

KÁTIA KALKO SCHWARZ

**SUBSTITUIÇÃO DE ANTIMICROBIANOS POR PROBIÓTICOS  
E PREBIÓTICOS NA ALIMENTAÇÃO DE  
FRANGOS DE CORTE**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Produção Animal.

Orientador: Prof. Dr. Sebastião Gonçalves Franco

Co-orientadores: Prof. Dr. Luiz Mário Fedalto  
Dr. Sebastião Aparecido Borges

CURITIBA

2002



## PARECER

A Comissão Examinadora da Defesa de Dissertação da Candidata ao Título de Mestre em Ciências Veterinárias, Área Produção Animal **KATIA KALKO SCHWARZ** após a realização desse evento, exarou o seguinte Parecer:

- 1) A Tese, intitulada **“Substituição de Antimicrobianos por Probióticos e Prebióticos na Alimentação de Frangos de Corte”** foi considerada, por todos os Examinadores, como um louvável trabalho, encerrando resultados que representam importante progresso na área de sua pertinência.
- 2) A Candidato se houve muito bem durante a Defesa de Dissertação, respondendo a todas as questões que foram colocadas.

Assim, a Comissão Examinadora, ante os méritos demonstrados pela Candidata, atribuiu o conceito **“A”** concluindo que faz jus ao Título de Mestre em Ciências Veterinárias, Área de Produção Animal.

Curitiba, 11 de junho de 2000.

  
Prof. Dr. SEBASTIÃO GONÇALVES FRANCO  
Presidente/Orientador

  
Profa. Dra. ANA VITÓRIA FISHER DA SILVA  
Membro

  
Dr. SEBASTIÃO APARECIDO BORGES  
Membro

## AGRADEÇO

A **Deus**, por ter me dado a vida, a minha família, inteligência, saúde e a oportunidade de continuar meus estudos.

Aos meus pais **Vitaly Kalko** (*in memorian*) e **Myra Fofanoff Kalko**, por me mostrarem a importância do estudo e o bom uso da inteligência.

## DEDICO

Ao **Roberto Luiz Schwarz**, meu marido, que sem ele teria sido muito mais difícil minha formação profissional, sempre me apoiando, sendo um grande companheiro e incentivador nas horas mais difíceis da minha vida.

Ao **Douglas Kalko Schwarz**, meu filho que veio ao mundo durante este curso, me trazendo a verdadeira felicidade...

## AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Ao orientador **Prof. Dr. Sebastião Gonçalves Franco** pelas horas de desapego à vida familiar em prol da pesquisa, pela humildade e amizade.

Ao **Prof. Dr. Luiz Mário Fedalto** pela dedicação e realização das análises estatísticas desta dissertação.

A **NUTRIS - Nutrição Tecnologia & Sistemas**, que gerou recursos financeiros e literários para a execução do presente trabalho.

Ao Co-orientador **Dr. Sebastião Aparecido Borges**, por me fazer compreender que orientar é aceitar e tentar corrigir os erros do orientado...é ser cúmplice.

A **Profª Drª Ana Vitória Fischer da Silva** por trazer conhecimentos fundamentais para a realização deste trabalho.

Ao **Prof. Dr. Pedro Martinez Albanez**, por permitir a utilização do Laboratório de Análise e Manipulação de Imagem do Departamento de Pós-Graduação de Zoologia da UFPR e também por sua valiosa ajuda.

Ao Centro de Diagnóstico "**Marcos Enrrietti**" / **Mariela M. M. Goularte**, pelo fornecimento gratuito das análises bacteriológicas.

Ao Laboratório de Histotecnologia e Fotomicrografia do departamento de Biologia Celular da UFPR, principalmente **Sr. Herculano Salviano dos Reis Filho (Nino)** pelo auxílio e dedicação constante.

**Que Deus abençoe a todos vocês !**

## AGRADECIMENTOS

A grande amiga e confidente das horas de angústia e felicidade durante todo o mestrado **Profª Márcia de Oliveira Lopes**.

Ao **Prof. Henrique Soares Koehler** por ensinar e fazer compreender a ferramenta maravilhosa que é a estatística.

**Prof. Dr Luiz Ernandes Kozicki** pela compreensão e auxílio.

Ao Laboratório de Nutrição Animal (UFPR), em particular ao **Prof. José Sidney Flemming**.

As estagiárias que participaram ativamente durante o experimento Jaqueline de Cássia da Silva, Suzane Bodziak e Gisele Aparecida Trinoski.

Ao Departamento de Zoologia da UFPR.

Ao Departamento de Biologia Celular da UFPR.

Aos colaboradores que tiveram sua participação direta ou indireta na pesquisa:

Antônio Carlos Pedroso, pela colaboração durante a execução do experimento.

As colegas do curso Patrícia Pimenta de Sillos e Profª Maria José Dutra.

Aos funcionários da Pós-graduação em Ciências Veterinárias da UFPR Francisco Gerber e Natália Vieira Borges.

A todos os funcionários da Fazenda Experimental do Canguiri da UFPR.

**Muito obrigado**

## VOZES DO ESPÍRITO

Deus é meu Pai.  
A Natureza é minha Mãe.  
O Universo é meu Caminho.  
A Eternidade é meu Reino.  
A Imortalidade é minha Vida.  
A Mente é meu Lar.  
O Coração é meu Templo.  
A Verdade é meu Culto.  
O Amor é minha Lei.  
A Forma em si é minha Manifestação.  
A Consciência é meu Guia.  
A Paz é meu Abrigo.  
A Experiência é minha Escola.  
O Obstáculo é minha Lição.  
A Dificuldade é meu Estímulo.  
A Alegria é meu Cântico.

A Dor é meu Aviso.  
A Luz é minha Realização.  
O Trabalho é minha Bênção.  
O Amigo é meu Companheiro.  
O Adversário é meu Instrutor.  
O Próximo é meu Irmão.  
A Luta é minha Oportunidade.  
O Passado é minha Advertência.  
O Presente é minha Realidade.  
O Futuro é minha Promessa.  
O Equilíbrio é minha Atitude.  
A Ordem é minha Senha.  
A Beleza é meu Ideal.  
A Perfeição é meu Destino.

**(Psicografia de Francisco Cândido Xavier/por um espírito que não se identificou, assinando apenas "O Espírito").**

**VIVER MORRER,  
RENASCER AINDA  
TAL É A LEI**  
*Allan Kardec*

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE ILUSTRAÇÕES</b> .....	ix
<b>LISTA DE SIMBOLOS</b> .....	xi
<b>RESUMO</b> .....	xii
<b>ABSTRACT</b> .....	xiii
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	1
<b>2 REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	2
2.1 ADITIVOS NA ALIMENTAÇÃO DE AVES .....	2
2.2 PROBIÓTICO .....	6
2.2.1 Leveduras Vivas ( <i>Saccharomyces cerevisiae</i> ) .....	9
2.3 PREBIÓTICOS .....	11
2.3.1 Parede Celular de Levedura (Mananoligossacarídeo-MOS) .....	12
2.3.2 Frutoligossacarídeos .....	12
2.4 SAPONINAS .....	13
2.5 MORFOLOGIA INTESTINAL .....	14
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	18
3.1 MANEJO DA CAMA .....	19
3.2 MANEJO NA FASE INICIAL .....	20
3.3 MANEJO NA FASE DE CRESCIMENTO E FINAL .....	20
3.4 MORFOLOGIA INTESTINAL AOS 45 DIAS .....	21
3.5 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL .....	23
3.6 ALIMENTAÇÃO .....	24
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	25
<b>5 CONCLUSÕES</b> .....	40
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	41

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

TABELA	1 - COMPOSIÇÃO PERCENTUAL E CALCULADA DAS RAÇÕES INICIAL, CRESCIMENTO E FINAL, PARA FRANGOS DE CORTE.....	24
TABELA	2 - EFEITO DE PROMOTORES DE CRESCIMENTO ALTERNATIVOS EM SUBSTITUIÇÃO AOS ANTIMICROBIANOS SOBRE O PESO CORPORAL.....	30
TABELA	3 - EFEITO DE PROMOTORES DE PROMOTORES DE CRESCIMENTO ALTERNATIVOS EM SUBSTITUIÇÃO AOS ANTIMICROBIANOS SOBRE O GANHO DE PESO DIÁRIO (GPD).....	31
TABELA	4 - MÉDIAS DE AV=ALTURA DE VILOSIDADE, PC=PROFUNDIDADE DE CRIPTA E EMDM=ESPESSURA DA MUSCULAR DA MUCOSA, NA PORÇÃO MÉDIA DO INTESTINO DELGADO (JEJUNO) NOS FRANGOS AOS 45 DIAS.....	32
QUADRO	1 - CLASSIFICAÇÃO DOS ADITIVOS DE ACORDO COM SUA FINALIDADE.....	03
QUADRO	2 - RESPOSTAS FISIOLÓGICAS, NUTRICIONAIS E METABÓLICAS QUE APARECEM EM AVES E SUÍNOS QUE RECEBEM DIETAS SUPLEMENTADAS COM ADITIVOS ANTIBACTERIANOS PROMOTORES DE CRESCIMENTO.....	04
QUADRO	3 - TRATAMENTOS UTILIZADOS.....	19
FIGURA	1 - MEDIDA DA ALTURA DA VILOSIDADE (A), PROFUNDIDADE DE CRIPTA (B) E ESPESSURA DA MUSCULAR DA MUCOSA (C).....	22
FOTOGRAFIA 1 -	VILOSIDADES DA MUCOSA DO INTESTINO DELGADO DE FRANGOS COM 45 DIAS. JEJUNO, TRATAMENTO 1 - SEM ANTIBIÓTICO.....	33
FOTOGRAFIA 2 -	VILOSIDADES DA MUCOSA DO INTESTINO DELGADO DE FRANGOS COM 45 DIAS. JEJUNO, TRATAMENTO 2 - COM ANTIBIÓTICO.....	34
FOTOGRAFIA 3 -	VILOSIDADES DA MUCOSA DO INTESTINO DELGADO DE FRANGOS COM 45 DIAS. JEJUNO, TRATAMENTO 3 - LEVEDURA VIVA.....	34
FOTOGRAFIA 4 -	VILOSIDADES DA MUCOSA DO INTESTINO DELGADO DE FRANGOS COM 45 DIAS. JEJUNO, TRATAMENTO 4 - PAREDE CELULAR DE LEVEDURA.....	35
FOTOGRAFIA 5 -	VILOSIDADES DA MUCOSA DO INTESTINO DELGADO DE FRANGOS COM 45 DIAS. JEJUNO, TRATAMENTO 5 - FRUTOLIGOSSACARÍDEO.....	35

FOTOGRAFIA 6 - VILOSIDADES DA MUCOSA DO INTESTINO DELGADO DE FRANGOS COM 45 DIAS. JEJUNO, TRATAMENTO 6 - SAPONINA.....	36
FOTOGRAFIA 7 - VILOSIDADES DA MUCOSA DO INTESTINO DELGADO DE FRANGOS COM 45 DIAS. JEJUNO, TRATAMENTO 7 - PROBIÓTICO ( <i>Bacillus subtilis</i> ).....	36
FOTOGRAFIA 8 - VILOSIDADES DA MUCOSA DO INTESTINO DELGADO DE FRANGOS COM 45 DIAS. JEJUNO, TRATAMENTO 8 - PROBIÓTICO + LEVEDURA VIVA .....	37
FOTOGRAFIA 9 - VILOSIDADES DA MUCOSA DO INTESTINO DELGADO DE FRANGOS COM 45 DIAS. JEJUNO, TRATAMENTO 9 - PROBIÓTICO + PARADE CELULAR DE LEVEDURA .....	37
FOTOGRAFIA 10 - VILOSIDADES DA MUCOSA DO INTESTINO DELGADO DE FRANGOS COM 45 DIAS. JEJUNO, TRATAMENTO 10 - PROBIÓTICO + FRUTOLIGOSSACARÍDEO.....	38
FOTOGRAFIA 11 - VILOSIDADES DA MUCOSA DO INTESTINO DELGADO DE FRANGOS COM 45 DIAS. JEJUNO, TRATAMENTO 11 - PROBIÓTICO + SAPONINA.....	38
FOTOGRAFIA 12 - VILOSIDADES DA MUCOSA DO INTESTINO DELGADO DE FRANGOS COM 45 DIAS. JEJUNO, TRATAMENTO 1 - PROBIÓTICO ( <i>Lactobacillus fermentum</i> ).....	39
GRÁFICO 1 - MÉDIAS COMPARATIVAS DA VILOSIDADE INTESTINAL, PROFUNDIDADE DE CRIPTA E ESPESSURA DA MUSCULAR DA MUCOSA, POR TRATAMENTO.....	33

**LISTA DE SÍMBOLOS**

ABS	-	Álcool Absoluto
AV	-	Altura da vilosidade
°C	-	Graus Centígrados
CFU	-	Unidade Formadora de Colônia
EMDM	-	Espessura da muscular da mucosa
EUA	-	Estados Unidos da América
FDA	-	Code of Federal Regulations
FOS	-	Frutoligossacatrídeo
g	-	Gramas
GPD	-	Ganho de Peso Diário
Kg	-	Quilograma
MOS	-	Mananoligossacarídeo
ML	-	Milímetros
NRC	-	National Research Council
%	-	Porcentagem
P	-	Probabilidade
PORT.	-	Portaria
PC	-	Profundidade de Cripta
®	-	Marca registrada
T	-	Tratamento
TON	-	Tonelada
UFPR	-	Universidade Federal do Paraná
VRE	-	Enterococos Resistentes a Vancomicina
W	-	Watts

## RESUMO

Foram utilizados 1920 frangos de corte machos e fêmeas, da linhagem "Ross", com o objetivo de avaliar o efeito da substituição dos antibióticos por probióticos, prebióticos, simbióticos e saponina sobre o ganho de peso e mucosa do intestino delgado. Foi utilizado um delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições (duas de machos e duas de fêmeas) por tratamento. Os tratamentos (T) tiveram uma dieta básica, diferindo apenas o tipo de aditivo utilizado para cada tratamento: T1 sem antibiótico, T2 com antibiótico, T3 levedura viva, T4 parede celular de levedura (mananoligossacarídeo), T5 frutoligossacarídeo, T6 saponina, T7 *Bacillus subtilis*, T8 (T3 + T7), T9 (T4 + T7), T10 (T5 + T7), T11 (T6 + T7) e T12 *Lactobacillus fermentum* LPB. Foram analisados: peso médio das aves aos 07, 21, 36 e 45 dias, altura de vilosidade, profundidade de cripta e espessura da muscular da mucosa. Não houve diferença estatística ( $P < 0,05$ ) para ganho de peso aos 45 dias, sendo perfeitamente possível substituir os antibióticos por saponina, probióticos, prebióticos e simbióticos, sem diminuir o desempenho das aves. O tratamento com saponina resultou em maior altura de vilosidade e menor profundidade de cripta, seguido dos tratamentos 11 e 4. A saponina favorece o desenvolvimento da vilosidade intestinal. Quanto maior a altura da vilosidade, menor a espessura da muscular da mucosa.

Palavras-chave: antibiótico, mucosa intestinal, prebiótico, probiótico e saponina.

## ABSTRACT

A number of 1,920 male and female Ross broilers chickens was utilized in an experiment to evaluate the effect of substitution of antibiotics for probiotics, prebiotics and saponin on performance and intestine mucosae. A randomized design with 12 treatments with four replicates each was utilized. The treatments: T1 without antibiotic, T2 with antibiotic, T3 with live yeast, T4 with cell wall yeast (mannan-oligosaccharide), T5 with fructooligosaccharide, T6 with saponin, T7 with *Bacillus subtilis* (probiotic), T8 (T3 + T7), T9 (T4 + T7), T11 (T6 + T7) and T12 *Lactobacillus fermentum* (LBF). The weight gain at 7, 21, 36 and 45 days was analyzed as well as the villus height and crypt and mucosae muscle width were analyzed. Statistical differences were not found for weight gains, suggesting that it is possible to substitute antibiotics with saponin, probiotics, prebiotics and symbiotics without losses in the performance of birds. The birds supplemented with saponin showed higher villus height and shorter crypt height following treatments with saponin + *Bacillus subtilis* and with cell wall yeast only. Saponin improved the development of intestinal villus and reduced the mucosae muscle width.

**Key words:** Antibiotics, intestinal mucosae, prebiotic, probiotic and saponin.

## 1 INTRODUÇÃO

O uso de probióticos, prebióticos, e simbióticos na alimentação de aves vêm crescendo na última década, principalmente com o intuito de melhorar o ganho de peso, a conversão alimentar e atender às exigências das instituições de saúde e do meio ambiente.

O primeiro país a banir a utilização de antimicrobianos como promotores de crescimento na alimentação de aves foi à Suécia em 1986 e logo a seguir os E.U.A., Dinamarca, Alemanha e Finlândia.

Estes países concluíram que o uso destes produtos na alimentação animal pode contribuir para o aumento da resistência microbiana nas terapias humanas, tornando microrganismos patogênicos resistentes, e como consequência há necessidade da utilização de antimicrobianos com princípio ativo cada vez mais potente causando diversos efeitos indesejáveis ao organismo humano, tais como reações de hipersensibilidade e ações carcinogênicas e mutagênicas.

A entidade ligada à saúde animal da Comunidade Européia tem imposto barreiras comerciais ao Brasil, para importação de carne de frango, que tenha utilizado na sua alimentação promotores de crescimento com algum tipo de antimicrobiano.

Os probióticos, prebióticos e simbióticos utilizados na alimentação animal oferecem várias vantagens, sendo a mais importante a não utilização de drogas promotoras de crescimento, reduzindo assim a quantidade de resíduos de medicamentos na carcaça além da certeza de não ocorrer o aparecimento de microrganismos resistentes. Outro fator importante é a melhora na integridade da parede do trato gastrintestinal que é vital ao sistema de defesa do animal contra uma série de microrganismos patogênicos.

Considerando a dinâmica da avicultura e a necessidade de desenvolvimento de alternativas aos antimicrobianos promotores de crescimento para atender novos nichos de mercado, o presente trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos de aditivos alternativos aos antibióticos promotores de crescimento sobre o ganho de peso e a morfometria da mucosa intestinal de frangos de corte.

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 ADITIVOS NA ALIMENTAÇÃO DE AVES

Aditivo, de acordo com ROSEN (1996), BUTOLO (1998) e do FEED ADDITIVE COMPEDIUM (1998), é definido como uma substância adicionada à ração em pequenas quantidades, que possui função pró-nutricional, condicionadora ou profilática, não sendo prejudicial ao animal e não deixando resíduos no produto de consumo, desde que usado sob determinadas normas.

MILTENBURG (2000) menciona que o termo aditivo, não é mais utilizado, principalmente por sugerir uma conotação “não saudável”. A Comissão de Tecnologia do SINDIRAÇÕES/ANFAR/CBNA/Ministério da Agricultura (COMPÊNDIO BRASILEIRO DE ALIMENTAÇÃO ANIMAL, 1998) sugeriu a adoção do termo microingrediente de alimentação, que é definido como “toda substância ou mistura de substâncias intencionalmente adicionada aos alimentos para animais com a finalidade de conservar, intensificar ou modificar suas propriedades desejáveis e suprir as propriedades indesejáveis e que seja utilizada sob determinadas normas”. São classificados em 13 grupos quanto à sua natureza e função e divididos em três classes de acordo com seu modo de ação específico ou característica funcional, demonstrado no Quadro 1.

- a) pró-nutrientes: favorecem a utilização dos nutrientes dietéticos pelos animais, melhorando a sua eficiência de utilização e proporcionando melhor desempenho dos animais;
- b) coadjuvantes de elaboração: indica que o microingrediente pode ter efeito sobre as características físicas dos ingredientes ou da ração tais como cor, odor, consistência, conservação, e outros;
- c) profiláticos: microingredientes usados com o fim de prevenir a oxidação e destruição de vitaminas, a ocorrência de enfermidades ou intoxicações causadas por organismos patogênicos (bactérias, fungos, leveduras e protozoários).

QUADRO 1. CLASSIFICAÇÃO DOS ADITIVOS DE ACORDO COM SUA FINALIDADE

Grupo	Pró-nutrientes	Coadjuvantes de elaboração	Profiláticos
1. Acidificantes	•	•	•
2. Adsorventes	•	•	•
3. Aglutinantes	•	•	
4. Anticoccidianos	•		•
5. Antifúngicos	•		•
6. Antioxidantes	•	•	•
7. Conservantes	•	•	•
8. Aromatizantes/palatabilizantes	•	•	
9. Corantes		•	
10. Enzimas	•		
11. Pigmentantes	•		
12. Probióticos	•		
13. Promotores de crescimento e/ou eficiência alimentar	•		

FONTE: COMPÊNDIO BRASILEIRO DE ALIMENTAÇÃO ANIMAL, (1998).

Os promotores de crescimento têm sido estudados intensamente desde que foram introduzidos na dieta animal a partir de 1950. Para entender a atividade dos diversos microingredientes de alimentação, MILTENBURG (2000) citou que as atividades metabólicas da micro flora bacteriana interferem na produção animal e que a utilização destes microingredientes em baixas dosagens na alimentação de aves produz, em geral, uma melhora no crescimento e na conversão alimentar. Este autor também verificou que a utilização destes promotores de crescimento na alimentação animal atua inibindo o metabolismo bacteriano, e reduzindo a competição direta pelos nutrientes entre a bactéria e o hospedeiro, além de reduzir a produção microbiana de metabólicos tóxicos, como aminas, amônia e endotoxinas que afetam o epitélio intestinal, impedindo a absorção de nutrientes, como mostra o Quadro 2.

QUADRO 2. RESPOSTAS FISIOLÓGICAS, NUTRICIONAIS E METABÓLICAS QUE APARECEM EM AVES E SUÍNOS QUE RECEBEM DIETAS SUPLEMENTADAS COM ADITIVOS ANTIBACTERIANOS PROMOTORES DE CRESCIMENTO.

RESPOSTAS FISIOLÓGICAS	RESPOSTAS NUTRICIONAIS	RESPOSTAS METABÓLICAS
(-) tempo de transito do alimento no intestino	(+) retenção de energia	(-) produção de amônia
(-) diâmetro da parede intestinal	(-) perda de energia intestinal	(-) produção de aminas tóxicas
(-) comprimento da parede intestinal	(+) retenção de proteína	(-) produção de alfa-toxinas
(-) peso da parede intestinal	(+) proporcionam aminoácidos limitantes	(-) oxidação de ácidos graxos
(+) capacidade de absorção intestinal	(+) absorção de vitaminas	(-) excreção fecal de gorduras
(-) umidade fecal	(-) síntese de vitaminas	(=) síntese de proteínas hepáticas
(-) renovação de células da mucosa	(+) absorção de micro elementos	(+) fosfatase alcalina intestinal
(-) estresse	(+) absorção de ácidos graxos	(-) uréase intestinal
(-) (=) ingestão de alimento	(+) absorção de glicose	
	(+) absorção de cálcio	
	(+) nutrientes Plasmáticos	

(+) denota um incremento; (-) denota uma redução; (=) nenhuma alteração

FONTE: MILTENBURG, (2000).

De acordo com BARBERÀ (2000) em 1986 o governo Sueco banuiu os promotores de crescimento do tipo antimicrobiano. Os antimicrobianos e quimioterápicos somente podem ser incorporados na alimentação animal para alívio ou tratamento de doenças e não com o propósito de promotor de crescimento. A Suécia juntamente com os EUA no ano de 1995, fizeram um tratado de adesão com a União Européia para que esses países não permitissem o uso de promotores de crescimento por um período de quatro anos. Durante este período de tempo, outros países como a Dinamarca, Alemanha e Finlândia, baniram certos antimicrobianos tidos como promotores de crescimento, entre eles estão a Avoparcina, Tilosina, Espiramicina e Virginiamicina usados na alimentação animal, devido à preocupação de que os mesmos pudessem diminuir a efetividade dos antimicrobianos usados em medicina

humana.

Em meados de 1997 a Dinamarca e a Alemanha publicaram uma pesquisa enfatizando que a avoparcina, usada como promotor de crescimento em aves, suínos e outros animais, foi relacionada a um aumento da resistência a antimicrobianos em animais e humanos, segundo provas apresentadas à Comissão da União Européia em maio de 1998, proibindo o uso da avoparcina na alimentação animal. O fator fundamental para esta proibição foi à avaliação da existência de enterococos resistentes a vancomicina (VRE) nos hospitais. Os VRE foram amplamente encontrados no meio ambiente, levando à especulação de que esta resistência poderia ter sido transferida de animais que foram alimentados com um antimicrobiano glicopeptídeo da mesma família, a avoparcina (FEEDING TIMES, 1998).

São considerados aditivos antimicrobianos pelo Ministério da Agricultura, de acordo com a Portaria nº 159 de 19 de junho de 1992 todas as substâncias utilizadas para combater os microrganismos "in vivo" e "in vitro".

As normas sobre o uso de aditivos permitidos na alimentação de frangos estão disponíveis nos EUA, através do FDA (Code of Federal Regulations, Title 21) e Feed Additive Compendium e, no Canadá pelo "The compedium of medicating ingredient brochures".

De acordo com o Of. Circular DTPA nº 019/95, no Brasil o Ministério da Agricultura, tem sido questionado, por entidades da área de saúde, de defesa dos consumidores e pela imprensa, sobre a persistência da comercialização de promotores de crescimento e/ou eficiência alimentar em produtos destinados à alimentação animal. E, juntamente com a Portaria nº 193, de 12 de maio de 1998 onde é considerada a importância do cumprimento das legislações sobre o uso de antimicrobianos na alimentação animal, visto atender as exigências do MERCOSUL, no Brasil encontra-se a seguinte legislação:

- a) portaria nº 159, de 19 de junho de 1992, veta o uso de antimicrobianos para ação como aditivos sistêmicos promotores de crescimento ou conservantes para Tetraciclina, Penicilinas, Cloranfenicol e Sulfonamidas sistêmicas;

- b) ofício circular nº006/DNDA de 07 de abril de 1997 do Ministério da Agricultura recomenda que administração da nicarbazina em frangos de corte deve ser suspensa dez dias antes do abate das aves destinadas ao consumo humano;
- c) prot. 448 de 10 de novembro de 1998 do Ministério da Agricultura que proíbe a fabricação, a importação, à comercialização e o emprego de preparações farmacêuticas de uso veterinário, de rações e de aditivos alimentares contendo cloranfenicol, furazolidona e nitrofurazona, em animais cujos produtos não se destinem ao consumo humano;
- d) ofício Circular 19/98 de 16 de novembro de 1998 do Ministério da Agricultura, que suspende o uso de Avoparcina na alimentação animal.

Também nos EUA a pressão pela eliminação de aditivos nas rações animais é grande, desde 1999 e a exigência é de que os antimicrobianos utilizados ou relacionados com o uso humano sejam banidos do uso pecuário. A Academia Nacional de Ciências dos EUA recentemente concluiu que o uso de antimicrobianos na pecuária possui risco à saúde pública.

O pânico estabelecido pelo consumidor europeu e de outros países sobre os antimicrobianos utilizados na alimentação animal e o não consumo destes produtos, resultou na proibição definitiva destes produtos na dieta animal. Os governos destes países resolveram banir definitivamente estes produtos, pois é mais fácil sua proibição e o aumento do consumo de carne pela população do que a simples rejeição destes produtos, pois os prejuízos econômicos que isto causaria seria muito maior (FEEDING TIMES, 1998).

## 2.2 PROBIÓTICO

A palavra probiótico deriva do grego, e significa “para a vida” e tem tido inúmeros e diferentes significados ao longo dos anos.

FULLER (1989), definiu probióticos como “Suplemento alimentar de microrganismos vivos que afeta benéficamente a flora animal pelo melhoramento do equilíbrio microbiano no intestino”.

SMITH (1991) e FULLER (1992) determinaram que para um probiótico ser útil, os seguintes critérios devem ser obedecidos:

- a) o probiótico deve ser capaz de, para propósitos industriais, ser preparado de maneira viável e em larga escala;
- b) durante o uso e na estocagem, o probiótico deverá manter-se estável e viável;
- c) deverá ser capaz de sobreviver no ecossistema intestinal;
- d) o animal hospedeiro deve ser beneficiado ao abrigar o probiótico.

NAHASHON et al. (1996) citaram que as aves estão sujeitas a fatores estressantes, em situações como: debicagem, vacinações, extremos de temperaturas ambientais e ou doenças durante o crescimento e períodos de postura. A maior parte destes fatores estressantes reduz o consumo de alimentos, o qual pode resultar quebra no desempenho das aves.

Para controlar este desequilíbrio, as granjas em geral utilizam antimicrobianos de maneira indiscriminada que acabam deixando resíduos na carcaça, e ao consumir estes alimentos, o ser humano estará sendo prejudicado, causando diversos males à sua saúde, como o aumento da resistência bacteriana a determinados antimicrobianos.

POLLMANN (1985) concluiu que o probiótico *Bacillus subtilis*, cepa BN (*Bacillus natto*), era capaz de diminuir os níveis de *E. coli* e amônia no tubo digestivo de aves. JIRAPHOCAKUL et al. (1990) demonstraram que o uso do *Bacillus subtilis*, cepa BN, melhoram a condição de eubiose. WOHLKE et al. (1992) observaram uma melhora significativa na conversão alimentar, ganho de peso e consumo de ração para frangos machos que receberam probióticos na ração na concentração de  $75 \times 10^9$  de *Bacillus natto*.

REQUE (1999) identificou a cepa *Lactobacillus fermentum* LPB, de procedência do ceco do frango, que produz uma substância inibitória frente a cepas ditas patogênicas, como o ácido fórmico, láctico e o acético, podendo também produzir bacteriocinas, substância inibitória de origem protéica. Este autor, baseado nos resultados obtidos nos experimentos a campo, concluiu que o uso de probiótico

substituindo o antimicrobiano não afetou significativamente o ganho de peso, consumo de ração e a conversão alimentar.

SILVA (2000) cita que o benefício dos probióticos na avicultura possui duas ações principais:

- a) determinar melhores índices zoeconômicos, maior produtividade, aumento de ganho de peso e melhor conversão alimentar;
- b) reduzir a colonização intestinal por alguns patógenos, como as salmonelas.

Por outro lado JUNQUEIRA (2001) citou que os resultados para a utilização de probióticos são inconsistentes. Isso fica evidenciado pelo estudo realizado por LODDI et al. (2000) que, ao estudarem o efeito do uso de probióticos (LBC ME 10®, ingrediente ativo *Enterococcus faecium* Cernelle 68,  $1 \times 10^{10}$  CFU/g de produto) e antimicrobiano (avoparcina) sobre o desempenho, rendimento e qualidade de carcaça de frangos de corte, observaram que o uso de probiótico não propiciou melhora nos resultados de desempenho. Os autores comentaram que os resultados obtidos podem ser consequência da criação das aves em instalações novas, com ótimas condições profiláticas, sem uma situação de desafio. Desse modo, a microbiota intestinal teria se desequilibrado com a suplementação com o probiótico, assim o microrganismo, que deveria promover o crescimento, tornou-se um agente “infectante” e que, provavelmente, deprimiu a metabolização e absorção dos nutrientes, resultando em menor desempenho das aves. E assim JUNQUEIRA (2001) concluiu que, apesar de promissora a utilização de ingredientes probióticos na alimentação de aves, as respostas em benefício do hospedeiro, destes probióticos, como promotores de crescimento, parecem ser específicas e, também, inerentes às características particulares de cada microrganismo, como agente probiótico, demonstrando que o uso de um determinado microrganismo pode, em certas condições, deprimir o desempenho das aves.

O mecanismo de ação dos probióticos parece ser através de uma competição física no trato digestivo. Os microrganismos probióticos competem com os patógenos na ocupação dos sítios de aderência nas vilosidades intestinais, impedindo a livre

fixação dos mesmos, protegendo as vilosidades e a superfície absorptiva de toxinas irritantes produzidas pelos microrganismos patogênicos, permitindo a regeneração da mucosa lesada. Conforme o informativo técnico da BIOTECNAL (1999) se suficiente número de bactérias lácticas pode ser introduzido no trato intestinal, na época em que o equilíbrio está favorável ao desenvolvimento das bactérias patogênicas (estresse, doenças, troca de alimentação, clima, etc) ou quando nenhuma ou baixo número de bactérias lácticas estão presentes (ao nascimento ou após tratamento com antimicrobianos), então o distúrbio digestivo pode ser minimizado ou superado. A ação dos probióticos dirige-se basicamente à melhoria geral da saúde e do desempenho na produção animal. Os probióticos são biorreguladores do trato intestinal, tendo ação preventiva e curativa. O importante não é a quantidade de produto adicionado à ração animal, mas sim o número real de bactérias viáveis presentes. O mecanismo de ação dos probióticos é complexo, variável com o tipo de microrganismo utilizado na dieta animal, relacionado com fatores ambientais e condições físicas do animal hospedeiro.

### 2.2.1 Leveduras Vivas (*Saccharomyces cerevisiae*)

De acordo com BUTOLO (2001) as leveduras são as mais antigas fontes de proteínas unicelulares, consumidas inconscientemente pelo homem através de produtos naturais, bebidas e alimentos elaborados por processos fermentativos. Também na alimentação animal as leveduras, principalmente a *Saccharomyces cerevisiae* tem sido usada por décadas, através do uso de subprodutos da indústria de fermentação.

SERZEDELO (1961) já citava a possibilidade do aproveitamento de levedura na alimentação de suínos e aves. Para DESMONTS (1966), as leveduras utilizadas como concentrado protéico microbiano são classificadas em leveduras de recuperação, que constituem num subproduto das fermentações alcoólicas, e as leveduras de cultivo (VANANUVAT, 1977 e WATERWORTH, 1990), são representadas pelos gêneros *Pchia*, *Cândida*, *Saccharomyces* e ainda o gênero *Torilopsis*.

DUCLUZEAU & BENSAADA (1982) realizaram estudos demonstrando o efeito antagônico microbiano da *Saccharomyces cerevisiae* frente a diferentes microorganismos patogênicos como *Cândida albicans*, *E. colli* e outras. BUTS et al. (1986) observaram outro mecanismo de ação relacionado com a atividade metabólica da levedura, o aumento da atividade enzimática específica do epitélio intestinal, devido talvez à oportunidade do enterócito em chegar mais rapidamente na sua maturidade e conseqüentemente a maior produção de dissacaridases.

CRUMPIEN et al. (1989) relaciona a ação da *Saccharomyces cerevisiae* como promotor de crescimento para frangos de corte, devido à sua capacidade de reduzir o estresse dos animais, possivelmente, afetando a absorção de vitaminas e o metabolismo de proteínas. Por outro lado, BRADLEY et al. (1994) observaram que a suplementação de *Saccharomyces cerevisiae* diminuiu o número de células caliciformes.

As leveduras vivas ou não, possuem em sua composição 20 a 30% de carboidratos, que na grande maioria fazem parte da parede celular, composta principalmente por glucanas e mananas, as quais parecem ter impacto no sistema imunológico e habilidade em prevenir a colonização de bactérias patogênicas no trato gastrintestinal (SPRING, 2000).

O modo de ação das leveduras, ainda necessita de muitas pesquisas (BUTOLO, 2001). No que diz respeito às leveduras termolizadas, estas podem ser consideradas como boa fonte de aminoácidos, vitaminas do complexo B e minerais, além de nucleotídeos e outros co-fatores. Por não ser a levedura um hospedeiro natural do trato gastrintestinal, suas células não se aderem ao epitélio intestinal, multiplicam-se muito pouco e transitam juntamente com o bolo alimentar, funcionando assim, como um bio-promotor, diminuindo a pressão exercida pelos microorganismos patogênicos.

## 2.3 PREBIÓTICOS

Os prebióticos como ingredientes nutricionais não digeríveis que afetam benéficamente o hospedeiro, estimulando seletivamente o crescimento e atividade de uma ou mais bactérias benéficas do cólon, melhorando a saúde do seu hospedeiro. Alguns açúcares absorvíveis ou não, fibras, álcoois de açúcares e oligossacarídeos estão dentro deste conceito de prebióticos (GIBSON & ROBERFROID, 1995 e SILVA, 2000). Outro aspecto importante mencionado pelos autores é que um produto para ser considerado prebiótico não pode ser hidrolisado ou absorvido no intestino delgado, o prebiótico deve ser um substrato seletivo para um determinado grupo de bactérias comensais benéficas, e que seja capaz de alterar a microbiota intestinal, induzindo efeitos locais ou sistêmicos que sejam benéficos ao hospedeiro.

Para SILVA (2000) os prebióticos agem alimentando e estimulando o crescimento de diversas bactérias intestinais benéficas, cujos metabólitos atuam, também, reduzindo o pH através do aumento da quantidade de ácidos orgânicos presentes nos cecos, por outro lado, atuam bloqueando os sítios de aderência, imobilizando e reduzindo a capacidade de fixação de algumas bactérias patogênicas na mucosa intestinal. A manutenção de uma população bacteriana benéfica no trato intestinal através da inoculação contínua de probióticos e prebióticos (Simbióticos) reduz a incidência de enterites, controla patógenos intestinais como as Salmonelas, *Clostridium sp.*, *Campylobacter sp.*, melhorando a absorção de nutrientes, a eficiência alimentar, taxa de crescimento e uniformidade dos lotes.

Os prebióticos são ingredientes alimentares que não são digeridos na porção proximal do trato gastrointestinal de monogástricos, e que atuam estimulando o crescimento e/ou atividade de um limitado número de bactérias benéficas no intestino, melhorando assim a saúde do hospedeiro (JUNQUEIRA, 2001). Os oligossacarídeos, cadeias curtas de polissacarídeos, compostos de três a dez açúcares simples ligados entre si são os ingredientes que satisfazem a esses requerimentos com maior eficiência e com excelentes resultados.

### 2.3.1 Parede Celular de Levedura (Mananoligossacarídeo-MOS)

Mananoligossacarídeos (MOS) de acordo com ABRAHAM & BEACHEY (1985) e FIRON et al. (1987) são derivados complexos de glucomanoproteínas vindas da parede celular de leveduras, apresentando como modo benéfico de ação a adsorção de agentes patógenos. As bactérias patogênicas colonizam o trato gastrintestinal, ligando-se aos açúcares manose na superfície do intestino, ao fornecer uma "armadilha", uma rede de manose no complexo manano, os patógenos ligam-se à rede e são expelidos do sistema. Também foram mostrados que além dos coliformes, a salmonela e os clostrídios podem ser removidos desta forma.

A utilização de mananoligossacarídeo em dietas para animais apresenta um efeito mais promissor do que os tradicionais promotores de crescimento (SISAK, 1994; ZENNOH, 1995; VANDER BEKE, 1997 e NEWMAN, 2000).

Adicionando mananoligossacarídeo para frangos SANTIN et al. (2000), observaram efeito sobre o desenvolvimento das vilosidades intestinais, com aumento significativo na altura da vilosidade, nos três segmentos do intestino delgado, sendo este efeito mais acentuado na primeira semana de vida da ave. O ganho de peso das aves tratadas com mananoligossacarídeo foi maior aos 42 dias de idade, quando comparado com frangos não tratados com este prebiótico. Os autores concluíram que isto se deve possivelmente a melhora que o mananoligossacarídeo proporcionou à saúde do trato gastrintestinal, na primeira semana de vida das aves.

### 2.3.2 Frutoligossacarídeos

Pouco se sabe a respeito dos frutoligossacarídeos. Este prebiótico é constituído de moléculas de sacarose, nas quais, uma, duas ou três unidades de frutose são adicionadas por ligação glicosídica  $\beta$ - (2-1). Esses oligossacarídeos, derivados da sacarose, são encontrados naturalmente, em vegetais e plantas como alcachofra, raiz da chicória, dália, dente de leão, entre outras (JUNQUEIRA, 2001). No entanto FERREIRA & TESBINA (2000) comentaram que as concentrações de

frutoligosacarídeos são baixas, necessitando-se, dessa forma, de um consumo extremamente elevado, para obtenção dos efeitos fisiológicos desejados, porém podem ser sintetizados, enzimaticamente, a partir de sacarose ou extraídos dos alimentos e, posteriormente concentrados.

Por outro lado os frutoligosacarídeos são polissacarídeos que tem demonstrado excelentes efeitos prebióticos, “alimentando”, seletivamente algumas espécies de *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* e desta maneira, reduzindo a quantidade de outras bactérias como *Bacterioides*, *Clostridium* e *Coliformes* (SILVA, 2000).

## 2.4 SAPONINAS

As saponinas são glicosídeos esteroides com grande atividade surfactante, ou seja, diminuem a tensão superficial. Esta propriedade parece ser importante na absorção dos nutrientes pela mucosa intestinal em animais (BANGHAM & HORNE, 1962; GRUNWALD, 1974).

A saponina pode ser extraída da *Yucca schidigera*, uma planta nativa do deserto do sudoeste dos Estados Unidos da América, e parte do México que possui um alto teor de saponinas e glicocomponentes que tem a propriedade de capturar e reduzir os níveis de amoníaco, hidrogênio sulfurado e outros gases nocivos nos processos metabólicos dos animais e do ambiente (HEADON & DAWSON, 1990; HEADON, 1991).

WALKER (1994) ao adicionar extrato de *Yucca schidigera*, na alimentação de aves, observou uma redução da enzima urease no intestino, resultando na diminuição da mortalidade por ascite.

YEO & KIM (1997) realizaram um estudo em que se determinou o efeito de antimicrobianos, probióticos e extrato de *Yucca schidigera* na urease intestinal de frangos de corte e concluíram que o extrato de *Yucca schidigera* não diminuiu a atividade da uréase, mas diminuiu a produção de amônia, melhorando a concentração de uréia intestinal.

Ao utilizar o extrato de *Yucca schidigera* na água de beber de frangos de

corte DOMINGUES (1998a), obteve uma diminuição no consumo de alimento na ordem de 187 gramas para cada quilograma de ganho de peso, o que melhorou a conversão alimentar. DOMINGUES (1998b) observou também que o extrato de *Yucca schidigera* fornecido no México para cerca de oito milhões de frangos de corte, diminuiu os problemas respiratórios, devido a saponina reduzir a excreção de amoníaco intestinal, apresentando uma menor incidência de ascite, resultando em aves com maior peso. O autor forneceu saponina a frangos de corte e obteve conversão alimentar de 1,81 e peso médio de 2,250kg em um período de 43 dias.

Outra forma de obtenção da saponina é também através da planta nativa do Chile *Quillaja saponaria* Molina (INFORME TÉCNICO BERACA, 2000). O extrato desta planta apresenta aplicações importantes na alimentação de frangos de corte, como a redução de amoníaco e imunostimulante (resistência a *Salmonella*). Os extratos de quillay (*Quillaja saponaria* Molina) absorvem o amoníaco, e assim mesmo ativam o crescimento bacteriano reduzindo a eliminação de nitrogênio das fezes das aves. Comercialmente os extratos de quillay são usados para este fim no Japão e na Europa.

## 2.5 MORFOLOGIA INTESTINAL

De acordo com MACARI et al. (1994) o intestino delgado das aves é mais curto, porém semelhante ao dos mamíferos. A sua porção proximal, em forma de "U", envolve o pâncreas e é denominado de duodeno (porção inicial), jejuno (porção média) e íleo (porção final).

Com relação à absorção de nutrientes no intestino delgado, WHEATER et al (1994) citam que quatro fatores importantes combinam-se para proporcionar a área de superfície de absorção:

- a) o intestino delgado é extremamente longo;
- b) a mucosa e submucosa são dispostas em pregas circulares denominadas plicas circulares ou válvula de Kerckring, que são particularmente numerosas no jejuno;

- c) a superfície mucosa é constituída de numerosas projeções digiformes denominadas vilosidades, enquanto que a mucosa entre as bases das vilosidades é formada por criptas, denominadas de criptas de Lieberkühn;
- d) há microvilosidades na superfície luminal dos enterócitos, que são as células cilíndricas que recobrem as vilosidades e as criptas, estas células são responsáveis pelo processo de digestão e absorção.

Vilosidades intestinais são evaginações da mucosa que se projetam na luz do intestino delgado, seu comprimento segundo JUNQUEIRA & CARNEIRO (1999) varia de 0,5 a 1,5mm. Entre os pontos de inserção das vilosidades da mucosa observam-se orifícios onde desembocam as criptas, que na sua profundidade aparecem às células de Paneth, responsáveis pela secreção de secretina, somatostatina, enteroglucagon e serotonina (WHEATER et al, 1994; KOMM, 1978), produtoras de albumina bactericida (WILSCH, 1999) além disso na cripta ocorre a reposição dos enterócitos, que atuam na digestão e absorção da dieta das aves.

KOMM (1978), WILSCH (1999), JUNQUEIRA & CARNEIRO (1999), MACARI & MAIORKA (2000) e FISCHER DA SILVA (2001), citam que quanto maior o tamanho da vilosidade intestinal, maior é a capacidade que o animal possui para a absorção de alimentos. Os processos de absorção são totalmente dependentes dos mecanismos que ocorrem na mucosa intestinal, assim a integridade das células que compõem a mucosa intestinal é de fundamental importância para a absorção de nutrientes (WHEATER et al., 1994).

Os enterócitos são as principais células com capacidade para transportar monômeros para o interior da célula e para a corrente sangüínea, através da membrana basolateral. A maturação do enterócito ocorre durante o processo de migração da cripta para a ponta da vilosidade, e é dependente de estímulos para sua diferenciação. O número e tamanho das vilosidades dependem do número de células que o compõe, assim quanto maior o número de células, maior o tamanho da vilosidade. Entre as fendas intercelulares dos enterócitos encontram-se os linfócitos Ly, que desempenham um papel importante na defesa imunológica do trato (WHEATER et al., 1994).

A existência da fimbria (glicocalix) das microvilosidades do enterócito é

muito proeminente, confere proteção contra autodigestão e atua como local para absorção de enzimas digestivas pancreáticas. Outra função das fimbrias está associada à presença de receptores que são capazes de ligar-se a bactérias patogênicas e não patogênicas, e neste sentido manter a sanidade da mucosa intestinal (WHEATER et al., 1994; MACARI & MAIORKA, 2000; MAIORKA et al., 2001; BUTOLO, 2001).

A replicação dos enterócitos ocorre nas criptas, com grande capacidade mitótica, à medida que as células das criptas celulares se multiplicam, migram para a base da vilosidade, empurrando as outras células para frente delas, de forma que há uma contínua em direção ao ápice da vilosidade (CUNNINGHAM, 1992; PODOLSKY, 1993; MACARI, 1995; RIBEIRO, 2000). Para FISCHER DA SILVA (2001) o jejuno é o segmento com maior área de superfície apical do enterócito seguido do duodeno e íleo.

KOMM (1978) e WHEATER et al. (1994) descrevem a muscular da mucosa como uma fina camada de músculo liso que localiza-se imediatamente sob as criptas da mucosa e separa a mucosa da submucosa. A submucosa vascular estende-se para as plicas circulares e forma o seu centro. As túnicas circulares internas e longitudinais externas da camada muscular são responsáveis pela atividade peristáltica contínua do intestino delgado. Sendo assim, JUNQUEIRA & CARNEIRO (1999) observaram que este processo parece ser muito importante para a função do intestino delgado. O movimento rítmico das vilosidades deve-se a contração das células musculares lisas e microtubulos presentes no eixo das vilosidades, que se contraem várias vezes por minuto, bombeando o comprimento dos capilares linfáticos na direção dos vasos linfáticos do mesentério. Este tipo de contração do intestino é formado pelos seguintes eixos de inervação:

- a) *intrínseco*: que é constituído pelos neurônios que formam o plexo nervoso mioentérico, localizado entre as subcamadas muscular externa e interna e o plexo submucoso, localizado na submucosa, sendo responsáveis pelas contrações intestinais que ocorrem na ausência da inervação extrínseca.
- b) *extrínseca*: é formada por fibras colinérgicas do parassimpático que

estimulam a atividade do músculo liso intestinal e por fibras adrenergéticas do simpático que atenuam a atividade desta musculatura.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no aviário do Centro de Estação Experimental do Cangüiri, Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná, no Município de Pinhais/PR, com data de início 17/07/2001 à 31/08/2001. Foram utilizados 1920 pintos de corte "Ross" com um dia de idade. As aves foram distribuídas em boxes (4m<sup>2</sup>), numa densidade de 10 aves/ m<sup>2</sup>.

O experimento teve a duração de 45 dias e foi dividido em três etapas:

- a) pré-inicial de 1 - 7 dias
- b) inicial de 1-20 dias;
- c) crescimento de 21-35 dias;
- d) final de 36-45 dias.

Os doze tratamentos, utilizando ou não antimicrobianos, probióticos, prebióticos, saponina e a associação entre probiótico e prebiótico, foram formulados conforme as indicações dos fabricantes de cada produto, de acordo com o quadro demonstrativo a seguir:

## QUADRO 3 – TRATAMENTOS UTILIZADOS

TRATAMENTO	ADITIVOS
T1	SEM ANTIMICROBIANO
T2	ANTIMICROBIANO <sup>1</sup>
T3	LEVEDURA VIVA <sup>2</sup>
T4	PARADE CELULAR DE LEVEDURA <sup>3</sup>
T5	FRUTOLIGOSSACARÍDEO <sup>4</sup>
T6	SAPONINA <sup>5</sup>
T7	PROBIÓTICO <sup>6</sup>
T8	PROBIÓTICO E LEVEDURAS VIVAS <sup>7</sup>
T9	PROBIÓTICO E PAREDE CELULAR DE LEVEDURA <sup>8</sup>
T10	PROBIÓTICO E FRUTOLOGOSSACARÍDEO <sup>9</sup>
T11	PROBIÓTICO E SAPONINA <sup>10</sup>
T12	PROBIÓTICO <sup>11</sup>

<sup>1</sup> Avilamicina, 7ppm; <sup>2</sup> *Saccharomyces cerevisiae*, Biosaf® (2kg/ton); <sup>3</sup> Pronady®(2kg/ton); <sup>4</sup> Fructomix®(200g/ton); <sup>5</sup> Quilaya®(150g/ton); <sup>6</sup> *Bacillus subtilis*, Calsporin®(300g/ton); <sup>7</sup> Calsporin® e Biosaf®(300g/ton + 2kg/ton); <sup>8</sup> Calsporin® e Pronady®(300g/ton + 2kg); <sup>9</sup> Calsporin® e Fructomix®(300g/ton + 200g/ton); <sup>10</sup> Calsporin® e Quilaya®(300g/ton + 150g/ton); <sup>11</sup> *Lactobacillus Fementum* LPB (17,32g/7,5kg de premix).

## 3.1. MANEJO DA CAMA

A cama foi reutilizada, proveniente de dois lotes anteriores. Foi revirada, amontoada e houve um vazio sanitário do galpão por sessenta dias.

Um dia antes da chegada das aves, foram recolhidas amostras da cama de cada box, feito amostras por tratamento para cada Box. Foram recolhidas cinco amostras em cada box, sendo quatro próximo aos cantos e uma ao meio do box, e estas amostras foram enviadas ao “Centro de Diagnóstico Marcos Enrietti” para análise bacteriológica.

No 45º dia, foram recolhidas novas amostras de cama e enviadas ao mesmo laboratório para análise bacteriológica.

### 3.2 MANEJO NA FASE INICIAL

Na primeira semana, montou-se um círculo de proteção em cada box, com a finalidade de manter os pintinhos próximos às fontes de calor, alimentação e água. Conforme as aves foram crescendo, os círculos foram ampliados gradativamente e em torno do 12º dia foram retirados completamente.

Foi utilizada campânula elétrica com lâmpadas infravermelha de 220W por box, além de campânulas a gás em número de quatro distribuídas no corredor entre os boxes com termostato para ajudar no aquecimento do ambiente. A temperatura interna do galpão foi controlada, por um termômetro anexado próximo às aves.

Até o terceiro dia os comedouros tubulares e bebedouros pendulares ficaram apoiados no chão. Ao quarto dia foram pendurados e no sétimo dia as aves foram vacinadas contra a doença de Gumboro. Durante esta fase, houve muitas oscilações de temperatura, principalmente à noite e madrugada quando a temperatura caía drasticamente e as campânulas elétricas ficaram ligadas durante todo este período. As aves foram pesadas no 1º, 7º e 20º dia de vida.

### 3.3 MANEJO NA FASE DE CRESCIMENTO E FINAL

A fase de crescimento compreendeu o período entre 21 e 35 dias. As aves receberam a ração de crescimento e os comedouros e bebedouros foram regulados conforme o seu desenvolvimento. As cortinas foram manejadas conforme as condições climáticas e o ambiente dentro do galpão.

O programa de luz utilizado foi feito através de um equipamento regulador de luminosidade temporizador (Timer), de forma que a cada duas horas de escuridão, as luzes do galpão acendiam por uma hora, até ao amanhecer.

Aos 35 dias as aves foram pesadas novamente e a alimentação foi alterada para a ração final e aos 45 dias foi repetido esta operação.

### 3.4 MORFOMETRIA INTESTINAL AOS 45 DIAS

Em cada box foi retirada uma ave ao acaso, no total de 48 que foram pesadas, abatidas através da sangria pela jugular, sendo retiradas às porções médias do intestino delgado (jejuno) com aproximadamente 2 cm de comprimento, para análise da mucosa intestinal.

O material coletado foi aberto longitudinalmente e fixado em alfaque (álcool 80%, 85ml; formalina a 37%, 10ml e ácido acético glacial P. A, 5 ml), por 16 horas. Após a fixação o material foi desidratado em álcool 70% por 24 horas, em seguida em álcool 80%, 90%, 95% álcool absoluto 1, absoluto 2, absoluto 3 durante uma hora e trinta minutos. Para a diafanização o material foi colocado em uma mistura de álcool etílico mais benzol a 50% por 1,5 horas, e passando em seguida para o benzol 1 durante 40 minutos, benzol 2 por 3 minutos, benzol 3 por 15 minutos. O material recebeu dois banhos de parafina de 2 horas cada, e mais quatro horas na parafina histológica a 60°C, para que o material fosse totalmente impregnado. Em seguida foi feita a inclusão final em parafina, que consistiu em colocar o material com a face de corte para baixo dentro de uma forma de papel, contendo a parafina líquida e deixada à temperatura ambiente para solidificar e depois este material foi emblocado em parafina histológica. A microtomia foi realizada em micrótomo de Mirrot com a espessura de seis micrômetros.

Os cortes foram colocados em lâminas histológicas contendo abomina de Mayer diluída sobre uma placa aquecedora com temperatura de 45°C, para obtenção dos mesmos e deixado durante doze horas para que os cortes secassem nas lâminas. Após esta etapa, o material seguiu para a coloração passando por uma bateria de desparafinização e hidratação; xilol 1, xilol 2, xilol mais álcool absoluto, álcool absoluto 1, 2, 95%, 90%, 80%, 70% durante 5 minutos cada, água corrente 10 minutos, dois banhos de água destilada. O material foi corado pela Hematoxilina de Marris durante um minuto, depois foi lavado em água corrente por 10 minutos; água destilada, dois banhos rápidos e Eosina Y, durante 45 segundos.

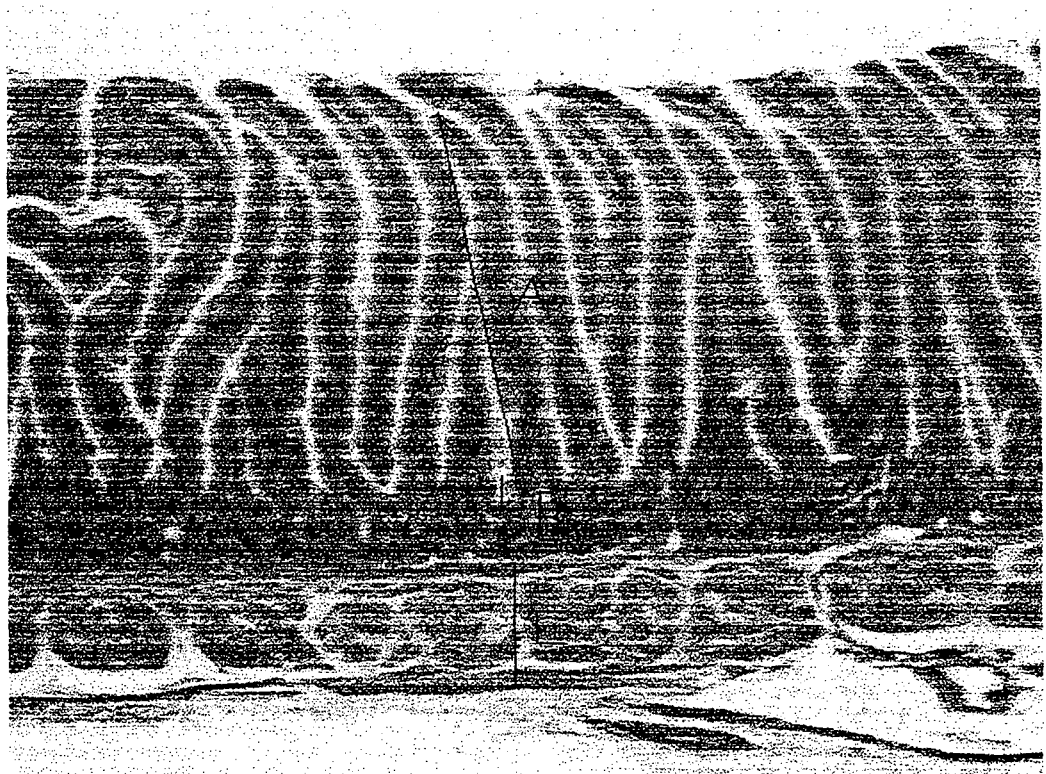
Em seguida foi processado por uma bateria de desidratação e diafanização: álcool 70%, 80%, 90%, 95%, ABS1, ABS2, ABS3, ABS mais xilol a 5%, xilol 1, xilol

2 e foi feita a montagem das lâminas em resina sintética (permanente).

As leituras das lâminas foram feitas no Laboratório de Análise e Manipulação de Imagem do departamento de Zoologia da Universidade Federal do Paraná, através do microcomputador acoplado com uma lupa e uma câmera com "software" Jandel Sigma Scan® Pro Image Measurement Software, versão 2.0 de 1993-1995, digital V.C.R. e vídeo size 640 X 480, aumento de lente 2 X. Foram feitas 90 leituras por lâmina medindo a altura da vilosidade (30 medidas), profundidade da cripta (30 medidas) e espessura da muscular da mucosa (30 medidas), lendo no total 168 lâminas, com captura média de cinco imagens por lâmina, sendo analisadas e medidas cerca de 840 imagens e 15.120 dados numéricos.

As medidas para altura da vilosidade foi a partir da base superior da cripta até a ponta da vilosidade (Figura 1). As criptas foram medidas entre as vilosidades da base inferior até a base superior da cripta. A muscular da mucosa foi medida entre a sua camada interna e externa (Figura 1).

FIGURA 1- MEDIDA DA ALTURA DA VILOSIDADE (A), PROFUNDIDADE DE CRIPTA (B) E ESPESSURA DA MUSCULAR DA MUCOSA (C).



### 3.5 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O delineamento foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial, sendo os fatores 12 tratamentos e dois sexos com duas repetições por sexo, totalizando 48 unidades experimentais com 40 aves cada. Os dados foram analisados através do programa estatístico "SAEG", e as médias comparadas pelo teste de Tukey, com 5% de probabilidade, conforme modelo estabelecido pelo Prof. Dr. Luiz Mário Fedalto do Departamento de Zootecnia-UFPR. O modelo estatístico utilizado foi o descrito abaixo:

$$Y_{ijk} = u + \text{tre}_i + \text{se}_j + \text{tre:se}_{ij} + e_{ijk}$$

Onde:  $Y_{ijk}$  = efeito de variável<sub>k</sub>, no sexo<sub>j</sub> e tratamento<sub>i</sub>

$u$  = média geral

$\text{tre}_i$  = efeito do  $i$ -ésimo tratamento (  $i = 1$  a  $12$  )

$\text{se}_j$  = efeito do  $j$ -ésimo sexo (  $j = 1$  a  $2$  )

$\text{tre:se}_{ij}$  = efeito da interação do tratamento<sub>i</sub> e sexo<sub>j</sub>

$e_{ijk}$  = erro associado

### 3.6 ALIMENTAÇÃO

A ração fornecida para as aves foi formulada conforme as normas e padrões nutricionais baseadas no NRC (1994), com níveis de nutrientes descritos na Tabela 1. As aves receberam rações iguais, diferenciando apenas o tipo de premix, que já continha o aditivo em sua fórmula.

TABELA 1 – COMPOSIÇÃO PERCENTUAL E CALCULADA DAS RAÇÕES INICIAL, CRESCIMENTO E FINAL PARA FRNGOS DE CORTE.

INGREDIENTES	RAÇÃO INICIAL	RAÇÃO CRESCIMENTO	RAÇÃO FINAL
Milho	46,72	55,04	60,39
Sorgo	8,00	8,00	8,00
Farelo de soja	34,34	25,86	20,60
Farelo de trigo	3,00	3,00	3,00
Farinha de carne	4,00	4,00	4,00
Óleo de soja	2,00	2,00	2,00
Fosfato bicálcico	0,21	0,29	0,34
Calcário	0,55	0,57	0,58
Sal	0,33	0,34	0,34
Premix vit/min*	0,50	0,50	0,50
Metionina	0,19	0,13	0,06
Lisina	0,16	0,27	0,19
COMPOSIÇÃO CALCULADA			
Proteína Bruta (%)	22,00	19,00	17,00
Energia Metabolizável (kcal/kg)	2.900	3.000	3.000
Cálcio (%)	0,90	0,90	0,90
Fósforo (%) disponível	0,45	0,45	0,45
Metionina (%)	0,54	0,44	0,35
Metionina + Cistina (%)	0,90	0,75	0,64
Lisina (%)	1,35	1,20	1,00

\* Suplemento mineral e vitamínico Supreave® (Nutris). Níveis de garantia por quilograma de produto: vit A - 1.800.000 UI, vit. D3 - 360.000 UI, vit. E - 4.000 mg, vit. K - 500 mg, vit. B1 - 400.000 mg, vit. B2 - 1.200 mg, vit. B6 - 600.000 mg, vit. B12 - 2,4 mg, ácido fólico - 200.000 mg, ácido nicotínico - 7.000 mg, pantotenato de cálcio - 3.200 mg, biotina - 12.000 mg, colina - 70.000 mg, ferro - 10.000 mg, cobre - 1.600 mg, manganês - 14.000 mg, cobalto - 40.040 mg, zinco - 11.000 mg, iodo - 200.384 mg, selênio - 60.001 mg, antioxidante - 20.180 mg, metionina sintética - 315.000 mg, veículo q.s.p 1.000g, salinomicina - 66ppm.

#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O resultado ao exame bacteriológico da cama no 1º dia revelou a presença de *Staphylococcus spp*, *Corynebacterium spp*, *Escherichia coli* e *Proteus spp*, conforme Laudo Oficial, protocolo nº 1849/01.

No 45º dia foram encontrados os seguintes microrganismos: *Staphylococcus spp*, *Escherichia coli* e *Proteus*. Comparando estes resultados com os obtidos no início do experimento pode-se verificar que a bactéria *Corynebacterium spp* desapareceu. Os exames foram realizados por tratamento e houve também uma ausência de salmonelas e clostridiuns nas amostras coletadas, o que mostra que a cama de frango utilizada no experimento estava parcialmente contaminada. Também deve-se considerar que o premix utilizado na formulação das rações continha 66 ppm de salinomicina, um anticoccidiano que pode ter interferido nos resultados microbiológicos da cama de frango aos 45 dias, reduzindo o desafio no galpão experimental.

O ganho de peso e o ganho de peso diário não foram afetados ( $P < 0,05$ ) pelos tratamentos aos 45 dias (Tabela 2 e 3). Estes resultados são coerentes com os obtidos por REQUE (1999) que não encontrou diferença estatística entre tratamentos com antimicrobianos frente aos probióticos, com relação ao ganho de peso das aves. Do mesmo modo VARGAS et al. (2000) e LODDI et al. (2000), concluíram que o uso de probióticos, prebióticos e simbióticos não propiciou melhora nos resultados de ganho de peso. Os autores comentam que a instalação com pouco desafio pode interferir no resultado de ensaios com este tipo de produto. Esta conclusão parece ser adequada, pois as análises bacteriológicas obtidas no início deste experimento e no final confirmam a problemática do desafio, porém deve-se ressaltar que a ausência de uma das bactérias no final do experimento também pode ter sido causada pela eficácia de alguns dos aditivos utilizados na alimentação das aves e ou do anticoccidiano presente no premix, colaborando para a diminuição do desafio no galpão experimental, causando um efeito inverso, ou seja, quanto maior a idade das aves menor foi o desafio enfrentado por elas.

Na primeira semana de vida das aves o T2 afetou o ganho de peso, embora

tenha diferenciado apenas do T11 (Tabela 2). Porém, o ganho de peso diário neste período apresentado (Tabela 3) não apresentou diferença ( $P>0,05$ ) entre os tratamentos, então não houve efeito dos tratamentos sobre o peso na 1ª semana.

No período de 1 a 20 dias de idade não houve efeito dos tratamentos sobre o ganho de peso e o ganho de peso diário foi pior para os T8 e T9 em relação ao T1. Neste período os resultados sugerem que o organismo da ave possa ter reconhecido os organismos vivos e fragmentado (MOS) como agentes infectantes.

O ganho de peso foi afetado pelos tratamentos ( $P<0,05$ ) aos 36 dias. Os tratamentos 2, 1, 12, 3, 5 e 6 apresentaram nesta ordem melhor ganho de peso (Tabela 2), diferindo apenas do tratamento 9, estes resultados também coincidiram com os obtidos para o ganho de peso diário de 1 a 36 dias, contidos na Tabela 3, sugerindo que fatores ambientais e/ou de manejo podem interferir nos resultados de ganho de peso das aves. Com exceção neste período para o T12, que indicou que a hipótese da contaminação do T7 não vale para todos os probióticos ou seja, depende do microrganismo. Mas aos 45 dias todos os tratamentos foram iguais, não diferindo ( $P>0,05$ ) para o ganho de peso e ganho de peso diário, tornando todos os tratamentos viáveis (Tabelas 2 e 3).

Com relação à análise da mucosa do intestino delgado na região do jejuno (Tabela 4, Gráfico 1 e Fotografias) houve diferença ( $P<0,05$ ) entre os tratamentos. O tratamento 6 com saponina apresentou maior altura de vilosidade e menor profundidade de cripta, seguido dos tratamentos 11, 4, 12, 10, 9, 8.

O fato dos melhores resultados morfométricos ter sido obtida com saponina se deve provavelmente por este produto natural ter ação no aumento da altura da vilosidade intestinal, como já foi observado por DOMINGUES (1998a), implicando em maior capacidade de absorção de nutrientes, o que pode resultar em melhor desempenho. A saponina também reduz os níveis de nitrogênio das fezes das aves, conforme INFORME TÉCNICO BERACA (2000), contribuindo com o meio ambiente e de acordo com DOMINGUES (1998 b) a saponina diminui a incidência de problemas respiratórios, por reduzir o amoníaco intestinal, apresentando uma menor incidência de ascite.

Como foi salientado, a saponina parece ser um produto com várias formas de ação, o que favorece seu desempenho perante os antimicrobianos, probióticos, prebióticos e simbióticos. O simbiótico T11 (saponina e probiótico) deveria apresentar melhores resultados do que os obtidos com o T6, pois juntar-se-ia mais um modo de ação, o do probiótico. Isto não ocorreu provavelmente porque o uso do probiótico, em certas condições pode deprimir o desempenho das aves, podendo o organismo da ave reconhecê-lo como agente infectante (JUNQUEIRA, 2001). Esta hipótese tem coerência, pois no T7 foi observado uma mucosa pouco íntegra, com menor número de vilosidades, além de apresentar baixos índices numéricos em relação à altura da vilosidade quando comparada com os outros tratamentos, sugerindo que o organismo da ave pode ter reconhecido o probiótico como agente infectante, interferindo nos resultados obtidos dos tratamentos com simbióticos, interferindo principalmente no resultado de ganho de peso do T9.

Com relação às vilosidades de um modo geral, mostradas nas Fotografias de 1 a 12, foi observado que o tratamento testemunha sem antimicrobiano, embora não tenha havido diferença estatística aos 45 dias com relação a ganho de peso, apresentou uma mucosa pouco íntegra.

Para o tratamento com antimicrobiano, que apresentou também uma mucosa pouco íntegra, comparando com os outros tratamentos, as aves estariam protegidas em função da ação do antimicrobiano sobre os microrganismos patogênicos, que parece prejudicar a integridade das vilosidades intestinais e/ou não ter qualquer efeito tóxico sobre a saúde intestinal. De acordo com as análises estatísticas o tratamento com antimicrobiano mostrou ter a menor altura da vilosidade intestinal, corroborando com os dados contidos no Quadro 2, citado por MILTENBURG (2000).

O T3 apresentou vilosidade íntegra, apesar da sua altura ter diferido ( $P < 0,05$ ) do T6 (Tabela 4). No período de 0 -7 dias, demonstrado na Tabela 2, este tratamento apresentou o menor ganho de peso, porém recuperando aos 36 dias.

O T4 foi o terceiro melhor tratamento, tendo maior altura de vilosidade com boa integridade da mucosa intestinal mas, não superior aos tratamentos 6 e 11, corroborando com SANTIN et al. (2000) ao mencionarem que o mananoligossacarídeo

tem efeito sobre o desenvolvimento das vilosidades intestinais, com aumento significativo da altura da vilosidade.

O T5 resultou em maior espessura da muscular da mucosa, conforme o Gráfico 1, mostrando que quanto maior a espessura da muscular da mucosa, menor a altura da vilosidade. Embora a altura da vilosidade não tenha sido relevante em relação aos outros tratamentos, este fato pode ser compensado pela espessura da muscular da mucosa para o T5, concordando com KOMM (1978), WHEATER et al. (1994) e JUNQUEIRA & CARNEIRO (1999) ao afirmarem que a muscular da mucosa é responsável pelos movimentos peristálticos e contração do intestino delgado, o que facilita a absorção de nutrientes nas microvilosidades da vilosidade intestinal, já que não houve diferença estatística de ganho de peso das aves, o que é justificado por outros tratamentos como o T1, T7 e T10.

Entre os probióticos utilizados nos tratamentos 3, 7 e 12, o T12 (*Lactobacillus fermentum* LPB) sobressaiu sobre os demais por resultar em altura de vilosidade e integridade intestinal superior aos tratamentos 3 e 7. Neste caso o organismo da ave parece não ter reconhecido o probiótico como agente infectante, como pode ter ocorrido no T7. Porém o T12 apresentou a maior profundidade de cripta, que pode ser relacionado com a alta atividade mitótica de enterócitos, que irão migrar da cripta em direção a ponta da vilosidade. Mesmo assim o T12 mostrou um maior número de vilosidade integras nos corte obtidos nas lâminas, sendo que para as condições em que foi realizado o experimento foi o melhor tratamento, entre os probióticos testados, considerando também que este tratamento mostrou ser eficaz em relação ao ganho de peso e ganho de peso diário aos 7 e 36 dias.

O simbiótico T11 foi o segundo melhor tratamento ( $P < 0,05$ ), apresentando a segunda maior altura de vilosidade e integridade da mucosa intestinal, talvez pela ação benéfica geral no intestino da ave proporcionada pela saponina. Apesar de não ter havido diferença estatística para ganho de peso e ganho de peso diário aos 45 dias, os tratamentos 8, 9, e 10, embora não tenham sido superiores aos tratamentos 6, 11 e 4 respectivamente, foram também tratamentos com respostas positivas em relação à integridade da mucosa intestinal, podendo ser evidenciado esta comparação no Gráfico

1, confirmando novamente que o ganho de peso das aves, nas condições em que foi realizado este experimento, não sofreu interferência dos tratamentos e, sendo assim, pode-se utilizar qualquer dos aditivos testados em substituição ao antimicrobiano.

TABELA 2 – EFEITO DE PROMOTORES DE CRESCIMENTO ALTERNATIVOS EM SUBSTITUIÇÃO AOS ANTIMICROBIANOS SOBRE O PESO CORPORAL

TRATAMENTO	PERÍODO	PERÍODO	PERÍODO	PERÍODO
	1-7 DIAS	1-21 DIAS	1-36 DIAS	1-45 DIAS
1-SEM ANTIMICROBIANO	0,2065AB	0,8027A	2,1485A	2,7940A
2-ANTIMICROBIANO <sup>1</sup>	0,2085A	0,7935A	2,1753A	2,7825A
3-LEVEDURA VIVA <sup>2</sup>	0,1978 B	0,7337A	2,115A	2,7045A
4-PAREDE CELULAR DE LEVEDURA <sup>3</sup>	0,2030AB	0,7613A	2,0568AB	2,7000A
5-FRUTOLIGOSSACARÍDEO <sup>4</sup>	0,2000AB	0,7642A	2,1087A	2,7773A
6-SAPONINA <sup>5</sup>	0,2047AB	0,7618A	2,1047A	2,7655A
7-PROBIÓTICO <sup>6</sup>	0,2007AB	0,7692A	2,0950AB	2,7578A
8-PROBIÓTICO E LEVEDURAS VIVAS <sup>7</sup>	0,2008AB	0,7297A	2,0673AB	2,7090A
9-PROBIÓTICO E PAREDE CELULAR DE LEVEDURA <sup>8</sup>	0,2020AB	0,7348A	1,9605 B	2,6540A
10-PROBIÓTICO E FRUTOLOGOSSACARÍDEO <sup>9</sup>	0,2022AB	0,7490A	2,0615AB	2,6840A
11-PROBIÓTICO E SAPONINA <sup>10</sup>	0,1982 B	0,7520A	2,0610AB	2,7518A
12-PROBIÓTICO <sup>11</sup>	0,2042AB	0,7705A	2,1135A	2,7617A
COEFICIENTE DE VARIAÇÃO	1,965%	3,923%	2,688%	2,986%

<sup>1</sup> Avilamicina, 7ppm; <sup>2</sup> *Saccharomyces cerevisiae*, Biosaf® (2kg/ton); <sup>3</sup> Pronady®(2kg/ton); <sup>4</sup> Fructomix®(200g/ton); <sup>5</sup> Quilaya®(150g/ton); <sup>5</sup> Saponina, Quilaya®150g/ton; <sup>6</sup> *Bacillus subtilis*, Calsporin®(300g/ton); <sup>7</sup> Calsporin® e Biosaf®(300g/ton + 2kg/ton); <sup>8</sup> Calsporin® e Pronady®(300g/ton + 2kg); <sup>9</sup> Calsporin® e Fructomix®(300g/ton + 200g/ton); <sup>10</sup> Calsporin® e Quilaya®(300g/ton + 150g/ton); <sup>11</sup> *Lactobacillus Fementum* LPB (17,32g/7,5kg de premix).

TABELA 3 – EFEITO DE PROMOTORES DE CRESCIMENTO ALTERNATIVOS EM SUBSTITUIÇÃO AOS ANTIMICROBIANOS SOBRE O GANHO DE PESO DIÁRIO (GPD) EM GRAMAS.

TRATAMENTO	GPD	GPD	GPD	GPD
	1-7 DIAS	1-20 DIAS	1-36 DIAS	1-45 DIAS
1-SEM ANTIMICROBIANO	0,0227A	0,0380A	0,0583A	0,0610A
2-ANTIMICROBIANO <sup>1</sup>	0,0233A	0,0375AB	0,0593A	0,608A
3-LEVEDURA VIVA <sup>2</sup>	0,0217A	0,0345AB	0,0575A	0,0590A
4-PAREDE CELULAR DE LEVEDURA <sup>3</sup>	0,0225A	0,0358AB	0,0560AB	0,0590A
5-FRUTOLIGOSSACARÍDEO <sup>4</sup>	0,0223A	0,0358AB	0,0573A	0,0605A
6-SAPONINA <sup>5</sup>	0,0230A	0,0357AB	0,0575A	0,0605A
7-PROBIÓTICO <sup>6</sup>	0,0223A	0,0362AB	0,0570AB	0,0602A
8-PROBIÓTICO E LEVEDURAS VIVAS <sup>7</sup>	0,0223A	0,0342 B	0,0562AB	0,0590A
9-PROBIÓTICO E PAREDE CELULAR DE LEVEDURA <sup>8</sup>	0,0225A	0,0342 B	0,0530 B	0,0580A
10-PROBIÓTICO E FRUTOLOGOSSACARÍDEO <sup>9</sup>	0,0222A	0,0353AB	0,0558AB	0,0588A
11-PROBIÓTICO E SAPONINA <sup>10</sup>	0,0220A	0,0355AB	0,0560AB	0,0603A
12-PROBIÓTICO <sup>11</sup>	0,0230A	0,0365AB	0,0575A	0,0605A
COEFICIENTE DE VARIAÇÃO	3,079%	3,849%	2,797%	3,091%

<sup>1</sup> Avilamicina, 7ppm; <sup>2</sup> *Saccharomyces cerevisiae*, Biosaf® (2kg/ton); <sup>3</sup> Pronady®(2kg/ton); <sup>4</sup> Fructomix®(200g/ton); <sup>5</sup> Quilaya®(150g/ton); <sup>5</sup> Saponina, Quilaya®150g/ton; <sup>6</sup> *Bacillus subtilis*, Calsporin®(300g/ton); <sup>7</sup> Calsporin® e Biosaf®(300g/ton + 2kg/ton); <sup>8</sup> Calsporin® e Pronady®(300g/ton + 2kg); <sup>9</sup> Calsporin® e Fructomix®(300g/ton + 200g/ton); <sup>10</sup> Calsporin® e Quilaya®(300g/ton + 150g/ton); <sup>11</sup> *Lactobacillus Fementum* LPB (17,32g/7,5kg de premix).

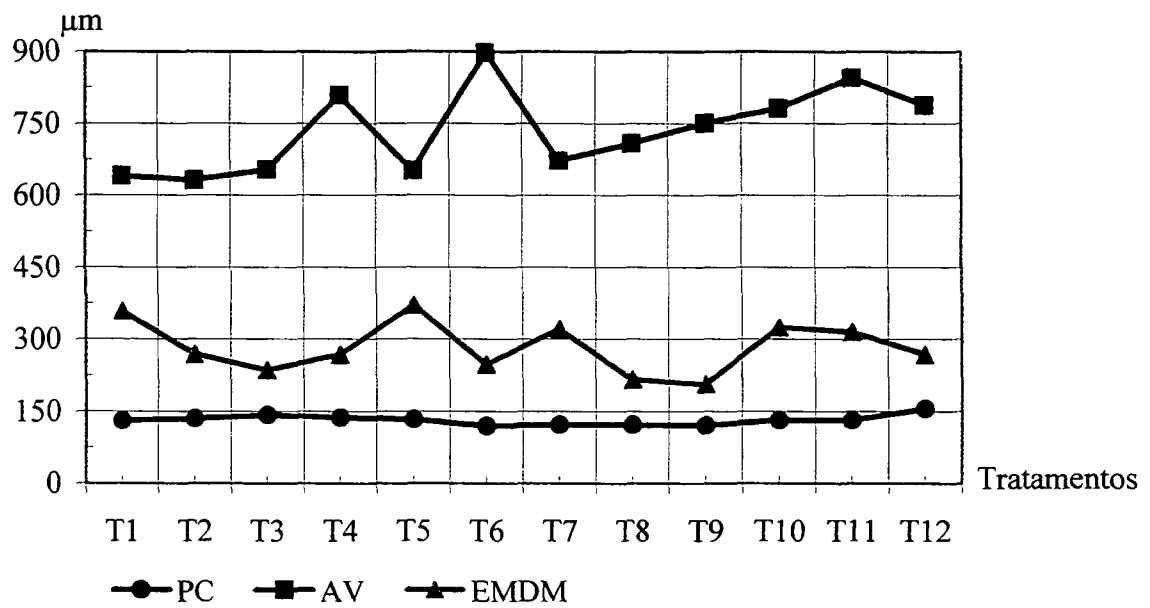
TABELA 4 – MÉDIAS DE AV=ALTURA DE VILOSIDADE, PC= PROFUNDIDADE DE CRIPTA E EMDM=ESPESSURA DA MUSCULAR DA MUCOSA, NA PORÇÃO MÉDIA DO INTESTINO DELGADO (JEJUNO) NOS FRANGOS AOS 45 DIAS DE IDADE.

TRATAMENTO	AV ( $\mu\text{m}$ )	PC ( $\mu\text{m}$ )	EMDM ( $\mu\text{m}$ )
1-SEM ANTIMICROBIANO	640,6 BC	131,1 BC	358,6 AB
2-ANTIMICROBIANO <sup>1</sup>	631,5 C	134,9 ABC	268,9 ABC
3-LEVEDURA VIVA <sup>2</sup>	653,1 BC	142,4 AB	235,6 BC
4-PAREDE CELULAR DE LEVEDURA <sup>3</sup>	808,0 ABC	137,0 ABC	267,9 ABC
5-FRUTOLIGOSSACARÍDEO <sup>4</sup>	651,2 BC	132,7 BC	371,1 A
6-SAPONINA <sup>5</sup>	897,4 A	119,2 C	247,7 ABC
7-PROBIÓTICO <sup>6</sup>	672,2 BC	122,1 BC	321,1 ABC
8-PROBIÓTICO E LEVEDURAS VIVAS <sup>7</sup>	708,6 ABC	122,3 BC	216,5 C
9-PROBIÓTICO E PAREDE CELULAR DE LEVEDURA <sup>8</sup>	750,5 ABC	120,4 C	206,6 C
10-PROBIÓTICO E FRUTOLOGOSSACARÍDEO <sup>9</sup>	781,4 ABC	131,7 BC	324,4 ABC
11-PROBIÓTICO E SAPONINA <sup>10</sup>	845,7 AB	131,5 BC	314,7 ABC
12-PROBIÓTICO <sup>11</sup>	788,9 ABC	155,7 A	268,3 ABC
COEFICIENTE DE VARIAÇÃO	11,64%	6,65%	18,46%

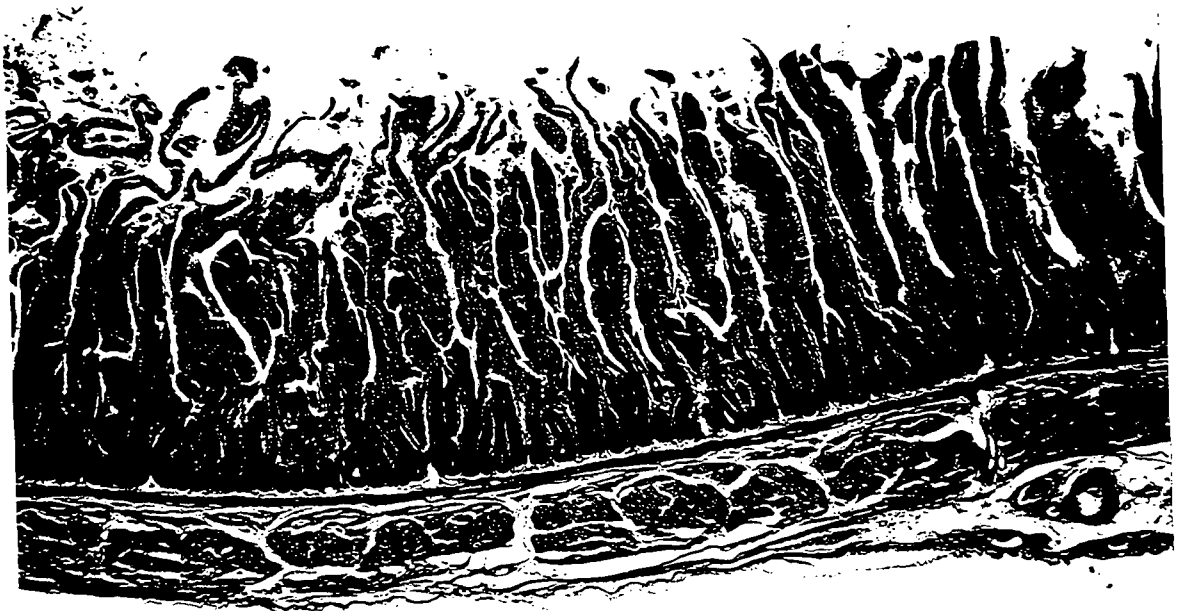
<sup>1</sup> Avilamicina, 7 ppm; <sup>2</sup> *Saccharomyces cerevisiae*, Biosaf® (2kg/ton); <sup>3</sup> Pronady®(2kg/ton); <sup>4</sup> Fructomix®(200g/ton); <sup>5</sup> Quilaya®(150g/ton); <sup>5</sup> Saponina, Quilaya®150g/ton; <sup>6</sup> *Bacillus subtilis*, Calsporin®(300g/ton); <sup>7</sup> Calsporin® e Biosaf®(300g/ton + 2kg/ton); <sup>8</sup> Calsporin® e Pronady®(300g/ton + 2kg); <sup>9</sup> Calsporin® e Fructomix®(300g/ton + 200g/ton); <sup>10</sup> Calsporin® e Quilaya®(300g/ton + 150g/ton); <sup>11</sup> *Lactobacillus Fementum* LPB (17,32g/7,5kg de premix).

\* Médias na mesma coluna, seguidas de letras diferentes, diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

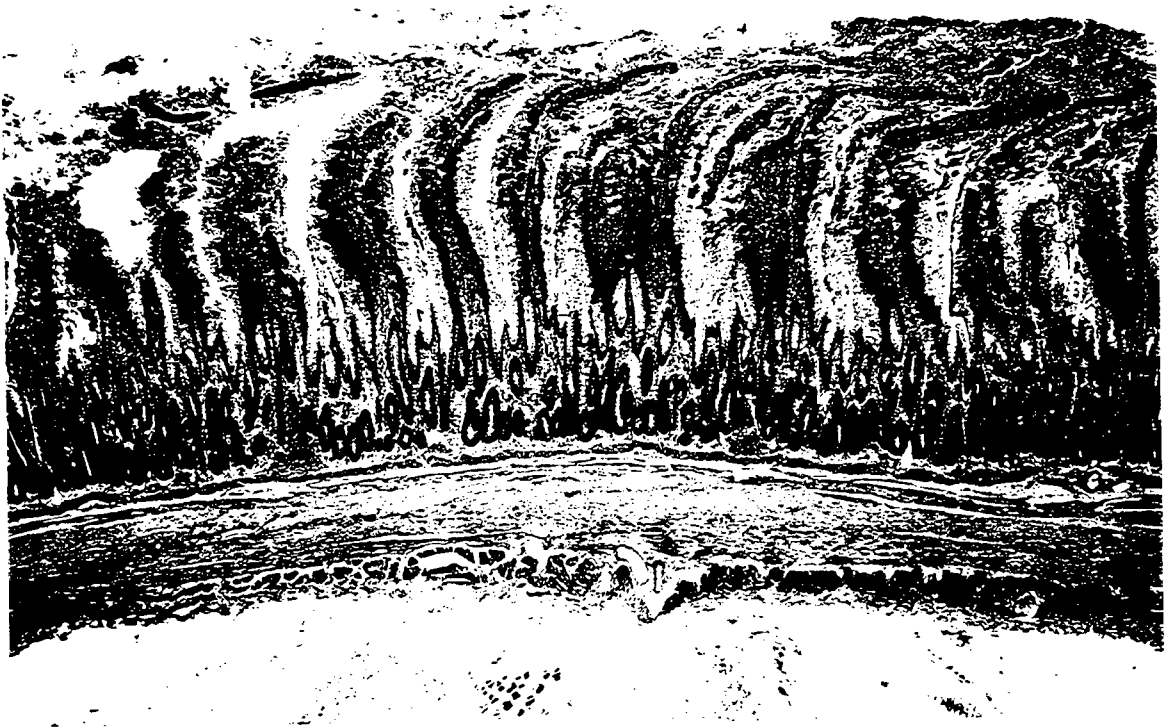
GRÁFICO 1- MÉDIAS COMPARATIVAS DA ALTURA DA VILOSIDADE INTESTINAL (AV), PROFUNDIDADE DE CRIPTA (PC) E ESPESSURA DA MUSCULAR DA MUCOSA (EMDM), POR TRATAMENTO.



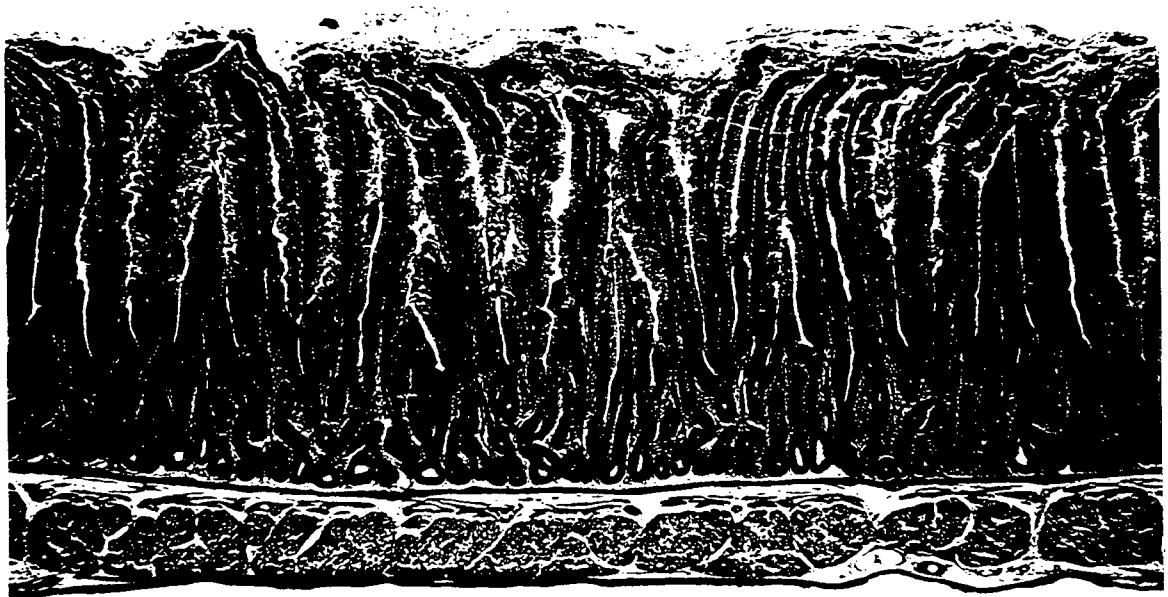
FOTOGRAFIA 1 – VILOSIDADES DA MUCOSA DO INTESTINO DELGADO DE FRANGOS COM 45 DIAS. JEJUNO, TRATAMENTO 1 - SEM ANTIBIÓTICO. AUMENTO = 40X



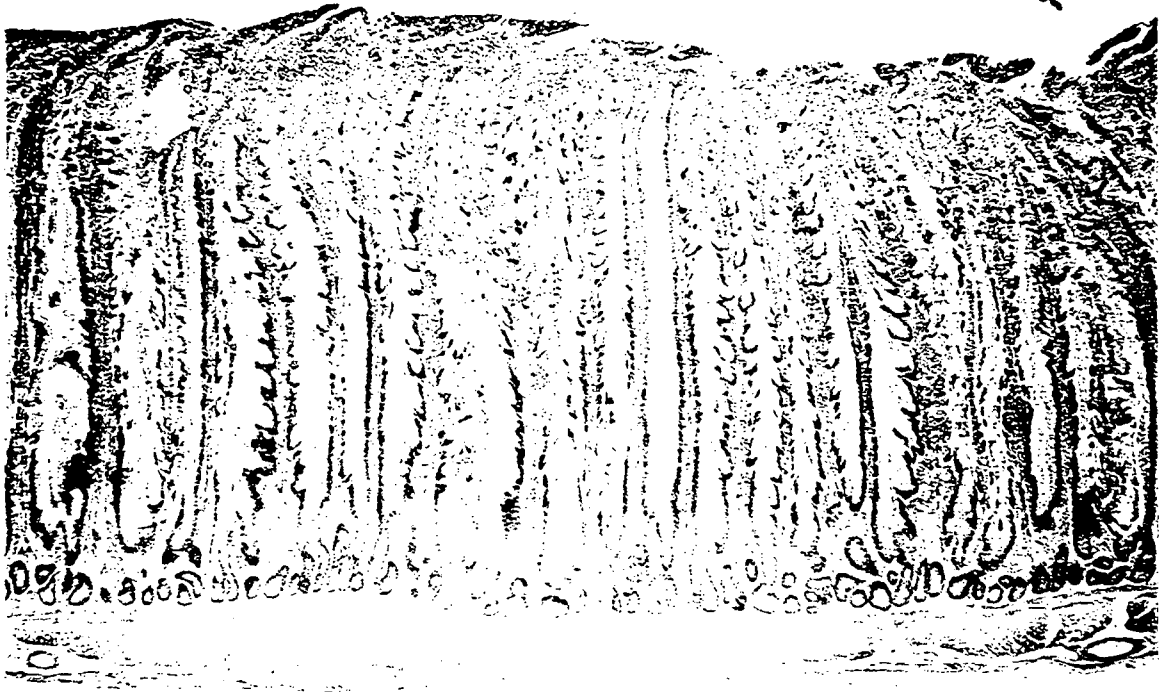
FOTOGRAFIA 2 - VILOSIDADES DA MUCOSA DO INTESTINO DELGADO DE FRANGOS COM 45 DIAS.  
JEJUNO, TRATAMENTO 2 - COM ANTIBIÓTICO. AUMENTO = 40X



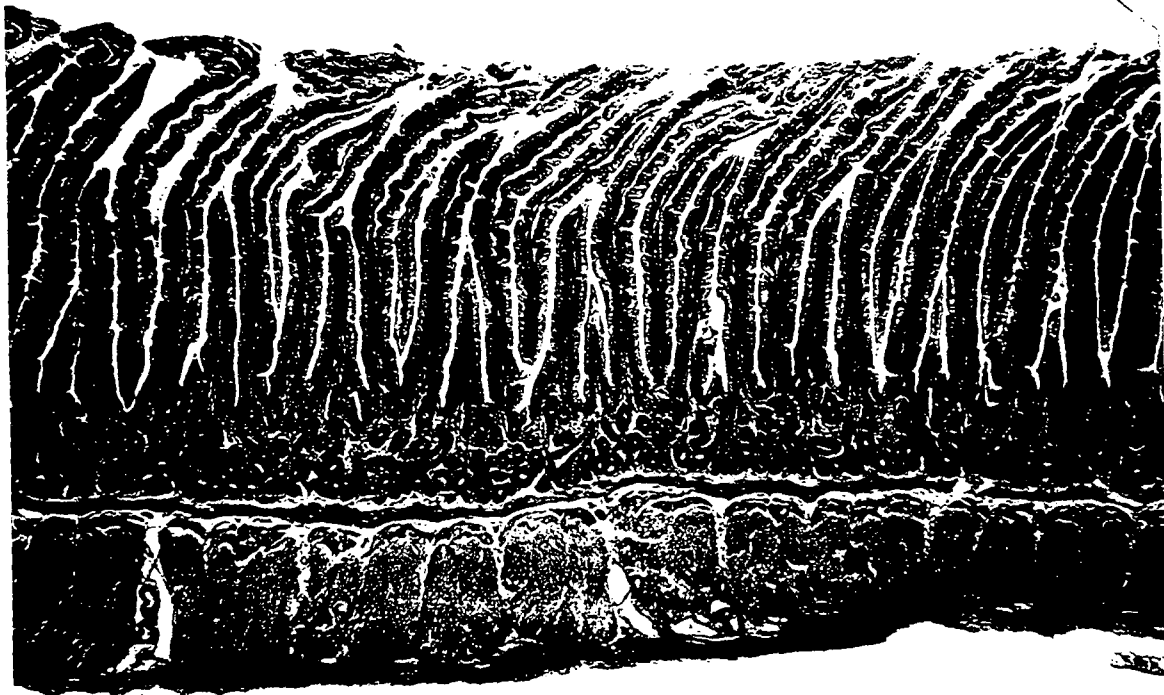
FOTOGRAFIA 3 - VILOSIDADES DA MUCOSA DO INTESTINO DELGADO DE FRANGOS COM 45 DIAS.  
JEJUNO, TRATAMENTO - 3 LEVEDURA VIVA. AUMENTO = 40X



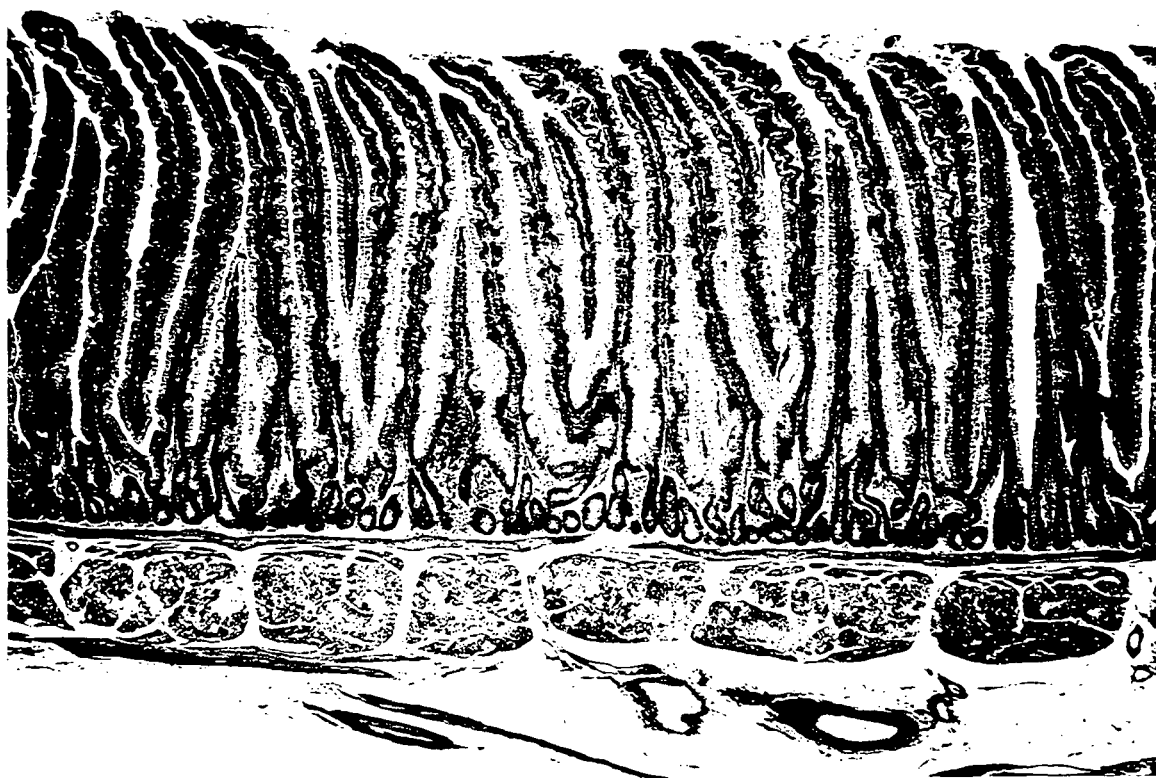
FOTOGRAFIA 4 – VILOSIDADES DA MUCOSA DO INTESTINO DELGADO DE FRANGO COM 45 DIAS. JEJUNO, TRATAMENTO - 4 PAREDE CELULAR DE LEVEDURA. AUMENTO = 40X



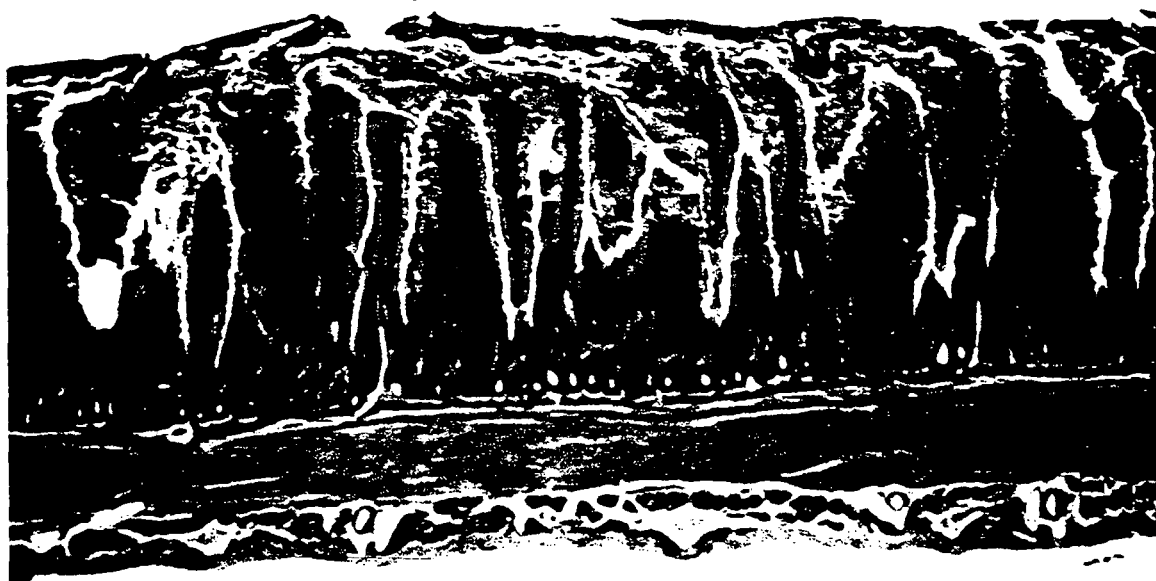
FOTOGRAFIA 5 – VILOSIDADES DA MUCOSA DO INTESTINO DELGADO DE FRANGO COM 45 DIAS. JEJUNO, TRATAMENTO - 5 FRUTOLIGOSSACARÍDEO. AUMENTO = 40X



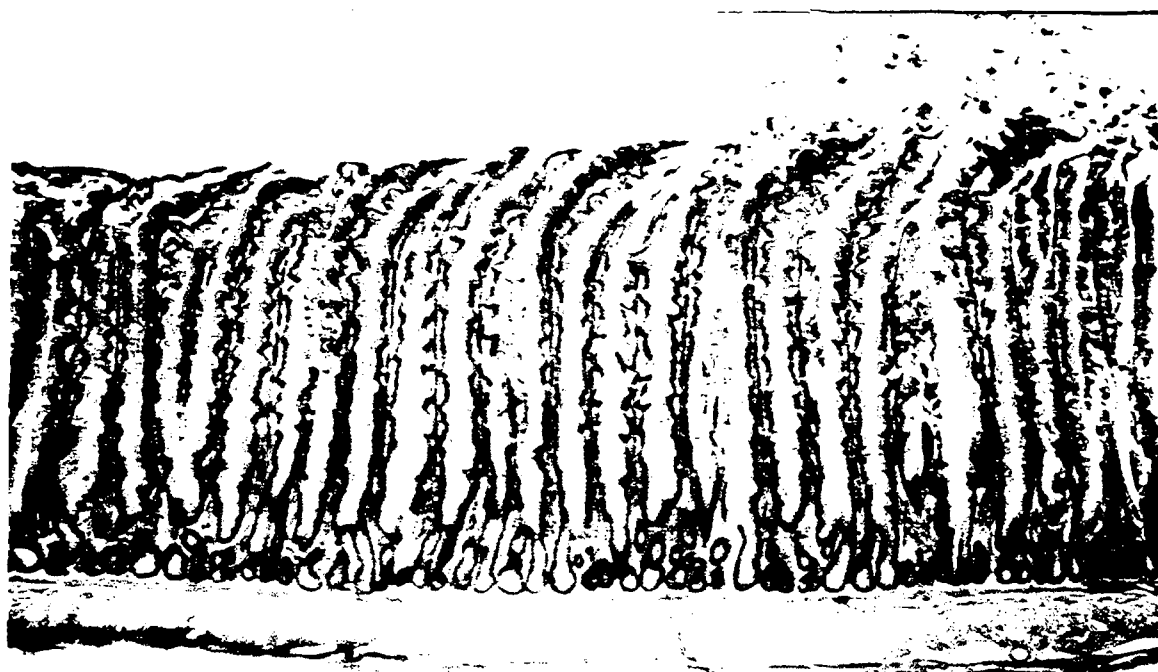
FOTOGRAFIA 6 – VILOSIDADES DA MUCOSA DO INTESTINO DELGADO DE FRANGO COM 45 DIAS.  
JEJUNO, TRATAMENTO - 6 SAPONINA. AUMENTO = 40X



FOTOGRAFIA 7 – VILOSIDADES DA MUCOSA DO INTESTINO DELGADO DE FRANGOS COM 45 DIAS.  
JEJUNO, TRATAMENTO - 7 PROBIÓTICO (*Bacillus subtilis*). AUMENTO = 40X



FOTOGRAFIA 8 – VILOSIDADES DA MUCOSA DO INTESTINO DELGADO DE FRANGO COM 45 DIAS. JEJUNO, TRATAMENTO - 8 PROBIÓTICO + LEVEDURA VIVA. AUMENTO = 40X

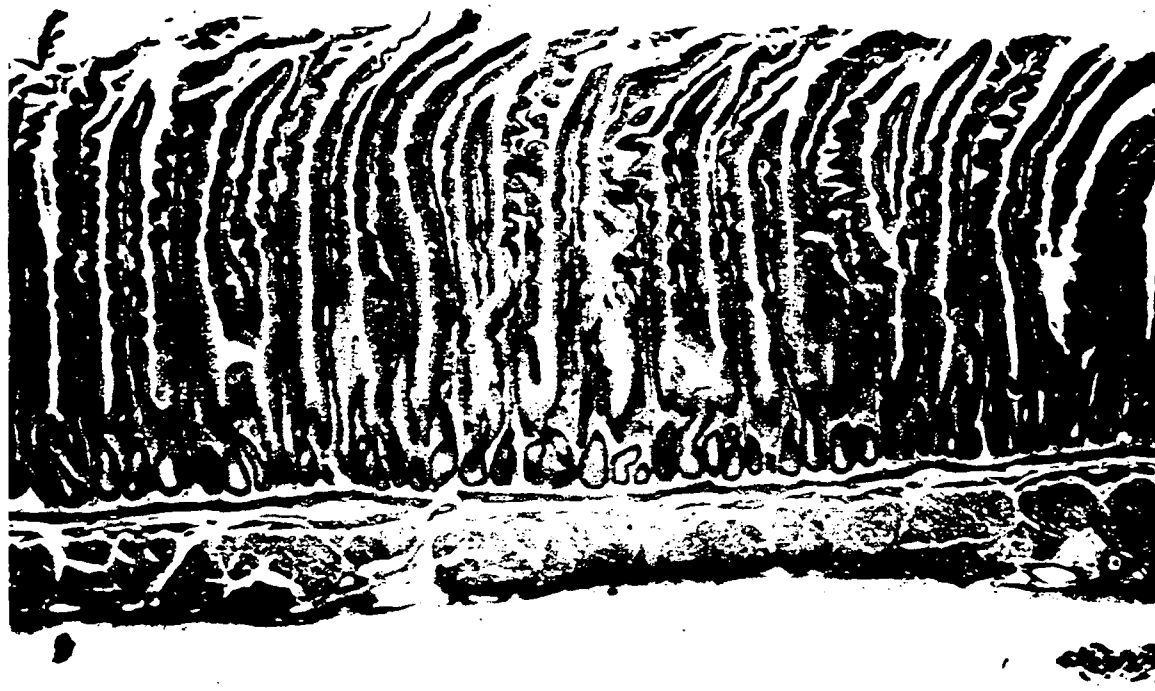


FOTOGRAFIA 9 – VILOSIDADES DA MUCOSA DO INTESTINO DELGADO DE FRANGO COM 45 DIAS. JEJUNO, TRATAMENTO - 9 PROBIÓTICO + PAREDE CELULAR DE LEVEDURA. AUMENTO = 40X

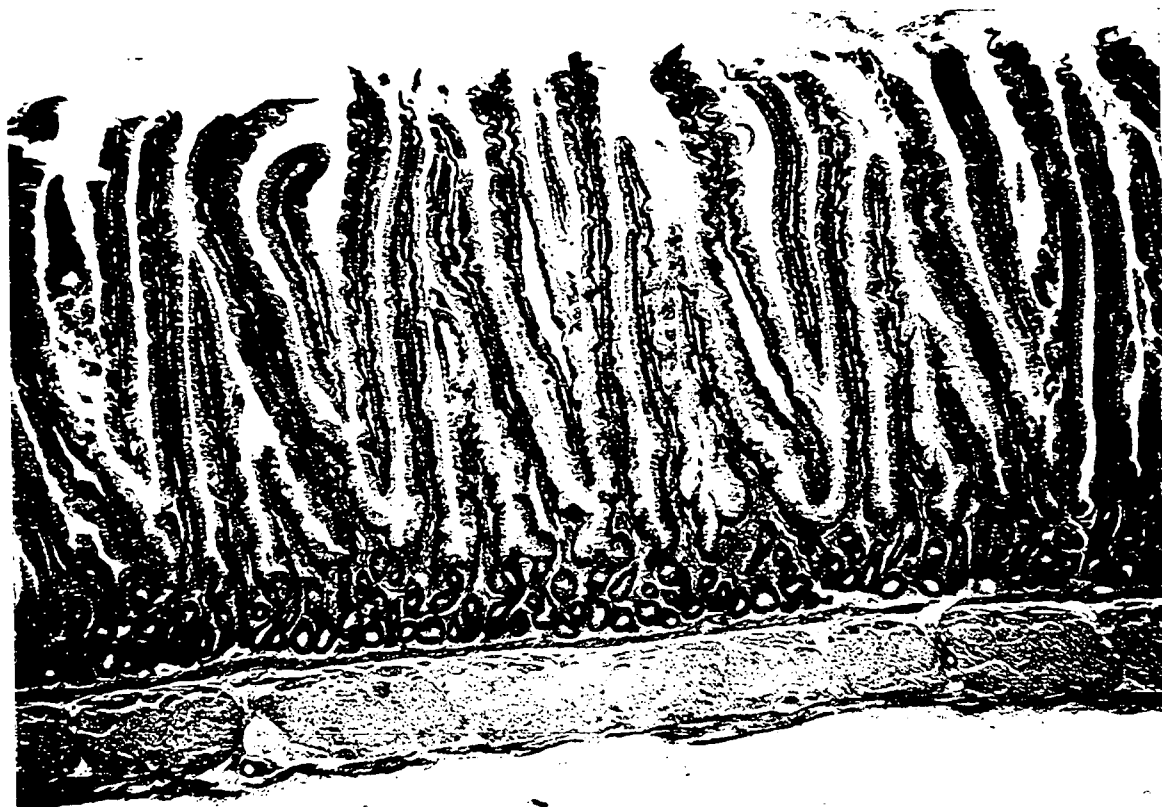


FOTOGRAFIA 10 – VILOSIDADES DA MUCOSA DO INTESTINO DELGADO DE FRANGO COM 45 DIAS. JEJUNO, TRATAMENTO - 10 PROBIÓTICO + FRUTOLIGOSSACARÍDEO.

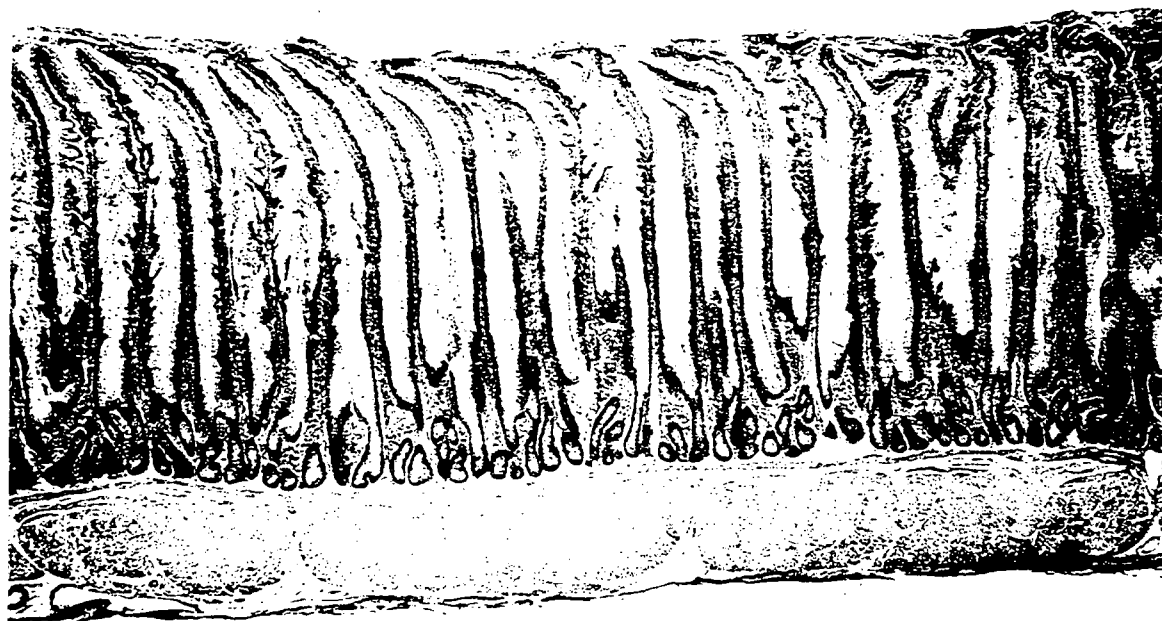
AUMENTO = 40X



FOTOGRAFIA 11 – VILOSIDADES DA MUCOSA DO INTESTINO DELGADO DE FRANGO COM 45 DIAS. JEJUNO, TRATAMENTO - 11 PROBIÓTICO + SAPONINA. AUMENTO = 40X



FOTOGRAFIA 12 – VILOSIDADES DA MUCOSA DO INTESTINO DELGADO DE FRANGO COM 45 DIAS. JEJUNO, TRATAMENTO - 12 PROBIÓTICO (*Lactobacillus fermentum*). AUMENTO = 40X



---

NOTA: Fotografias reveladas com fundo branco.

## 5. CONCLUSÕES

Nas condições experimentais apresentadas foi perfeitamente possível substituir o antibiótico promotor de crescimento por saponina, probióticos, prebióticos e simbióticos, sem perdas no peso das aves.

O baixo desafio no qual foi conduzido o experimento, confirmado pelas análises bacteriológicas da cama de frango, pode ter interferido nos resultados de peso das aves.

A espessura da muscular da mucosa tem uma relação inversa com a altura das vilosidades.

O frutoligossacarídeo, alimento para bactérias desejáveis, proporcionou um aumento da muscular da mucosa.

Saponina e mananoligossacarídeo têm resposta direta no desenvolvimento das vilosidades intestinais das aves e podem ser indicados para esse fim.

O T12 (*Lactobacillus fermentum*) entre os probióticos testados, apresentou melhor resultado na altura dos vilos da mucosa intestinal.

## REFERÊNCIAS

1. ABRAHAM, S. N.; BEACHEY, E. H. **Host Defensi Mechanisms**. New York: Raven Press, 1985.
2. BANGHAM A. D. & HORNE R. W. Action of Saponin on Biological Cell Membranes. Dec 8, 1962.
3. 199\_ BIOTECNAL, Pesquisa e Tecnologia em Nutrição.
4. BARBERÀ. J. B. The EU of antibiotic performance enhancers (additives) in animal feeding and its consequences: potential alternatives. **Irta**, Spain, p. 1-7, 2000.
5. BRADLEY, G. L.; SARAVAGE, T. F.; TIMMM, K. L. Enhanced utilization of dietary calcium, phosphorus, nitrogen and metabolizable energy in pouts feed diet containing a yeast culture. **Poultry Science**, Savoy, v. 73, p. 1766-1770, 1994.
6. BUTOLO, J. E. Agentes antimicrobianos em rações de aves e suínos. In: ADITIVOS NA PRODUÇÃO DE RUMINANTES. ADITIVOS NA PRODUÇÃO DE NÃO RUMINANTES. FRONTEIRAS DO MELHORAMENTO GENÉTICO ANIMAL. 35ª Reunião Anual da SBZ. **Anais...**, Botucatu, SP. P. 237-254, 1998.
7. BUTOLO, E. A. F. Leveduras vivas e termolizadas na alimentação animal. Simpósio Sobre Ingredientes na Alimentação Animal. Campinas, 2001.
8. BUTS, J. P. et al. Response of human and rat small intestinal mucosa to oral Administration of *S. Boulasdii*. **Pediatric Research**, Baltimore, v. 20, p. 192-196, 1986.
9. COMPÊNDIO BRASILEIRO DE ALIMENTAÇÃO ANIMAL. São Paulo: SINDIRAÇÕES/ANFAR; Campinas: CNBA/SDR/MA, p. 371, 1998.
10. CRUPIEN, R.; D'AMORE, T.; PANCHAL, C. J. **Yeast**, 5:3-9, 1989.

11. CUNNINGHAM, J. G. **Tratado de fisiologia veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 450, 1992.
12. DESMONTS, R. Boletim Informativo. APM. V. 8, p. 1-11, 1966.
13. DOMINGUES, J. O. Prueba de campo de los beneficios Del uso de Bioliquid 3000 (*Yuca schidigera*) en la producción de pollo de engorda en Monterrey, N.L. Agro Industrias el Álamo, México, nº A120, p. 1-3, 1998a.
14. DOMINGUES, J. O. Comentarios generales de nuestras experiencias en pollo de engorda comercial utilizando Biopowder M. Agro Industrias el Álamo, México, nº A151, p. 1, 1998b.
15. DUCLUZEAU, R; BENZAADA, M. Effect compare de l' administration unique ou em continu de *S. boulardii* sur l' élablissement de diverses souches de cândida dans lê tractus digestif de souris gnotoxéniques. Ann. Microbio. (Inst. Pasteur). 133 B: 491-501, 1982.
16. FERREIRA, C. L. L. R, TESBINA, E. Prebióticos: Estratégia dietética para manutenção da microbiota colônica desejável. Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento, 2000.
17. FEED ADDITIVE COMPENDIUM. The Miller Publishing Co. Minnesota; p. 536, 1998.
18. FEEDING TIMES. - V. 03, nº 1, 1998.
19. FIRON, N.; ASHKENAZI; et al. Infect. And Immun. 55:p. 472-476, 1987.
20. FISCHER DA SILVA, ANA VITÓRIA. **Efeitos da restrição alimentar precoce e da glutamina no desempenho e na mucosa intestinal em frangos**. Jaboticabal, 2001. 77 f. Tese (Doutorado em produção animal)- Universidade Estadual Paulista.
21. FULLER, R. Probiotics in man and animals. **Journal of Applied Bacteriology**, Oxford, v. 66, p. 365-378, 1989.

22. FULLER, R. **Probiotics the scientific basis**. London: Chapman & Hall, 1992, 398 p.
23. GIBSON, G. R.; ROBERFROID, M.M. Dietary modulation of the human colonic microbiota: Introducing the concept of prebiotics. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 125, 1995.
24. GRUNWALD, C. Sterol molecular modifications influencing membrane permeability. **Plant Physiology**. v. 54, p. 624-628, 1974.
25. HEADON, D & DAWSON, K. *Yucca* extract controls Atmospheric ammonia levels. **Feedstuffs**, Minnetonka, p 16, 1990.
26. HEADON, D. *Yucca schidigera*: Definitive mode of action and application in animal feed. **The feed compounder**, Bakewell, v. 2 n° 2, p. 32-34, 1991.
27. INFORME TÉCNICO BERACA. Alimentación de pollos broiler: Extrato de quillay en polvo, Chile, 2000.
28. JIRAPHOKAKUL, S.; SULLIVAN, T. W.; SHAHANI, K. M. Influence of a briede *Bacillus subtilis* culture and antibiotics on performance and intestinal microflora in turkeys. **Poultry Science**, Savoy, v. 69, p. 1966-1973, 1990.
29. JUNQUEIRA, L. C. & CARNEIRO, J. **Histologia básica**. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999.
30. JUNQUEIRA, O. M. Avanços na nutrição de aves. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ZOOTECNIA/III CONGRESSO INTERNACIONAL DE ZOOTECNIA. (XI: 2001: Goiânia). **Anais**. Goiânia: UFG, 2001.
31. KOMM, F. H. **Atlas de histologia**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1978.

32. LODDI, M. M.; GONZALES, E.; TAKITA, T. S.; et al. Uso de probióticos e antimicrobianos sobre o desempenho, o rendimento e a qualidade de carcaça de frango de corte. **Revista Brasileira de zootecnia**. Viçosa, v. 29, n. 4, p. 1124-1131, 2000.
33. MACARI, M. **Mecanismos de proliferação e reparação da mucosa gastrointestinal em aves**. Chapecó, 1995.
34. MACARI, M.; FURLAN, R. L.; NAKAGHI, L.O. Anatomia e histologia funcional do trato digestivo. **FACTA**, p. 1-18, 1994.
35. MACARI, M.; MAIORKA, A. Função gastrintestinal e seu impacto no rendimento avícola. In: CONFERÊNCIA APINCO, 2000, Campinas. Anais, v. 2. Campinas: **FACTA**, 2000. 161-174.
36. MAIORKA, A.; SANTIN, E.; SUGETA, S.M.; ALMEIDA, J. G.; MACARI, M. Utilização de prebióticos, probióticos ou simbióticos em dietas de frangos. **FACTA**, v. 3, nº 1, p. 75-82, 2001.
37. MILTENBURG, G. Promotores e aditivos de crescimento em avicultura. CONFERÊNCIA APINCO, maio de 2000. Campinas, p. 205-215, 2000.
38. NAHASHON, S. N.; NAKAUE, H. S.; MIROSH, L. W. Performance of single comb white leghorn fed a diet supplemented with a live microbial during the growth and egg laying phases. **Animal Feed Science Technology**, Amsterdam, v. 57, p. 25-38, 1996.
39. NATIONAL RESEARCH COUNCIL. Nutrient requirements of poultry. Washington: National Academy Press, Ninth Revised Edition, 1994.
40. NEWMAN; K. E. Mannan oligosaccharide – A review of scientific data on this novel ingredient. Alltech Technical Publications. 2000.
41. PODOLSKY, D. K. Regulation of intestinal epithelial proliferation: few answers, many questions. **Am. J. Pyysiol.**, Bethesda, v. 264, n. 2, part 1, p. G179-G186, 1993.

42. POLLMANN, D. S. Probiotics in pig diet. Central Soya Feed Research. Indiana: Decatur, p. 193-205, 1985.
  
43. REQUE, E. F. **Isolamento, estudos fisiológicos e identificação de probiótico (*Lactobacillus fermentum*) para uso em frangos de corte.** Curitiba, 1999. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Universidade Federal do Paraná.
  
44. RIBEIRO; P. R. **Efeitos da adição de betaina, na ração de suínos, sobre a incidência de diarreia, desempenho e características de carcaça.** Jaboticabal, 2000. Dissertação (Doutorado em Produção Animal) - UNESP.
  
45. ROSEN, G. D. Feed Additive Nomenclature World's Poultry Science, Journal, v. 52, march, 1996.
  
46. SANTIN; E.; et al. Efeito de diferentes níveis de parede celular *S. cerevisiae* no desempenho e mucosa intestinal de frangos. **Revista Brasileira de Ciência Avícola.** Campinas, v. 2, p. 37, 2000.
  
47. SERZEDELO, A. Outras aplicações biológicas do melão. In: **II Semana de Fermentação Alcoólica.** Piracicaba. Anais. V. 2, led., p. 305-307, 1961.
  
48. SILVA, E. N. Probióticos e Prebióticos na alimentação de aves. Conferência Apinco' 2000. São Paulo: Facta, 2000.
  
49. SISAK. Alltech Technical Publications. 1994.
  
50. SMITH, J. Biotechnology group meeting probiotics – fact our fiction? **Journal of Chemical Technology and Biotechnology,** Oxford, v. 51, p. 539-570, 1991.
  
51. SPRING, P. Yeast's secret wear pon aids animal production. Feed Mix. Special, p. 32, 2000.

52. VANANUVAT, P. Value of yeast for poultry feeds. **Critical Reviews in Food Sciences and Nutrition**. Ames, v. 9, nº 4, 1977.
53. VANDER BEKE. Alltech Technical Publications. 1997.
54. VARGAS; J.R.; TOLEDO, R.S.; ALBINO, L.F.T.; et al. Uso de probióticos e prebióticos em rações de frangos de corte. *Revista Brasileira de Ciência Avícola*, p. 31, sup. 2, 2000.
55. WALKER, R. Intestinal ammonia and ascites mortality. **Poultry International**, May, v. 33, nº 5, p. 50-52, 1994.
56. WALTERWORTH, D. G. Single cell protein. In. *National Feed Sources or Use in Swine Production*. P. A. Thaken and Kirkwood, 1990.
57. WHEATER, P. R; BURKITT, H. G; DANIELS, V. **Histologia funcional**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A., 1994.
58. WILSCH, ULRICH. *Histologia*. 5ª. Rio de Janeiro: Ganabara Koogan, 1999.
59. WOHLKE, L. F. **Utilização do probiótico *Bacillus natto* como promotor de crescimento na alimentação de frangos de corte**. Curitiba, 1992. Dissertação (Mestrado em Ciência Veterinária) - Universidade Federal do Paraná.
60. YEO, J. & KIM, K. Effect of feeding diets containing an antibiotic, a probiotic or *Yucca* extract on growth and intestinal urease activity in broiler chicks. **Poultry Science**, Savoy v. 76, p. 381-385, 1997.
61. ZENNOH. Alltech Technical Publications. 1995.