kinds of alternatives to in-feed antibiotics. **World's Poultry Science Journal**, v.65, n.1, p.97-114, 2009.

YIN, Y.; LEI, F.; LIYING, Z.; LI, S.; WU, Z.; ZHANG, R.; GAO, G. F.; ZHU, B.; WANG, X. Exposure of different bacterial inocula to newborn chicken affects gut microbiota development and ileum gene expression. **Isme Journal. Beijing**, v. 4, n.3, p. 367–376, 2010.

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Raquel Cristina Kosmann, filha de Lúcia Kosmann e Vitório Kosmann, nascida em Toledo – PR em 08/04/1988.

É formada em medicina veterinária pela Universidade Federal do Paraná – UFPR, setor Palotina, no ano de 2011.

Em Novembro de 2011 foi contratada pela empresa GLOBOAVES em Cascavel - PR como veterinária do fomento de frangos de corte, onde trabalhou por dois anos e três meses.

Em Fevereiro de 2014 foi contratada pela C. VALE – Cooperativa Agroindustrial em Palotina – PR como veterinária do fomento de frangos de corte.

Em fevereiro de 2016 iniciou o curso de Mestrado no Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal na Universidade Federal do Paraná – Setor Palotina.