



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

MARCELLE CRAVEIRO ABREU DE MELO

AVALIAÇÃO DE MICRORGANISMOS COMO PROBIÓTICO NA ALIMENTAÇÃO
DE FRANGOS DE CORTE

FORTALEZA

2018

MARCELLE CRAVEIRO ABREU DE MELO

AVALIAÇÃO DE MICRORGANISMOS PROBIÓTICO NA ALIMENTAÇÃO DE
FRANGOS DE CORTE

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Zootecnia. Área de concentração: Nutrição Animal e Forragicultura.

Orientador: Prof. Dr. Ednardo Rodrigues Freitas

Coorientadora: Dra. Sarah Gomes Pinheiro

FORTALEZA

2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

M486a Melo, Marcelle Craveiro Abreu de.
Avaliação de microrganismos como probiótico na alimentação de frangos de corte / Marcelle Craveiro Abreu de Melo. – 2018.
80 f.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Fortaleza, 2018.

Orientação: Prof. Dr. Ednardo Rodrigues Freitas.

Coorientação: Prof. Dr. Sarah Gomes Pinheiro.

1. Aditivos. 2. Bactérias. 3. Leveduras. 4. Microbiota. 5. Saúde intestinal. I. Título.

CDD 636.08

MARCELLE CRAVEIRO ABREU DE MELO

AVALIAÇÃO DE MICRORGANISMOS COMO PROBIÓTICO NA ALIMENTAÇÃO DE
FRANGOS DE CORTE

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Zootecnia. Área de concentração: Nutrição Animal e Forragicultura.

Aprovada em: 19/01/2018

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Ednardo Rodrigues Freitas (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Germano Augusto Jerônimo
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Profa. Dra. Irani Ribeiro Vieira Lopes
Universidade Federal do Cariri (UFCA)

Prof. Dr. Pedro Henrique Watanabe
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Profa. Dra. Silvana Cavalcante Bastos Leite
Universidade Estadual Vale do Acaraú (UVA)

Aos meus pais, **Florisvaldo Batista de Melo Filho** e **Ana Alba Craveiro de Melo**, e a minha querida irmã, **Emanuelle Craveiro de Melo**, por sempre estarem presentes e serem os meus verdadeiros exemplos a seguir.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Deus, a Quem tudo confio e acredito, por ser minha base e o alicerce da minha vida, sempre acalmando meu coração e restaurando a minha fé.

Aos meus pais, Florisvaldo Batista de Melo Filho e Ana Alba Craveiro de Melo, por me mostrarem o verdadeiro sentido da família, sempre presentes e nunca medindo esforços para realizar os meus sonhos e os da minha irmã. Obrigada por todo o amor e a dedicação, por me ensinarem os princípios de vida, dos quais me orgulho de ter e por me mostrarem que vale a pena sonhar!

À minha querida irmã, Emanuelle Craveiro de Melo, por ser o grande amor da minha vida, sendo para sempre “minha flor, meu bebê, minha cara”.

Ao meu noivo, Danilo Rodrigues Fernandes, por ser a minha pessoa no mundo, que cuida de mim como os meus pais cuidam e que me faz acreditar em um futuro MUITO feliz, sendo fundamental para tornar os meus dias mais leves, animados e cheios de amor. Obrigada por acreditar no meu potencial, até mais do que eu mesma, por me ajudar na realização deste trabalho e por ser um grande exemplo de dedicação.

À Família Rodrigues Fernandes, por completar a minha família, por serem sempre tão carinhosos e atenciosos comigo, torcendo pelo nosso sucesso e vibrando com cada conquista.

À Isabel Cristina Rodrigues, pela presença frequente em minha casa e ajuda dedicada. À minha Loreninha, por ter me mostrado o verdadeiro e mais puro amor.

Ao professor e orientador, Dr. Ednardo Rodrigues Freitas, que muito ensinou e contribuiu para o meu crescimento. Pela sua excelente orientação e por ser um exemplo de competência e dedicação a pesquisa. Sou grata pela confiança depositada no meu trabalho e por todas as oportunidades proporcionadas desde a graduação.

À coorientadora Sarah Gomes Pinheiro, pela amizade, pela disponibilidade em ensinar e sanar as dúvidas e por toda a colaboração neste trabalho. Tornando-se uma referência pessoal e profissional.

Ao professor Dr. Pedro Henrique Watanabe, por todos os conselhos, ensinamentos e colaborações desde a graduação até hoje, sendo fundamentais para o meu crescimento acadêmico e pessoal.

Aos professores Dr. Germano Augusto Jerônimo do Nascimento, Dra. Irani Ribeiro Vieira Lopes e Dra. Silvana Cavalcante Bastos Leite, pela colaboração e disponibilidade para a realização deste trabalho.

Aos colegas que contribuíram durante o tempo em que este trabalho foi realizado, pela convivência e pelos momentos de esforço e diversão que não serão esquecidos. Em especial José Freire, Artur Bruno, Isadora Ribeiro e Ezequiel Coelho que participaram ativamente das atividades experimentais.

Aos amigos que concluíram ou que continuam no Setor de Avicultura, Danilo Fernandes, Germana Aguiar, Herbenson Marques, Davydz Herik, Edibergue Oliveira, Carla Nágila, Monik Oliveira, Rafael Nepomuceno, Heiciane Costa, Dulce Menezes e Polyana Andrade, pela ajuda nas atividades experimentais, pelos ótimos momentos de descontração e pela amizade que contribuíram para tornar a rotina mais agradável.

Aos funcionários do Setor de Avicultura da UFC representado principalmente por Isaías, Maninho e Diego, pela ajuda e contribuição para a execução do experimento.

Às minhas amigas desde a época de escola, Marília Rabelo, Kamile Saboia, Patrícia Oliveira, Giovanna Gomes, Lucíola Martins e Adriana de Queiroz, que mesmo com os períodos de distância nunca me abandonaram e que vibram comigo a cada conquista. E em especial, à Rafael Rabelo Pinheiro Cavalcante, nosso presente de Deus, que trouxe mais união e amor nas nossas vidas.

À CAPES pela concessão da bolsa de estudos.

À Universidade Federal do Ceará, em especial ao Departamento de Zootecnia e todos os seus professores e funcionários, pelo incentivo e valorização a minha formação profissional e a todos que de forma direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

À empresa Agropaulo Agroindustrial pela doação do produto probiótico testado.

"Tudo o que um sonho precisa para ser realizado é alguém que acredite que ele possa ser realizado "

(Roberto Shinyashiki)

RESUMO

Objetivou-se com esta pesquisa avaliar os efeitos da utilização de um grupo de microrganismos como probiótico sobre o desempenho, as características de carcaça, o desenvolvimento do trato digestório, o pH do conteúdo do trato, a qualidade e a contagem microbiológica da cama e os parâmetros sanguíneos dos frangos de corte. Foram utilizados 768 pintos machos com 1 dia de idade, da linhagem Ag Ross 308, distribuídos em delineamento inteiramente casualizado, com 6 tratamentos e 8 repetições de 16 aves por parcela experimental. O probiótico utilizado foi obtido a partir de uma mistura de bactérias, pertencentes aos gêneros *Lactobacillus* e *Acetobacter* (1×10^9 UFC/mL), e diferentes espécies de leveduras do gênero *Pichia* (1×10^8 UFC/mL). Os tratamentos consistiram em: T1 – ração sem adição de promotor de crescimento antibiótico (controle negativo); T2 – ração com adição de promotor de crescimento antibiótico (controle positivo); T3 – ração sem adição de promotor de crescimento antibiótico e com adição de 0,05% de microrganismos probióticos na ração; T4 – ração sem adição de promotor de crescimento antibiótico e com adição de 0,1% de microrganismos probióticos na ração; T5 – ração sem adição de promotor de crescimento antibiótico e com adição de 0,05% de microrganismos probióticos na água de bebida; T6 – ração sem adição de promotor de crescimento antibiótico e com adição de 0,1% de microrganismos probióticos na água de bebida. A utilização dos microrganismos como probiótico para frangos de corte, em diferentes concentrações e formas de administração, não influenciou significativamente o desempenho, as características de carcaça, o desenvolvimento do trato digestório, o pH do conteúdo do trato, a qualidade e a contagem microbiológica da cama. Entretanto, observou-se diferença significativa nos parâmetros sanguíneos para proteínas plasmáticas totais (PPT) das aves suplementadas com antibiótico e com 0,1% de microrganismos probiótico via ração. Diante dos resultados, pode-se inferir que os microrganismos como probiótico podem ser suplementados em até 0,1%, via ração ou água de bebida, sem comprometer o desenvolvimento e desempenho dos animais.

Palavras-chave: Aditivos. Bactérias. Leveduras. Microbiota. Saúde intestinal.

ABSTRACT

The purpose of this research was to evaluate the effects of the use of a group of microorganisms as probiotic on performance, carcass traits, development of the digestive tract, pH of the tract content, microbiological quality and count in the litter and blood parameters of broiler chickens. A total of 768 one-day-old male chicks of Ag Ross 308 line were used, in a completely randomized design with 6 treatments and 8 replicates of 16 birds per experimental plot. The probiotic used was obtained from a mixture of bacteria belonging to the genera *Lactobacillus* and *Acetobacter* (1×10^9 CFU / mL), and different yeast species of the genus *Pichia* (1×10^8 CFU / mL). The treatments consisted of: T1 – diet without addition of antibiotic growth promoter (negative control); T2 – diet with addition of antibiotic growth promoter (positive control); T3 – diet without addition of antibiotic growth promoter and addition of 0.05% probiotic microorganisms in feed; T4 – diet without addition of antibiotic growth promoter and with addition of 0.1% probiotic microorganisms in feed; T5 – diet without addition of antibiotic growth promoter and addition of 0.05% probiotic microorganisms in drinking water; T6 – diet without addition of antibiotic growth promoter and addition of 0.1% probiotic microorganisms in drinking water. The use of microorganisms as probiotic for broiler chickens at different concentrations and administration did not significantly influence the performance, carcass characteristics, development of the digestive tract, pH of the tract content, microbiological quality and count in the litter. However, a significant difference was observed in the blood parameters for total plasma proteins (TPP) of birds supplemented with antibiotics and with 0.1% of probiotic microorganisms via feed. Considering the results, it can be inferred that microorganisms as probiotic can be supplemented in up to 0.1%, via feed or drinking water, without compromising the development and performance of the animals.

Keywords: Additives. Bacteria. Gut health. Microbiota. Yeast.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Composição da ração controle para frangos de corte nas fases pré-inicial (1 a 7 dias de idade), inicial (8 a 21 dias), crescimento (22 a 35 dias) e final (36 a 42 dias).....	39
Tabela 2 – Efeito dos diferentes tratamentos sobre o desempenho de frangos de corte em diferentes idades	46
Tabela 3 – Efeito dos diferentes tratamentos sobre as características de carcaça de frangos de corte aos 42 dias de idade	47
Tabela 4 – Efeito dos diferentes tratamentos sobre o peso relativo dos órgãos de frangos de corte em diferentes idades	48
Tabela 5 – Efeito dos diferentes tratamentos sobre o pH do conteúdo dos órgãos de frangos de corte em diferentes idades	51
Tabela 6 – Efeito dos diferentes tratamentos sobre a umidade, pH e concentração de amônia volatilizada da cama de frangos de corte.....	52
Tabela 7 – Efeito dos diferentes tratamentos sobre a contagem microbiológica da cama de frangos de corte aos 42 dias de idade.....	54
Tabela 8 – Efeito dos diferentes tratamentos sobre o hemograma de frangos de corte	56
Tabela 9 – Efeito dos diferentes tratamentos sobre os parâmetros bioquímicos de frangos de corte	59

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA	Análise de Variância
ALT	Alanina aminotransferase
AST	Aspartato aminotransferase
CCA	Centro de Ciências Agrárias
CHCM	Concentração de hemoglobina corpuscular média
CV	Coefficiente de Variação
DZ	Departamento de Zootecnia
EDTA	Departamento de Zootecnia Ácido etilenodiamino tetra-acético
g	Gramas
g/ave	Gramas por ave
Hb	Hemoglobina
HDL	High density lipoprotein
He	Número total de hemácias
Ht	Hematócrito
IgA	Imunoglobulina A
Kg	Quilograma
LDL	Low Density Lipoprotein
Leuc	Leucócitos
Linf	Linfócitos
Log	Logarítimo
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
mg/g	Miligramas por grama
mL	Mililitros
n°	Número
ND	Não determinada
pH	Potencial hidrogeniônico
Plaq	Plaquetas
Prov	Proventrículo
ppm	Partes por milhão
PPT	Proteínas plasmáticas totais
SAS	Statistical Analysis System
SNK	Student Newman Keuls

spp	Espécies
Trig	Triglicerídeos
UFC	Unidade Formadora de Colônias
UFC	Universidade Federal do Ceará
UFC/g	Unidade Formadora de Colônias por grama
UFC/kg	Unidade Formadora de Colônias por quilograma
VCM	Volume corpuscular médio

LISTA DE SÍMBOLOS

°C	Grau centígrado
N	Normalidade
V	Volume
%	Porcentagem
+	Mais
-	Menos
>	Maior
<	Menor
*	Diferente estatisticamente em relação ao tratamento controle

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1	Aditivos promotores de crescimento na avicultura	16
2.2	Probióticos	19
2.2.1	<i>Modo de ação</i>	22
2.2.1.1	<i>Competição por sítio de ligação</i>	22
2.2.1.2	<i>Competição por nutrientes</i>	22
2.2.1.3	<i>Antagonismo direto</i>	23
2.2.1.4	<i>Estímulo do sistema imune</i>	24
2.2.2	<i>Microrganismos e seus efeitos probióticos</i>	24
2.2.2.1	<i>Lactobacillus com ação probiótica</i>	27
2.2.2.2	<i>Acetobacter com ação probiótica</i>	29
2.2.2.3	<i>Leveduras do gênero Pichia com ação probiótica</i>	30
2.3	Probióticos na alimentação de frangos de corte	32
3	MATERIAL E MÉTODOS	37
3.1	Probiótico	37
3.2	Alojamento, manejo das aves, delineamento e rações experimentais	37
3.3	Avaliação do desempenho das aves	40
3.4	Avaliação do desenvolvimento do trato digestório e pH do conteúdo do trato	40
3.5	Avaliação da qualidade da cama	40
3.6	Avaliação do rendimento de carcaça	42
3.7	Avaliação dos parâmetros sanguíneos	43
3.8	Análise estatística dos dados	43
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	45
5	CONCLUSÃO	62
	REFERÊNCIAS	63
	ANEXO	80

1 INTRODUÇÃO

A produção animal mundial vem passando por mudanças importantes no que se refere aos sistemas de produção. Assim, o comércio internacional de produtos alimentícios vem acompanhando a crescente influência da opinião pública, formada por grupos organizados, televisão, internet, entre outros (FREITAS *et al.*, 2014), que passam a interferir ativamente nos aspectos relacionados à forma de se produzir.

Nesse contexto, a proibição em muitos países ao uso de antibióticos como promotores de crescimento na alimentação animal tem estimulado os pesquisadores a buscar alternativas viáveis e sustentáveis para manter a saúde intestinal, melhorar o desempenho e a eficiência digestiva das aves (AMERAH *et al.*, 2013).

O uso de probióticos para frangos de corte é uma estratégia alternativa aos tradicionais promotores de crescimento utilizados na dieta, podendo proporcionar benefícios a saúde intestinal e imunitária do animal, por meio da redução na incidência de doenças infecciosas entéricas e da melhora do desempenho das aves (LEE *et al.*, 2010), garantindo a diversidade e a estabilidade da microbiota intestinal, a imunomodulação, o aproveitamento de nutrientes e a produção de agentes antimicrobianos no organismo, sem comprometer a carga microbiana global do trato digestivo dos animais (DIBNER e RICHARDS, 2005).

Segundo Andreatti Filho e Sampaio (2000), os probióticos devem ser utilizados desde o início do alojamento das aves, uma vez que esses animais são considerados estéreis do ponto de vista microbiológico. Havendo assim a necessidade de uma rápida colonização do trato gastrointestinal das aves jovens pelas bactérias benéficas presentes no aditivo utilizado nas rações (SEIFE *et al.*, 2017).

No entanto, apesar dos benefícios apresentados pelos probióticos, vários aspectos acerca da sua aplicação vêm sendo pesquisados e questionados, principalmente em relação aos seus efeitos nos índices de produtividade. Dessa forma, embora existam vários estudos que mostrem seus benefícios como aditivos na alimentação animal, existem ainda uma grande variabilidade de resultados que causam certa resistência por parte do setor industrial avícola em sua utilização em escala comercial (DE LOS SANTOS e GIL-TURNES, 2005).

Diante disso, é crescente a necessidade do mercado avícola quanto à utilização de suplementos alimentares seguros e viáveis como alternativa ao uso de antibióticos na produção de frangos de corte, sendo necessárias mais pesquisas para elucidar a eficiência e os efeitos das cepas de microrganismos presentes nos probióticos, levando em consideração todos os fatores que podem alterar sua atuação e efetividade na microbiota intestinal da ave.

Objetivou-se com a condução desta pesquisa, avaliar os efeitos da adição de diferentes níveis e formas de administração de uma cultura de microrganismos como probiótico na dieta de frangos de corte sobre o desempenho, as características de carcaça, o desenvolvimento do trato digestório, o pH do conteúdo do trato, a qualidade e a contagem microbiana da cama e os parâmetros sanguíneos no organismo das aves.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Aditivos promotores de crescimento na avicultura

A indústria avícola possui uma posição de destaque no mercado de alimentos, fornecendo proteína relativamente de baixo custo e de alta qualidade. Um dos fatores que contribuíram para a obtenção da alta produtividade apresentada na atualidade avícola foi a utilização de aditivos (GONZALES e MASCARENHAS, 2014).

Segundo a normativa nº 15/2009 de 26/11/2009, estabelecida pelo MAPA, os aditivos são considerados substâncias, microrganismos ou produtos formulados, adicionados intencionalmente aos produtos e que não são utilizados normalmente como ingrediente, apresentando ou não valor nutritivo, melhorando as características dos produtos destinados à alimentação animal ou dos produtos animais, melhorando o desempenho dos animais sadios e atendendo às necessidades nutricionais.

Contudo, existe uma preocupação crescente com o uso de concentrações, mesmo que subterapêuticas, de alguns aditivos na dieta das aves como os antibióticos promotores de crescimento, que são utilizados com a finalidade de controlar a microbiota prejudicial ao trato digestivo e proporcionar os efeitos benéficos na absorção de nutrientes, a partir da prevenção a patógenos, da estabilização da flora microbiana intestinal e da melhora no desempenho das aves, prevenindo o organismo dos danos gerais causados pelos patógenos ou de algumas patologias intestinais específicas (TRUSCOTT e AL-SHEIKHLY, 1977; MILES *et al.*, 1984; WALDROUP *et al.*, 1985; VASSALO, 1997). Entretanto, o uso de antibióticos promotores de crescimento vem sendo relacionado ao surgimento de cepas bacterianas resistentes, havendo uma forte tendência na busca de aditivos que possam ser utilizados na dieta e que apresentem resultados equivalentes ou superiores aos benefícios dos antibióticos sobre a resposta imunitária e de performance animal.

Neste contexto, nos últimos anos, os promotores de crescimento alternativos vêm sendo utilizados na nutrição de aves visando o bem-estar e o máximo desempenho, evitando causar qualquer tipo de prejuízo aos animais e ao homem, minimizando a produção de resíduos nos produtos de consumo e a contaminação do meio ambiente (CATALAN *et al.*, 2012).

Em geral, as alternativas que podem substituir os antibióticos promotores de crescimento alteram a microbiota entérica, tornando-a mais estável e benéfica, sendo capaz de proporcionar melhora no desempenho dos animais, diminuição da contaminação das aves e

das carcaças por bactérias patogênicas, sem deixar resíduos nocivos que possam causar problemas de saúde aos consumidores finais dos produtos avícolas (HUYGHEBAERT *et al.*, 2011).

Entre as alternativas para tornar isento o uso de antibióticos promotores de crescimento na criação comercial de aves destacam-se as enzimas exógenas, fitogênicos (extratos herbais), ácidos orgânicos, probióticos, prebióticos e simbióticos, que podem auxiliar de forma direta ou indireta o animal a utilizar de maneira mais eficiente os nutrientes disponibilizados pela ração ofertada (ALLEN *et al.*, 2013; DIAZ-SANCHEZ *et al.*, 2015).

De acordo com Hannas e Pupa (2007), as enzimas exógenas são definidas como catalisadores biológicos que aceleram as reações químicas, sendo provenientes do produto obtido de organismos vivos como bactérias e fungos. Essas enzimas vêm sendo utilizadas com o objetivo de melhorar o processo de digestão e absorção de nutrientes. Elas reduzem os fatores antinutricionais de alguns ingredientes, melhoram a disponibilidade dos nutrientes, principalmente aqueles encapsulados, dentro das paredes celulares ou ligados a estruturas químicas que as enzimas endógenas do animal não conseguem degradar eficientemente, assim possibilitam o uso de ingredientes alternativos nas rações e a redução nos custos de produção (DOURADO *et al.*, 2014).

No entanto, devido à especificidade das enzimas em relação ao substrato, torna-se mais eficiente a utilização de complexos multienzimáticos nas dietas, obtendo-se o máximo benefício desse aditivo (MURAKAMI *et al.*, 2007).

Outro promotor de crescimento alternativo que recentemente vem se destacando como uma estratégia natural aos compostos sintéticos são os aditivos fitogênicos (PEARCE e JIN, 2010). De acordo com Costa *et al.* (2011), os aditivos fitogênicos são derivados de extratos-vegetais, que quando adicionados na dieta animal podem proporcionar benefícios ao organismo, tais como o aumento das secreções digestivas, melhorando a digestibilidade e a absorção dos nutrientes, modificações na microbiota intestinal e estimulação da atividade do sistema imune. Além disso, eles podem apresentar certa atividade antibacteriana, coccidiostática, anti-helmíntica, antiviral ou anti-inflamatória e propriedades antioxidantes. Os efeitos positivos dos extratos vegetais na nutrição animal estão associados à constituição dos seus princípios ativos (óleos essenciais) e compostos secundários (KAMEL, 2010).

Pesquisas têm demonstrado a eficiência da atividade antimicrobiana dos aditivos fitogênicos em relação aos antibióticos em dietas para as aves (FUKAYAMA *et al.*, 2005; CARDOSO *et al.*, 2009). Porém, o grande desafio na utilização desses extratos vegetais tem sido a identificação e o estabelecimento dos efeitos exercidos pelos compostos ativos sobre o

organismo animal (RIZZO, 2010), uma vez que diversos fatores como espécies vegetais, tipo de material, condições climáticas, método de extração e armazenamento podem variar quanto ao seu modo de ação (JASSEN *et al.*, 1987; CECHINEL FILHO e YUNES, 1998; HUYGHEBAERT, 2003).

Os ácidos orgânicos são constituintes naturais, provenientes de plantas e animais, que podem agir como controladores da carga microbiana no trato digestório, promovendo melhorias da morfologia intestinal, sem gerar resistência microbiana como os antibióticos (MENTEN *et al.*, 2014). Para Dibner e Buttin (2002) os ácidos orgânicos podem reduzir a carga bacteriana no trato digestivo, através da redução no pH do trato gastrointestinal, diminuindo assim a carga de microrganismos patogênicos. Além disso, esse efeito redutor do pH gástrico pode resultar também em um aumento da proteólise e conseqüentemente melhoria na digestão e absorção das proteínas e dos aminoácidos circulantes (MENTEN *et al.*, 2014).

Segundo Freitas *et al.* (2014), ao longo dos anos, o uso de prebióticos e probióticos como alternativa aos antibióticos promotores de crescimento na produção de não-ruminantes vem ganhando força. Todavia os resultados de pesquisa em relação aos pré e probióticos produzidos comercialmente e seus efeitos na ave ainda variam bastante, necessitando de mais esclarecimentos.

Junqueira e Duarte (2005) afirmaram que os probióticos são microrganismos vivos, que geram benefícios ao organismo animal quando introduzidos no trato gastrointestinal, competindo com a flora patogênica por nutrientes, locais de adesão no epitélio intestinal e sintetizando metabólitos (ácidos orgânicos) que criam resistência ao crescimento de organismos patogênicos. Dessa forma, quando adicionados na dieta das aves, os probióticos podem promover o equilíbrio da microbiota intestinal, possibilitando um maior ganho de peso e melhor eficiência alimentar, evitando lesões no vilo e permitindo a regeneração da mucosa intestinal (SATO *et al.*, 2002).

Entretanto, diversos fatores ambientais e intrínsecos ao animal e ao produto probiótico podem interferir no seu modo de ação e nos seus efeitos no organismo. Conforme Macari e Furlan (2005), os probióticos podem ser considerados uma promissora alternativa aos antibióticos promotores de crescimento. No entanto, não podem ser considerados substitutos totais a este aditivo.

O termo prebiótico já é utilizado para designar um ou mais grupos de ingredientes alimentares que estimulam seletivamente o crescimento e/ou atividade de bactérias benéficas no intestino e que não sofrem ação das enzimas digestivas (SOARES, 2015). Essas substâncias alimentares não são digeridas pelas enzimas digestíveis normais dos animais

(JUNQUEIRA e DUARTE, 2005), mas atuam favorecendo a propagação de bactérias benéficas em detrimento das bactérias prejudiciais.

De acordo com Freitas *et al.* (2014), enquanto os probióticos são destinados a introduzir microrganismos benéficos ao intestino, os prebióticos são adicionados como substrato, visando estimular seletivamente os microrganismos benéficos que já vivem neste meio.

Diversas pesquisas têm demonstrado os efeitos positivos do uso de probióticos, de prebióticos e de ácidos orgânicos em substituição aos antibióticos nas dietas de aves (FRITTS *et al.*, 2000; MAIORKA *et al.*, 2001; PEDROSO *et al.*, 2001; CORRÊA *et al.*, 2003; JONES e RICKE, 2003; SANTOS *et al.*, 2005; SARTORI *et al.*, 2007; REZENDE *et al.*, 2008), enquanto outras têm apresentado resultados ainda contraditórios (LODDI *et al.*, 2000; LIMA *et al.*, 2003).

Já os simbióticos são considerados a combinação de prebióticos e probióticos, aliando a ação de ambos à modulação da microbiota intestinal, portanto, aumentando o efeito benéfico de cada um deles. Essa ação simbiótica pode estabilizar o meio intestinal e aumentar o número de bactérias benéficas, favorecendo a situação de eubiose (MURAROLLI, 2008), visto que é possível o estímulo de cepas probióticas conhecidas por substrato específico, levando à escolha de pares simbióticos ideais (FREITAS *et al.*, 2014).

Nesse cenário, os aditivos podem contribuir para a saúde intestinal do animal, e assim melhorar o aproveitamento dos nutrientes provenientes da dieta, podendo assegurar condições para que os animais expressem o seu máximo potencial, sem comprometer os produtos, o animal e a saúde humana. Para tanto, o uso e os efeitos de alguns desses promotores de crescimento alternativos ainda precisam ser elucidados, tais como o modo de ação, os possíveis efeitos no organismo das aves e os produtos obtidos a partir dos probióticos.

2.2 Probióticos

Fuller (1989) definiu os probióticos como suplementos alimentares compostos por microrganismos vivos que afetam benéficamente a saúde do animal hospedeiro, promovendo uma melhoria no balanço da microbiota intestinal.

Os probióticos são capazes de promover benefícios ao animal a partir da modulação da microbiota intestinal, protegendo o organismo de infecções gastrointestinais e consequentemente de doenças inflamatórias no intestino, podendo agir como um potencial

promotor de crescimento quando consumido em concentrações adequadas (GAGGIA *et al.*, 2010).

O uso de probióticos na dieta animal pode promover melhorias no desempenho (MOUNTZOURIS *et al.*, 2007; RIGOBELLO *et al.*, 2011), no rendimento de carcaça (ROCHA *et al.*, 2010) e na morfometria intestinal dos animais (PELICANO *et al.*, 2005; JAYARAMAN *et al.*, 2013). No entanto, esses efeitos benéficos da utilização de probióticos só ocorrem se houver depressão no crescimento de microrganismos patogênicos e o controle da produção de suas toxinas no organismo animal (SANTOS *et al.*, 2004; COX e DALLOUL, 2015).

No Brasil, a normativa nº 15/2009 de 26/05/2009, do MAPA, enquadra os probióticos como aditivos zootécnicos equilibradores da microbiota do trato digestório, sendo definidos como cepas de microrganismos vivos (viáveis) que agem como auxiliares na recomposição da microbiota do trato digestivo dos animais, diminuindo o número de microrganismos patogênicos ou indesejáveis.

De acordo com Soares (2015), os microrganismos probióticos quando introduzidos e estabelecidos no trato gastrointestinal são capazes de promover a estabilização da flora intestinal e a melhora da atividade imunológica em aves, garantindo a saúde e o aproveitamento dos nutrientes provenientes da dieta, principalmente através da produção de enzimas digestivas e vitaminas do complexo B (QIU *et al.*, 2012).

Nesse cenário, os microrganismos probióticos foram relacionados por Ohimain e Ofongo (2012), a uma ação antibacteriana efetiva, especialmente em relação às bactérias patogênicas, a partir da síntese de metabólitos, como bacteriocinas, ácidos orgânicos e peróxidos de hidrogênio que atuam sobre a sobrevivência de patógenos. Além disso, estimulam o sistema imunológico do animal hospedeiro, ou seja, a imunidade inata e adaptativa, em razão da carga antigênica da microbiota intestinal.

Assim, de maneira geral, os probióticos promovem benefícios ao animal devido a sua capacidade de modular a microbiota do trato gastrointestinal, como a chamada exclusão competitiva em relação a agentes bacterianos patogênicos, possibilitando a aderência de bactérias benéficas aos sítios de ação no intestino e a manutenção de um ambiente inóspito para patógenos, pois provocam a competição por nutrientes no lúmen intestinal, a produção de substâncias com atividade antibacteriana e a estimulação da imunomodulação (GAGGIA *et al.*, 2010; CHAMBERS e GONG, 2011; WULFF, 2015).

Nesse contexto, Macari e Maiorka (2001) afirmaram que, do ponto de vista nutricional, a flora bacteriana intestinal exerce um papel fundamental no desenvolvimento das

aves, pois auxilia na retenção de energia e nitrogênio, no aumento da absorção de vitaminas, minerais, ácidos graxos e glicose, que são fatores que favorecem o desempenho dos animais. Dessa forma, a digestibilidade dos nutrientes e a saúde intestinal dos animais são completamente alteradas pelo equilíbrio na microbiota do trato gastrointestinal, podendo os microrganismos com ação probiótica proporcionar melhorias na mucosa intestinal, modificações na permeabilidade intestinal e o aumento das junções epiteliais. Além de atuarem de maneira efetiva sobre modulação da resposta imune e das células imunes da mucosa intestinal (FERREIRA *et al.* 2010; LUEGAS *et al.*, 2015).

A suplementação da dieta dos animais com esses agentes microbianos baseia-se no princípio da simbiose, em que há associação de microrganismos benéficos com um animal hospedeiro, proporcionando benefícios mútuos que promovem melhorias na estabilidade microbiológica normal e no aproveitamento dos nutrientes ingeridos da dieta, diminuindo as chances de sobrevivência de bactérias patogênicas (FERNANDES *et al.*, 2016).

Segundo Rolfe (2000), o princípio da utilização de bactérias inofensivas em detrimento a patógenos tem sido reconhecido por muitos anos, principalmente na forma de alimentos fermentados com a finalidade de proporcionar benefícios ao organismo. Assim, vários estudos desmonstraram que a ingestão de microrganismos como as bactérias lácteas agem de forma positiva na microbiota natural do trato gastrointestinal (ROLFE, 2000), podendo ser utilizada de maneira efetiva na dieta das aves.

Para Patterson e Burkholder (2003), ao longo da vida dos animais, a microbiota intestinal pode ficar mais vulnerável a infecções e o uso de probióticos diminui a probabilidade de ocorrência das mesmas. Por sua vez, Lorençon *et al.* (2007) declararam que os probióticos devem ser utilizados na dieta logo nos primeiros dias de vida dos animais, garantindo a colonização benéfica do trato gastrointestinal o mais rápido possível. Dessa forma, existe uma grande variedade de microrganismos vivos que vêm sendo testados e utilizados como probióticos nas diferentes fases de criação.

Nawaz *et al.* (2016) e Aguihe *et al.* (2017) afirmaram que quando os probióticos são adicionados de maneira constante na dieta das aves, eles podem estar relacionados muitas vezes à utilização econômica e eficiente de alimentos de baixa qualidade ou resíduos agroindustriais. Isto proporciona melhorias nos índices econômicos de produção, além de promover o melhor aproveitamento de nutrientes e a redução da colonização intestinal por microrganismos indesejáveis, podendo influenciar diretamente no desempenho e na saúde intestinal das aves, principalmente nos primeiros dias de vida.

Portanto, dentre os possíveis benefícios da utilização de probióticos na dieta dos animais estão a restauração da microflora intestinal após a antibioticoterapia, podendo acelerar o processo de recuperação do organismo e auxiliar na digestão e absorção de nutrientes, uma vez que na presença de bactérias lácticas há redução do pH intestinal, que favorece a maior absorção de ácidos graxos de cadeia curta, promovendo alguma digestão de fibras em aves e a atuação de enzimas como a amilase, a protease e a lipase. Alguns *Lactobacillus* são capazes de secretar essas enzimas, promovendo a redução e a neutralização de enterotoxinas, impedindo a ligação de microrganismos patogênicos na superfície da mucosa intestinal, beneficiando a saúde dos animais hospedeiros (LEEDLE, 2000; VIDENSKA *et al.*, 2013; FREITAS *et al.*, 2014).

2.2.1 Modo de ação

Todos os benefícios relacionados à utilização de probióticos são decorrentes de resultados de ações específicas no organismo do animal hospedeiro e podem ocorrer de diferentes maneiras conforme descritos a seguir.

2.2.1.1 Competição por sítio de ligação

Os microrganismos presentes nos probióticos se ligam aos receptores específicos (sítios de ligação) presentes na mucosa entérica, reduzindo a área de interação da mucosa com os microrganismos indesejáveis, formando assim uma espécie de barreira física que impede a fixação de bactérias patogênicas no trato gastrointestinal (FREITAS *et al.*, 2014; WEILLER, 2014).

O processo de competição por sítios de ligação na mucosa intestinal dificulta a multiplicação e a sobrevivência dos patógenos no trato digestório das aves, possibilitando a eliminação gradativa dos microrganismos indesejáveis no animal hospedeiro (CALLAWAY *et al.*, 2008). Este conceito também ficou conhecido como “Exclusão Competitiva” (NURMI E RANTALA, 1973).

2.2.1.2 Competição por nutrientes

Os microrganismos presentes nos probióticos competem com as bactérias patogênicas presentes no trato gastrointestinal dos animais pelos nutrientes disponíveis no

lúmen intestinal, estando este modo de ação diretamente relacionado à exclusão competitiva em aves (SILVA, 2016a).

Assim, as bactérias probióticas utilizam para a sua nutrição os nutrientes dos ingredientes que foram parcialmente degradados pelas enzimas digestivas normais presentes no animal hospedeiro ou que foram intencionalmente adicionados à ração (FREITAS *et al.*, 2014). Dessa forma, a escassez de nutrientes para serem metabolizados pelas bactérias patogênicas torna-se o fator limitante para o estabelecimento e a manutenção dessa população no intestino (MACARI e FURLAN, 2005).

Segundo Brenda *et al.* (2010), a competição por nutrientes não ocorre entre o animal hospedeiro e a bactéria, mas sim, entre as bactérias intestinais por seus nutrientes específicos. A carência destes nutrientes disponíveis na luz intestinal para as bactérias indesejáveis prejudica a manutenção e o estabelecimento das mesmas neste ambiente, ou ainda, podem “alimentar” qualitativamente as bactérias probióticas intestinais em detrimento das patogênicas.

2.2.1.3 Antagonismo direto

Os probióticos podem promover uma ação antibacteriana, especialmente em relação às bactérias patogênicas presentes no trato gastrointestinal dos animais.

As bactérias dos probióticos produzem bacteriocinas (VILLANI *et al.*, 1995; RODRIGUEZ, 1996; NAIDU *et al.*, 1999), ácidos orgânicos (JIN *et al.*, 2000; OGAWA *et al.*, 2001) e peróxidos de hidrogênio (NAIDU *et al.*, 1999) cujos espectros de ação incluem também a inibição do desenvolvimento de bactérias patogênicas, inibindo o crescimento e o estabelecimento de uma população microbiana não desejável (FURLAN, 2004).

Segundo Dobson *et al.* (2012), as bacteriocinas são consideradas peptídeos antimicrobianos com capacidade bacteriostática ou bactericida, que favorecem o processo de exclusão competitiva, impedindo a fixação de patógenos no lúmen intestinal. Já os ácidos orgânicos e os peróxidos de hidrogênio apresentam a capacidade de alterar o pH do meio, inibindo o crescimento e o estabelecimento de bactérias nocivas no trato gastrointestinal (CHICHLOWSKI *et al.*, 2007; CHOUDHARI *et al.*, 2008).

A presença de bactérias probióticas também contribui para o aumento da produção de mucinas, formando uma camada de glicoproteínas no intestino, dificultando assim a invasão bacteriana e sua aderência no intestino (CORR *et al.*, 2009).

2.2.1.4 Estímulo do sistema imune

Para que o animal hospedeiro possa se desenvolver corretamente é necessário o desenvolvimento normal da microflora intestinal, uma vez que o trato gastrointestinal das aves está diretamente relacionado à defesa imunológica (SILVA, 2016b).

Nesse contexto, o desenvolvimento intestinal é de fundamental importância para garantir a sobrevivência dos animais nos sistemas de produção, sendo a imunidade intestinal das aves composta por bursa de Fabricius, tonsilas cecais, placas de Peyer, divertículo de Meckel e estruturas linfóides intra-epiteliais da lâmina própria (BEAL *et al.*, 2006), no qual os linfócitos intra-epiteliais são inteiramente influenciados pela modulação da microbiota (MARTIN *et al.*, 2010; SILVA, 2016b).

Dessa forma, as cepas dos microrganismos presentes nos probióticos têm a capacidade de modular as respostas imunes sistêmicas, aumentando o número e a atividade das células fagocíticas no animal hospedeiro, protegendo a superfície da mucosa através da neutralização do antígeno e evitando sua ligação aos receptores celulares (SHARMA, 2008).

Assim, o trato gastrointestinal das aves consegue captar antígenos, que estimulam as células B (precursoras de IgA) e as células T (colaboradoras das placas de Peyer), favorecendo o desenvolvimento da imunidade geral e inespecífica. A partir desse estímulo imunológico da mucosa, ocorre a produção de anticorpos tipo IgA, que bloqueiam os receptores e reduzem o número de bactérias patogênicas na luz intestinal, além de favorecerem a ativação de macrófagos, proliferação das células T e produção de interferon (SILVA, 2000; EDENS *et al.*, 2003; LEE *et al.*, 2010).

2.2.2 Microrganismos e seus efeitos probióticos

As bactérias comensais, em circunstâncias normais, são essenciais para garantir a saúde do trato gastrointestinal dos animais, apresentando ação protetora sobre a estrutura intestinal e a homeostase (SONG *et al.*, 2014). Segundo Gaggia *et al.* (2010), a microbiota intestinal tem a capacidade de proteger o organismo contra infecções entéricas e favorecer o desenvolvimento e a regulação da imunidade da mucosa.

Dessa forma, o ecossistema microbiano presente no trato gastrointestinal dos frangos de corte tem relevante papel no aproveitamento dos nutrientes e na saúde das aves. Assim, qualquer desequilíbrio na composição da microbiota desses animais pode trazer

transtornos ao desempenho, ao aproveitamento dos nutrientes e à saúde intestinal dos animais (LUEGAS *et al.*, 2015).

À vista disto, os microrganismos presentes nos probióticos podem ser importantes ferramentas para auxiliar no estabelecimento de uma microbiota intestinal equilibrada, durante toda a vida dos animais, promovendo o funcionamento adequado do organismo e benefícios ao hospedeiro.

No entanto, para um microrganismo ser considerado probiótico deve possuir alguns critérios básicos, tais como: fazer parte da flora intestinal normal do hospedeiro; sobreviver às condições adversas do trato gastrointestinal, como a ação das enzimas, da bile e dos sucos gástricos, pancreáticos e entéricos, apresentando condição de permanecer no ecossistema intestinal, ter capacidade de colonizar rapidamente o intestino; aderir de forma efetiva ao epitélio intestinal; não ser tóxico ou patogênico; manter a estabilidade das características desejáveis da cepa durante o processamento, armazenamento e administração; ter a capacidade de estimular o sistema imune e ter ação antagonista a microrganismos patogênicos, promovendo melhorias ao hospedeiro (GUARNER *et al.*, 2008; GAGGIA *et al.*, 2010). Desse modo, os microrganismos probióticos devem ser rigorosamente selecionados, uma vez que necessitam transpor várias barreiras até o local que deverão atuar (FREITAS *et al.*, 2014).

Por sua vez, para se obter a ação efetiva das cepas de microrganismos probióticos sobre o organismo animal é fundamental que estas sejam provenientes do ecossistema microbiano normal da espécie animal (MENDES, 2017). Assim, as bactérias devem ser hospedeiro-específicas para se ter a máxima eficácia de um probiótico (BUTOLO, 1999), não podendo generalizar as cepas de microrganismos com ação probiótica para todas as espécies animais.

Os principais microrganismos que têm sido utilizados como probióticos são as bactérias pertencentes aos gêneros *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus*, *Bacillus* e leveduras (LI *et al.*, 2009; GAGGIA *et al.*, 2010). Todavia, Zaghari *et al.* (2015) afirmaram que *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Bacillus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Enterococcus*, e leveduras como *Saccharomyces cerevisiae* são as principais cepas de microrganismos utilizadas no preparo de probióticos comerciais para as aves.

Segundo Hossain *et al.* (2012), os probióticos utilizados como aditivos na alimentação animal pertencem a três principais grupos: as bactérias de ácido láctico (MUSIKASANG *et al.*, 2009), os esporos de *Bacillus* (ALEXOPOULOS *et al.*, 2004) ou as leveduras (BÜCHL *et al.*, 2010).

Já para Patterson e Burkholder (2003) e Lavermicocca *et al.* (2005), para se ter um produto probiótico destinado a seres humanos e a animais é, necessariamente comum, o uso de bactérias dos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*, pois ambas são capazes de se ligar aos receptores da mucosa, formando uma espécie de barreira física às bactérias patogênicas, além de produzirem bacteriocinas, que possuem ação inibitória sobre as bactérias Gram-negativas (*Salmonella* spp. e *Escherichia coli*) e Gram-positivas (*Staphylococcus* spp. e *Listeria* spp.) (RAMOS, 2009).

Os probióticos podem conter bactérias totalmente conhecidas e quantificadas ou podem conter culturas bacterianas não definidas (FREITAS *et al.*, 2014). No entanto, em muitos países, para registrar um probiótico para utilização no mercado comercial é indispensável conhecer totalmente ou parcialmente as culturas de microrganismos que formam o produto (APPLEGATE *et al.*, 2010).

Andreatti Filho *et al.* (2005) afirmaram que à medida que se aumenta o número de espécies bacterianas presentes na composição dos probióticos, atende-se de maneira mais eficiente as necessidades do animal hospedeiro, promovendo a manutenção do equilíbrio da microbiota intestinal, a partir da combinação dos benefícios promovidos pelos mecanismos de ação das cepas de microrganismos. Dessa maneira, se pudéssemos definir a composição microbiana “ideal” para um probiótico seria necessário combinar diferentes espécies de bactérias que tivessem uma ação sinérgica, possibilitando uma maior ação do produto.

Entretanto, não é conhecida a composição microbiana considerada ideal de um produto probiótico e as pesquisas sugerem que os efeitos descritos para os probióticos só podem ser atribuídos à cepa ou às cepas utilizadas em cada estudo específico, não podendo ter seus efeitos generalizados para toda espécie animal, nem para todo um grupo do mesmo gênero ou ainda para outros probióticos (APPLEGATE *et al.*, 2010).

Chambers e Gong (2011) relataram que a ação dos probióticos é influenciada por diversos fatores e que este produto é apenas um dos elementos que podem interferir na formação e na composição da microbiota dos animais, sendo o ecossistema microbiano controlado por aspectos como: a idade das aves, as características dos microrganismos que já existiam no ambiente intestinal, aditivos adicionados à dieta, o tipo de dieta fornecida, a idade das aves e ainda as próprias condições do ambiente de alojamento no qual os animais são submetidos, havendo maior ou menor desafio estressor.

Dessa forma, os probióticos podem atuar sobre a microbiota entérica e ainda podem ter seu modo de ação influenciado por fatores semelhantes aos que agem sobre o ecossistema entérico. Fuller (1992) afirmou que a efetividade dos probióticos pode ser

interferida por fatores internos e externos ao produto e ao hospedeiro, como o tipo de microrganismos que compõem o probiótico, os métodos de produção, os métodos de administração do produto, a viabilidade da preparação, a condição do hospedeiro e a condição da microbiota intestinal, podendo o desafio ambiental no qual o animal é inserido influenciar diretamente no efeito e na ação das cepas de microrganismos que compõem o produto probiótico a ser avaliado.

Diante disso, é impossível determinar o efeito específico de um microrganismo probiótico ou de uma dosagem considerada ideal para todos os probióticos, havendo a necessidade de se realizar estudos específicos para cada produto e assim conseguir inserí-lo e validá-lo no mercado comercial de aditivos.

2.2.2.1 *Lactobacillus* com ação probiótica

O gênero *Lactobacillus* faz parte da família *Lactobacillaceae* (ORLA-JENSEN, 1921). Em meios de cultura essas bactérias apresentam colônias pequenas, apigmentadas, arredondadas, com bordas bem delimitadas e aspecto cremoso, sendo capazes de produzir lactato e acetato. Estes reduzem o pH do meio e exercem efeito antibacteriano, produzindo metabólitos que inibem o desenvolvimento de bactérias patogênicas Gram-negativas (*Salmonella* spp. e *Escherichia coli*) e Gram-positivas (*Staphylococcus* spp. e *Listeria* spp.) (FREZZA, 2008, BRISBIN *et al.*, 2011). Além de produzirem vitaminas do complexo B, ativarem o sistema imune e restaurarem a microbiota intestinal após antibioticoterapia (GIBSON e TROBEREROID, 1995; VIDENSKA *et al.*, 2013).

Para Awad *et al.* (2009), os *Lactobacillus* além de melhorarem os índices zootécnicos, também se mostram eficazes na proteção de frangos de corte contra *Salmonella* spp., uma vez que aumentam o número de linfócitos epiteliais intestinais.

De acordo com Edens *et al.* (1997), a ação inibitória dos *Lactobacillus* aos patógenos ocorre na mucosa do trato gastrointestinal e para que eles exerçam sua atividade probiótica é necessária a sua adesão aos enterócitos. Assim, a ligação bactéria-enterócito evita a eliminação dos *Lactobacillus* através do peristaltismo e permite a sobrevivência dos mesmos no ecossistema gastrointestinal. Por sua vez, para Rodríguez-Cabezas *et al.* (2010) a atuação mais efetiva dos *Lactobacillus* está relacionada ao fato de serem eficientes produtores de ácido láctico, criando um ambiente mais ácido no organismo, prejudicando o crescimento de agentes patogênicos oportunistas.

Nesse cenário, evidências crescentes indicam que as cepas de *Lactobacillus* exercem efeitos benéficos ao organismo animal por uma variedade de mecanismos complementares. Esses efeitos incluem a capacidade de modular a função imune do hospedeiro, alta capacidade de adesão, atributos de prevenção ao câncer, redução dos níveis séricos de colesterol, alta atividade antimicrobiana contra patógenos e normalização da composição da microbiota (XIE *et al.*, 2015; ZHANG *et al.*, 2015).

Os *Lactobacillus* apresentam certa especificidade de colonização quanto ao segmento intestinal. Segundo Jin *et al.* (1996), espécies de *Lactobacillus* isoladas, provenientes de duodenos e cecos, apresentaram pouco sucesso de adesão às células do íleo, além de apresentarem variações no pH do trato gastrointestinal, o que também poderia alterar a capacidade de adesão dos *Lactobacillus* aos enterócitos, uma vez que valores de pH superiores a oito podem reduzir a sua capacidade de colonização. Corroborando com estes autores, Nakphaichit *et al.* (2011) afirmaram que os *Lactobacillus* apresentam uma sobrevivência a baixos valores de pH e tolerância a altas concentrações de bile.

Jin *et al.* (1998), ao suplementar na dieta de frangos de corte com 0,05; 0,10 e 0,15% de uma cultura composta por 12 estirpes de quatro espécies de *Lactobacillus* (*L. acidophilus*, *L. fermentum*, *L. crispatus* e *L. brevis*), nas concentrações 1×10^9 UFC/g, verificaram uma melhora significativa no desempenho das aves que receberam 0,15% de suplementação. Os autores atribuíram esse efeito à capacidade de colonização das bactérias do gênero *Lactobacillus*, uma vez que estas apresentam forte aderência ao epitélio, sendo resistentes à bile e à acidez do trato gastrintestinal.

O tratamento com *Lactobacillus* spp também tem demonstrado efeitos imunostimulantes sobre a mucosa intestinal (KABIR *et al.*, 2004; HAGHIGHI *et al.*, 2006; KARIMI *et al.*, 2010; SILVA, 2016b). De acordo com Peng *et al.* (2016), a presença de *Lactobacillus plantarum* (2×10^9 UFC/kg) na dieta de frangos de corte estimulou no íleo o aumento da síntese de IgA pelo sistema imune, através da liberação de peptídeos de cadeias curtas, aumentando a resistência às doenças. Ademais, os *Lactobacillus* são capazes de modificar as propriedades imunorregulatórias, alterando o perfil indutor de produção de citocinas e quimiocinas, com conseqüente influência sobre o resultado da resposta imune (DALLOUL *et al.*, 2005; HAGHIGHI, *et al.*, 2008; BRISBIN *et al.*, 2010).

Brisbin *et al.* (2011) observaram que *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus reuteri* e *Lactobacillus salivarius* (1×10^6 UFC/g) proporcionaram o aumento da expressão de interleucinas no baço e tonsilas cecais em frangos de corte, atuando sobre o sistema imunológico das aves.

O gênero bacteriano *Lactobacillus*, com destaque para as espécies *L. reuteri*, *L. salivarius*, *L. animalle* e *L. acidophilus*, quando presentes em quantidades adequadas na microbiota intestinal, podem contribuir para a saúde das aves (RAMESH *et al.*, 2000; WOLFENDEN *et al.*, 2007; SILVA, 2016a). No entanto, estudos demonstram que diferentes cepas de cada espécie bacteriana funcionam de forma diferente, podendo apresentar ou não eficiência nos efeitos imunomoduladores (BRISBIN *et al.*, 2011).

Dessa maneira, dentre as características simbióticas e imunorregulatórias, os *Lactobacillus* desempenham o papel de vetor de antígenos, principalmente pela via oral, funcionando como suplemento imunogênico (FREZZA, 2008), sendo capazes de estimular uma resposta imune intestinal, não apresentando ameaça ao hospedeiro quando comparado a outros vetores como a *Salmonella* (NOUJAIM *et al.*, 2008; HIGGINS *et al.*, 2010). Assim, a presença de *Lactobacillus* é importante para regular a composição da microbiota intestinal, desenvolver a imunidade do intestino e promover a saúde das aves (MUIR *et al.*, 2000; HIGGINS *et al.*, 2010).

2.2.2.2 *Acetobacter* com ação probiótica

O gênero *Acetobacter* faz parte da família *Acetobacteraceae*, sendo constituído por um grupo de bactérias gram-negativas quando jovens e gram-variáveis quando apresentam células envelhecidas (CASSONI, 2008).

Segundo Madigan e Martinko (2005), as *Acetobacter* são bactérias aeróbicas que realizam a oxidação incompleta de álcoois, produzindo ácidos orgânicos como produto final. Cassoni (2008) afirmou que essas bactérias são capazes de fermentar vários açúcares formando ácido acético, ou ainda, utilizarem este ácido como fonte de carbono em seu metabolismo.

De acordo com Dibner e Buttin (2002), a produção desses ácidos orgânicos de cadeias curta e média no organismo, podem reduzir a carga bacteriana no trato digestivo, devido à redução do pH intestinal, diminuindo a carga de microrganismos patogênicos, além de proporcionar a produção de bacteriocinas e estimular a resposta imune (HUME *et al.*, 2011).

As *Acetobacter* exibem alta tolerância à acidez, apresentando grande capacidade de sobreviver em pH entre 3 e 4, e ainda podem apresentar crescimento considerado ótimo entre pH 5 e 6,5 (SUMAN, 2012), o que possibilita a sobrevivência em quase todo o trato gastrointestinal das aves.

Elkhouly *et al.* (2016) avaliaram o efeito de um probiótico contendo *Acetobacter aceti*, *Pediococcus acidilactici*, *Pediococcus pentosaceus* e *Bacillus amyloliquefacien* (2×10^9 UFC), combinado ou não a um aditivo fitogênico e a um anticoccidiano químico sobre a prevenção de coccidiose e desempenho de frangos de corte. Estes autores observaram que não houve diferença significativa para nenhum dos aditivos promotores de crescimento alternativos utilizados sobre contagem de *Eimeria* spp, sendo o anticoccidiano químico mais eficiente na prevenção de coccidiose. Em relação ao desempenho, também não houve diferença significativa para as variáveis de ganho de peso, consumo de ração e conversão alimentar das aves que receberam o probiótico e o fitogênico, havendo uma melhor conversão alimentar para os frangos que foram suplementados com a combinação de probiótico e fitogênico. Esse efeito benéfico da combinação dos aditivos foi atribuído a um equilíbrio intestinal que garantiu uma redução de patógenos no trato, uma maior atividade das enzimas digestivas e um aumento na absorção dos nutrientes.

Contudo, ainda são escassos estudos que esclareçam o efeito e o modo de ação das bactérias do gênero *Acetobacter* sobre a alimentação de frangos de corte, sendo necessários mais estudos que comprovem a eficiência desse microrganismo como probióticos.

2.2.2.3 Leveduras do gênero *Pichia* com ação probiótica

As leveduras do gênero *Pichia* fazem parte da família *Saccharomycetaceae*, sendo consideradas fungos unicelulares eucariontes, que estão presentes em diversos ambientes, incluindo no trato gastrointestinal dos animais.

Segundo Battcock (1998), as leveduras são amplamente utilizadas para fins biotecnológicos, como a produção de alimentos fermentados, nas fermentações alcoólicas e na síntese de vitaminas, além de serem utilizadas como uma potencial fonte de proteínas e probióticos no organismo dos animais.

A ação probiótica de culturas de leveduras tem sido associada a diversos fatores. Cangussu (2003) afirmou que a utilização desses fungos na alimentação animal está relacionada à competição por nutrientes e por sítios de adesão no intestino, a produção de substâncias antimicrobianas e a imunoestimulação, beneficiando o restabelecimento da relação ideal entre microrganismos benéficos e patogênicos.

A principal levedura desse gênero que tem sido utilizada como probiótico na alimentação animal é a espécie *Saccharomyces cerevisiae* (PINOS-RODRÍGUEZ *et al.*, 2008; HATOUM *et al.*, 2012). De acordo com Pinos-Rodríguez *et al.* (2008), este microrganismo

não patogênico e termotolerante é capaz de auxiliar no tratamento de variadas doenças intestinais em seres humanos e em animais não-ruminantes. Simon *et al.* (2001) afirmaram que esses benefícios estão relacionados especialmente ao alto teor de vitamina B presente nessa espécie de levedura, que promove o crescimento de bactérias salutares, estimulando o sistema imunológico local dos animais hospedeiros, favorecendo o ganho de peso e a melhoria na conversão alimentar.

No entanto, nos últimos anos, pesquisas vêm sendo desenvolvidas com a avaliação de diferentes espécies de leveduras com ação probiótica com a finalidade de elucidar a eficiência desses microrganismos na dieta das aves.

Syal e Vohra (2013) constataram que as estirpes de *S. cerevisiae*, *Pichia* spp. e *Aureobasidium* spp. são grandes promissoras a microrganismos probióticos por apresentarem capacidade de degradar antinutrientes, como o ácido fítico e o ácido tânico; capacidade de produzir L-asparaginase, que apresenta propriedade anticancerígena; capacidade de auxiliar na digestão, produzindo lipase e protease, e na assimilação do colesterol. Além de serem utilizadas como imunoestimulantes.

Segundo Blondeau (2001), um outro fator favorável relacionado às leveduras é que elas apresentam em sua parede celular importantes quantidades de polissacarídeos e proteínas capazes de atuar positivamente no sistema imunológico e na absorção de nutrientes. Zaine (2014) afirmou que as leveduras também podem apresentar certo efeito prebiótico no organismo animal, uma vez que sua parede celular não é digerida no trato, sendo fermentada seletivamente por alguns microrganismos, estimulando o crescimento e/ou a atividade metabólica das bactérias que agem benéficamente no trato digestório.

A ação benéfica da parede celular de *S. cerevisiae* para as aves foi demonstrada por Macari e Maiorka (2000), que constataram uma melhora significativa sobre o desenvolvimento das vilosidades intestinais e um maior ganho de peso das aves que receberam uma dieta contendo leveduras. Chen *et al.* (2010) verificaram que estirpes de *Pichia fermentans* BY5 e HJ15, isoladas do leite cru, apresentaram excelentes propriedades antioxidantes em células intactas e no extrato celular, podendo estas estirpes também apresentarem ação antioxidante.

Mountzouris *et al.* (2015) avaliaram a suplementação dietética de *Saccharomyces cerevisiae*, na concentração de 1×10^9 UFC/kg de ração, para frangos de corte, desafiados ou não com *Salmonella enteritidis*, sobre o desempenho e composição da microbiota cecal. Estes autores verificaram que, no período experimental, as aves que foram inoculadas com *Salmonella* e tiveram acesso à levedura apresentaram maior ganho de peso quando

comparadas aos animais que não receberam o aditivo. A suplementação dietética de *Saccharomyces cerevisiae* não teve efeito na composição da microbiota cecal, após o desafio com *Salmonella*, havendo apenas uma redução numérica dos níveis cecais de bactérias totais, *E. coli*, *Bifidobacterium* spp., *Bacteroides* spp. e populações clostridiais, sendo importante uma investigação aprofundada sobre as possíveis implicações do uso de leveduras no intestino e na saúde global das aves.

Portanto, devido à rotineira inconsistência de resultados relatados para um mesmo probiótico e como não é recomendada a extrapolação dos dados experimentais para um mesmo grupo de microrganismos utilizados como probióticos, são necessários mais estudos que visem estabelecer novos produtos probióticos e elucidar aplicações mais específicas e eficientes no mercado de aditivos.

2.3 Probióticos na alimentação de frangos de corte

Na avicultura industrial, a produção de ovos férteis e a taxa de eclosão nas aves são realizadas de forma a minimizar as contaminações por microrganismos. Essa ausência de contato do pintinho com uma microbiota natural interfere no desenvolvimento intestinal e no crescimento das aves (SEIFE *et al.*, 2017).

A pouca diversidade da microflora intestinal de aves recém-nascidas, além de ser considerada como um fator limitante para a digestão, também possibilita a colonização intestinal por patógenos entéricos que favorecem o aumento da quantidade de produtos do metabolismo bacteriano circulante, induzindo o organismo a processos inflamatórios (KOGUT, 2013).

Segundo Pan e Yu (2014), aves isentas de microbiota ou com a microbiota ainda não estabelecida apresentam menor comprimento de vilos e profundidade de criptas intestinais, influenciando diretamente na capacidade de absorção, no aproveitamento dos nutrientes da dieta e na atividade e saúde da mucosa intestinal.

De acordo com Freitas *et al.* (2014), a ausência de um contato com a microbiota natural pelo pintinho, logo após o nascimento, afeta muito o seu desenvolvimento geral e intestinal, tornando-os mais susceptíveis à colonização por agentes patogênicos, especialmente salmonelas e campilobactérias. Dessa forma, quanto mais cedo ocorrer a colonização por bactérias que promovam o equilíbrio microbiótico, maiores são as chances de proteção das aves quando exposta às condições de desafio (SILVA, 2016a).

Diante disso, parte dos efeitos negativos da esterilidade da microbiota de aves jovens vem sendo contornada com a utilização de promotores de crescimento, os quais têm sido responsáveis pela melhoria na produtividade animal, especialmente nos períodos iniciais de criação (LEMOS *et al.*, 2016; SEIFE *et al.*, 2017).

Nesse contexto, os probióticos surgem como aditivos em potencial, capazes de solucionar tal problema, podendo promover a imunomodulação e o equilíbrio na microbiota intestinal dos frangos, e conseqüentemente um bom desempenho produtivo, sem causar riscos para a saúde humana (TÉLLEZ *et al.*, 2015).

Segundo Nurmi e Rantala (1973), o principal efeito dos probióticos é a exclusão competitiva e essa ação é benéfica principalmente para as aves jovens. Este mesmo conceito também foi comprovado por Scheneitz (2005), no qual as aves que tiveram acesso aos microrganismos benéficos não apresentaram agentes enteropatogênicos como a *Escherichia Coli* enterotoxigênica, *Clostridium perfringens*, *Listeria*, *Campylobacter* spp.

Tabidi *et al.* (2013) afirmaram que os probióticos, quando compostos por culturas bacterianas específicas para o hospedeiro, tendem a estimular a microflora intestinal, sendo capazes de modificar o ambiente gastrointestinal de forma positiva, favorecendo as bactérias benéficas e melhorando o desempenho e a eficiência alimentar dos frangos de corte. Para El-Banna *et al.* (2010), entre as ações dos probióticos que podem beneficiar as aves estão a estimulação do sistema imune, que aumenta a capacidade de proteção do organismo contra bactérias patogênicas e a produção de substâncias biologicamente ativas como as enzimas digestivas e algumas vitaminas.

Os probióticos também podem apresentar ação sobre a proteção do organismo de frangos de corte, atenuando as disfunções da barreira intestinal em aves submetidas a condições adversas como o estresse por calor ou a presença de bactérias patogênicas (SOHAIL *et al.*, 2012; MURUGESAN *et al.*, 2014; SONG *et al.*, 2014), mantendo o funcionamento normal do organismo.

Na literatura são encontrados vários relatos que os probióticos promovem melhorias nos parâmetros produtivos das aves, estimulando múltiplos aspectos da imunidade e do sistema de defesa desses animais. Todavia existe uma grande divergência de resultados quanto à efetividade na utilização deste aditivo (MICHEL *et al.*, 2017), sendo as pesquisas, muitas vezes, contraditórias ou inconclusivas. Ademais, diversos fatores ambientais e intrínsecos ao animal e ao probiótico também podem interferir no modo de ação do produto e nos seus efeitos sobre o metabolismo do animal.

Diversos pesquisadores atribuem os resultados contraditórios dos probióticos à falta de desafios ambientais nas instalações utilizadas para as aves (LODDI *et al.*, 2000; FARIA *et al.*, 2009; DALÓLIO *et al.*, 2015; FERNANDES *et al.*, 2016) ou nas diferenças encontradas entre as condições experimentais (LAURENTIZ, 2000; PEDROSO, 2003; RIGOBELLO *et al.*, 2011). Porém, de acordo com Tournut (1998), a eficácia dos probióticos também é dependente da quantidade e das características das cepas dos microrganismos usados na elaboração do aditivo, tornando difícil estabelecer uma comparação entre os resultados obtidos por diferentes pesquisadores.

Segundo Araújo *et al.* (2000), o uso de probióticos em rações associado a certos antibióticos, agentes anticoccidianos, inibidores de fungos, bem como o processamento das rações (peletização) podem inibir ou suprimir os microrganismos probióticos. Além disso, as condições ótimas de manejo e sanidade onde são conduzidas a maioria dos experimentos também podem influenciar os resultados, pois não trazem os desafios ambientais necessários para expressar a ação em potencial desses probióticos à microbiota intestinal.

Nesse cenário, Traldi *et al.* (2009) avaliaram o efeito da utilização de probióticos à base de *Bacillus subtilis* (1×10^9 UFC/g) e *Bacillus coagulans* (1×10^7 UFC/g), na proporção de 0,06%, sobre o desempenho e as características de carcaça de frangos de corte criados sobre cama nova ou reutilizada por até quatro ciclos. Estes autores observaram que as aves que tiveram acesso ao probiótico e foram criadas em cama reutilizada por três ciclos apresentaram maior ganho de peso e melhor conversão alimentar quando comparadas àquelas aves criadas sobre cama nova. No entanto, a ausência de diferenças significativas nos parâmetros avaliados sobre as aves criadas em cama reutilizada em até duas vezes foi relacionada à falta de desafio nas condições experimentais, apesar da reutilização da cama.

A ação de probiótico também foi relatada por Appelt *et al.* (2010) que ao avaliarem o desempenho e o pH do conteúdo do trato gastrointestinal de frangos de corte que receberam probióticos à base de *Bacillus cereus* e *Bacillus subtilis*, incluídos nos níveis de 0,00; 0,05; 0,10; 0,15 e 0,20% na ração, encontraram uma melhora na conversão alimentar das aves aos 21 dias de idade quando comparadas aos animais que receberam a dieta sem o aditivo. Contudo, não foi encontrada diferença significativa para o pH intestinal com a inclusão do probiótico, sendo este resultado relacionado pelos autores à utilização de *Bacillus*, que não são considerados bactérias ácido-láticas, ou seja, que produzem lactato ou ácido láctico que são os principais responsáveis pela diminuição do pH intestinal.

Por sua vez, Jeong e Kim (2014) suplementaram *Bacillus subtilis* C-3102 (1×10^9 UFC/g) como probiótico, para frangos de corte, nos níveis de 300 e 600 mg/kg de ração,

sobre o desempenho e microflora intestinal. Estes autores observaram a melhora no desempenho das aves que tiveram acesso ao probiótico e o aumento significativo da contagem de *Lactobacillus*, além de uma redução da contagem de *Escherichia coli*, *Clostridium perfringense* e *Salmonella*, no trato gastrointestinal e nas excretas das aves suplementadas, quando comparada às que não receberam o aditivo.

A tolerância de estirpes de *Lactobacillus acidophilus*, *Enterococcus faecium*, *Bacillus subtilis* e *Saccharomyces cerevisiae*, ao ácido biliar e ao calor foi verificada por Hossain *et al.* (2012). Estes mesmos autores constataram que esses microrganismos não apresentam efeito adverso sobre o desenvolvimento dos órgãos do trato gastrointestinal de frangos de corte.

Já Palamidi *et al.* (2017), ao avaliarem a utilização de cepas de microrganismos probióticos (*Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus salivarius*, *Enterococcus faecium*, *Bifidobacterium animalis*, *Pediococcus acidilactici*) viáveis ou inativados pelo calor, na concentração de 1×10^8 UFC/kg de ração, combinados ou não a antibiótico promotor de crescimento (avilamicina), sobre o desempenho, digestibilidade dos nutrientes e resposta imune de frangos de corte, observaram que o probiótico viável, bem como o probiótico inativado sozinho ou em combinação com avilamicina, melhorou a digestibilidade dos nutrientes. Além disso, todos os aditivos alimentares afetaram positivamente o desempenho dos frangos de corte e induziram uma resposta anti-inflamatória a nível cecal.

A suplementação de probiótico em dietas para frangos de corte, contendo cepas de *Bacillus subtilis*, foi comparada ao uso de antibiótico (bacitracina de zinco) por Amerah *et al.* (2013), e foi observado que a utilização do probiótico melhorou a conversão alimentar quando comparada à ração controle e com a que tinha adição de antibiótico. Contudo, as rações experimentais não influenciaram a contagem de *Escherichia coli* no trato gastrointestinal e a morfologia intestinal de frangos.

Yang *et al.* (2008) afirmaram que *Escherichia coli* está presente normalmente em níveis baixos no intestino das aves. Contudo, o desempenho só seria influenciado negativamente quando os níveis dessa bactéria fossem elevados.

Chen *et al.* (2017), ao adicionarem *Lactobacillus salivarius* e *Pediococcus pentosaceus* na dieta de frangos de corte, observaram que estes microrganismos apresentam propriedades probióticas promissoras sobre o equilíbrio da microbiota e a melhora no desempenho e na concentração de amônia do meio. Esses autores verificaram também o aumento do número de *Lactobacillus* nos cecos, diminuição do teor de amônia plasmática, do valor de pH, do número de *E. coli* e da emissão de amônia fecal.

A suplementação de *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Enterococcus faecium* e *Bifidobacterium thermophilus* (1×10^9 UFC/g) como probióticos, nos níveis de 1 e 0,5 g/kg de ração, sobre o desempenho, o rendimento de carcaça, o peso relativo dos órgãos linfoides e a microflora intestinal de frangos de corte criados em baixa e alta densidade foi avaliada por Cengiz *et al.* (2015). Esses autores não observaram interação significativa entre a densidade de criação e a suplementação das aves com o probiótico, no entanto, foi verificado que a alta densidade afetou negativamente o desempenho e a população de *Lactobacillus* intestinais, enquanto que a suplementação probiótica melhorou o desempenho dos frangos de corte na primeira fase de criação. Ademais, o rendimento de carcaça, o peso do baço e da bursa de Fabricius, não foram afetados pela suplementação dietética de probióticos nas condições do estudo.

Todavia, de acordo com Santos (2010) e Chen *et al.* (2017), nem sempre os probióticos apresentam resultados positivos e efeitos esperados, uma vez que diversos fatores podem influenciar em sua ação e eficiência, tais como: idade e sanidade das aves, tempo de vazio sanitário, nível de contaminação ambiental, concentração e especificidade de microrganismos, condições de armazenamento do produto probiótico e tipo de ração ofertada. Assim, as aves alojadas em locais que se apresentam há bastante tempo desocupados tendem a apresentar resultados pouco significativos em relação à utilização de probióticos, ocorrendo o mesmo para locais com baixo nível de contaminação ambiental. Dessa forma, deve-se considerar que o uso de probióticos na alimentação de frangos de corte não é algo milagroso, mas sim, um aditivo que poderia auxiliar em problemas de diversas naturezas e sem deixar resíduos indesejáveis na carcaça das aves (SANTOS, 2010).

Diante do exposto, torna-se essencial o desenvolvimento de novas pesquisas que possam estudar mais profundamente os efeitos específicos dos probióticos disponíveis no mercado, na tentativa de elucidar a ação de cada grupo de microorganismo que o compõe e comprovar a sua eficiência na alimentação de frangos de corte, levando em consideração todos os fatores que podem alterar a sua efetividade na microbiota intestinal.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Probiótico

O probiótico foi obtido a partir de uma mistura de bactérias, pertencentes aos gêneros *Lactobacillus* e *Acetobacter*, e diferentes espécies de leveduras do gênero *Pichia*, na concentração de 1×10^9 UFC/mL, para as bactérias e 1×10^8 UFC/mL, para as leveduras. A obtenção do produto foi realizada pela empresa Agropaulo, localizada no município de Fortaleza, Ceará.

3.2 Alojamento, manejo das aves, delineamento e rações experimentais

O experimento foi conduzido no Setor de Avicultura do Departamento de Zootecnia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará (UFC), Campus do Pici, Fortaleza - Ceará, no período de 18 de fevereiro a 31 de março de 2016, com uma duração de 42 dias e foi aprovado pela Comissão de Ética em Pesquisa Animal-CEPA/UFC (documento comprobatório em anexo).

Para a condução do experimento foram utilizados 768 pintos machos de um dia de idade da linhagem Ag Ross 308, com peso médio de 50,16 g, alojados em um galpão experimental de alvenaria de 15m x 10m, dividido internamente em 48 boxes de 1,5m x 1,0m ($1,5\text{m}^2$), contendo bebedouros do tipo pendular e comedouros do tipo tubular. As aves foram imunizadas para as doenças de Marek e Gumboro no incubatório.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com seis tratamentos e oito repetições de 16 aves. Os tratamentos consistiram em: T1= Controle negativo – ração sem adição de promotor de crescimento antibiótico; T2= Controle positivo – ração com adição de promotor de crescimento antibiótico; T3= Ração sem adição de promotor de crescimento antibiótico e com adição de 0,05% de microrganismos probióticos na ração; T4= Ração sem adição de promotor de crescimento antibiótico e com adição de 0,1% de microrganismos probióticos na ração; T5= Ração sem adição de promotor de crescimento antibiótico e com adição de 0,05% de microrganismos probióticos na água de bebida; T6= Ração sem adição de promotor de crescimento antibiótico e com adição de 0,1% de microrganismos probióticos na água de bebida.

A água fornecida para as aves era captada a partir do sistema de abastecimento de água realizado pela Companhia de Água e Esgoto do Ceará (CAGECE), e distribuído em

caixas d'água no interior do galpão. Porém, para veiculação do probiótico via água de bebida, foi montado um sistema de distribuição de água específico para as aves de cada tratamento (0,05 e 0,1% de probiótico na água de bebida).

Para evitar a interferência do cloro na veiculação do probiótico via água de bebida, foi realizada a coleta da água, das caixas d'água do interior do galpão, em baldes plásticos. Essa água coletada foi deixada descansar por 42 horas e após esse período foi verificada a concentração de cloro residual livre pelo método DPD colorimétrico (SOARES *et al.*, 2016), sendo a água utilizada na pesquisa sem a presença de cloro. Diariamente, foi realizado a diluição do produto probiótico na água, mantendo as concentrações específicas para cada tratamento e o sistema reabastecido de água para as aves.

O programa de alimentação foi dividido em quatro fases: pré-inicial (1 a 7 dias), inicial (7 a 21 dias), crescimento (21 a 35 dias) e final (35 a 42 dias). As rações experimentais (Tabela 1) foram formuladas de acordo com as exigências nutricionais para frangos de corte recomendadas por Rostagno *et al.* (2011) e foram calculadas para serem isoenergéticas e isonutritivas, considerando os valores de composição dos alimentos propostos por Rostagno *et al.* (2011).

No tratamento com adição de promotor de crescimento antibiótico (tratamento controle positivo), a inclusão do antibiótico, à base de Virginamicina (0,05%) e do anticoccidiano, à base de Salinomicina (0,003%) foi realizada em substituição ao inerte da ração. Esse mesmo procedimento foi adotado para a inclusão da cultura de microrganismos probióticos, nos tratamentos com adição de 0,05 e 0,1% de probiótico via ração.

Durante a primeira semana de vida os pintos receberam aquecimento por intermédio de lâmpadas incandescentes de 60 Watts por box (unidade experimental). Para manter a temperatura e evitar correntes de ar no interior do galpão, foram instaladas cortinas de polietileno externamente ao galpão, cujo manejo era realizado a partir da observação do comportamento das aves.

As aves foram alojadas sobre cama reutilizada por um ciclo de criação, tratada para o controle de cascudinho (*Alphitobius diaperinus*) de acordo com Silva *et al.* (2007) e adicionada de 300g/m² de CAL virgem (DAIPRA, 2009).

O programa de luz utilizado durante o experimento foi de 23 horas de luz (natural + artificial) e para a iluminação artificial do galpão foram utilizadas lâmpadas fluorescentes de 40 watts, distribuídas a uma altura de 2,40m do piso, permitindo a quantidade de lúmens de maneira uniforme para todas as aves.

Os dados de temperatura e umidade relativa do ar foram coletados diariamente às 08h00min e 16h00min, utilizando um termohigrômetro. As médias máximas e mínimas de temperatura ambiental e umidade relativa do ar, durante o período experimental, foram de 32,4 e 28 °C e 81,62 e 61,34 %, respectivamente.

Tabela 1. Composição da ração controle para frangos de corte nas fases pré-inicial (1 a 7 dias de idade), inicial (8 a 21 dias), crescimento (22 a 35 dias) e final (36 a 42 dias).

Ingredientes (kg)	Fases			
	Pré-Inicial	Inicial	Crescimento	Final
Milho	54,36	56,82	59,78	64,14
Farelo de soja	38,79	35,94	32,35	28,47
Óleo de soja	2,44	3,31	4,24	4,13
Fosfato monobásico	1,90	1,55	1,33	1,12
Calcário calcítico	0,88	0,92	0,87	0,77
Sal comum	0,51	0,48	0,46	0,45
Suplemento mineral/vitamínico ¹	0,20	0,20	0,20	0,15
DL – metionina	0,36	0,31	0,29	0,27
L – lisina HCL	0,29	0,24	0,24	0,27
L – treonina	0,12	0,081	0,072	0,076
Cloreto de colina	0,05	0,05	0,05	0,05
Inerte ²	0,10	0,10	0,10	0,10
TOTAL	100,00	100,00	100,00	100,00
Nível Nutricional Calculado				
Energia Metabolizável (kcal/kg)	2.960	3.050	3.150	3.200
Proteína bruta (%)	22,40	21,20	19,80	18,40
Matéria seca (%)	88,58	88,64	88,67	88,57
Extrato etéreo (%)	5,07	5,98	6,92	6,93
Cálcio (%)	0,92	0,84	0,76	0,66
Fósforo disponível (%)	0,47	0,40	0,35	0,31
Sódio (%)	0,22	0,21	0,20	0,19
Lisina digestível (%)	1,32	1,22	1,13	1,06
Metionina + cistina digestível (%)	0,95	0,88	0,83	0,77
Metionina digestível (%)	0,65	0,59	0,55	0,52
Treonina digestível (%)	0,86	0,79	0,74	0,69

¹ Composição por kg do produto: Vitamina A 5.500.000 U.I., Vitamina D3 1.000.000 U.I, Vitamina E 6.500 mg, Vitamina K3 1.250 mg, Vitamina B1 500 mg, Vitamina B2 2.500 mg, Vitamina B6 750 mg, Vitamina B12 7.500 mcg, Pantotenato de Cálcio 6.500 mg, Niacina 17.500 mg, Biotina 25 mg, Ácido Fólico 250 mg, Manganês 32.500 mg, Ferro 25.000 mg, Cobre 3.000 mg, Iodo 500 mg, Zinco 22.500 mg, Cobalto 50 mg, Selênio 100 mg, Antioxidante 2.000 mg, Veículo q.s.p. 1.000 g;

² Inerte: Areia lavada.

Fonte: do autor(a).

3.3 Avaliação do desempenho das aves

As variáveis de desempenho analisadas foram o consumo de ração (g/ave), quantificada pela pesagem da ração fornecida no início das fases de criação e as sobras, no final de cada fase e, por diferença, foi calculado o consumo de ração para cada unidade experimental. As aves de cada repetição foram pesadas no dia da chegada, aos 7, 21 e 42 dias para que o ganho de peso médio (g/ave), de cada parcela fosse calculado. Com base nas variáveis citadas foi calculada a conversão alimentar, dividindo-se o consumo de ração pelo ganho de peso das aves de cada unidade experimental.

3.4 Avaliação do desenvolvimento do trato digestório e pH do conteúdo do trato

Para a avaliação do desenvolvimento do trato digestório e pH do conteúdo do trato, aos 21 e 42 dias de idade, foram selecionadas aleatoriamente duas aves por parcela para serem pesadas e encaminhadas ao abatedouro do Setor de Avicultura do Departamento de Zootecnia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará (DZ/CCA/UFC).

As aves foram eutanasiadas, a partir de insensibilização através de eletronarcose, seguida de sangria, escaldagem (água a 60°C por 3 minutos) e depena. Foi realizada a retirada dos órgãos do trato digestório com posterior dessecação do proventrículo, da moela, do fígado e dos intestinos, que foram divididos nas porções duodeno, jejuno, íleo (intestino delgado) e dessecação dos cecos. Posteriormente, estes órgãos foram pesados para o cálculo do peso relativo, expressos em percentagem do peso vivo.

O conteúdo presente em cada segmento do trato gastrointestinal foi colhido em um béquer, contendo 15 mL de água destilada, para a determinação do pH do conteúdo presente nos segmentos. Essas amostras foram então homogeneizadas e deixadas em descanso por 5 minutos. Em seguida, foi determinado o pH com a utilização de um peagâmetro da marca Hanna HI 2222®.

3.5 Avaliação da qualidade da cama

As variáveis de qualidade da cama foram avaliadas quanto ao pH, teor de umidade (%) e concentração de amônia volatilizada (mg/g), analisadas aos 21 e 42 dias de criação do lote. Também foi realizada a análise microbiológica da cama aos 42 dias, determinando a contagem de *Salmonella* spp., mesófilos totais e coliformes fecais.

Para a determinação do pH, do teor de umidade, da concentração de amônia volatilizada e da contagem de *Salmonella* spp. (UFC/g), mesófilos totais (UFC/g) e coliformes fecais (UFC/g) foram preparadas amostras compostas da cama de cada box, obtidas a partir da coleta de três sub-amostras colhidas em três pontos diferentes dentro do box, evitando as áreas próximas ou logo abaixo de equipamentos (comedouro e bebedouro). Posteriormente, estas amostras foram homogeneizadas e embaladas de forma hermética.

Na determinação do pH, foram utilizadas 30 g de cama macerada por amostra, que foi adicionada a um béquer contendo 250 mL de água deionizada. Em seguida, foi realizada a agitação da amostra por cinco minutos. Após essa operação, a amostra foi deixada em repouso por 30 minutos e foi realizada a leitura do pH, utilizando um peagâmetro da marca Hanna HI 2222®.

Para a determinação do teor de umidade foi utilizada a metodologia proposta por AOAC (2005).

A concentração de amônia volatilizada foi determinada de acordo com a adaptação da metodologia proposta por Oliveira *et al.* (2004). Em um recipiente plástico com tampa foi colocado 100 g de cama aviária. Sobre essa amostra foi posto um copo coletor universal, com capacidade para 50 mL, contendo 10 mL de ácido bórico 2%, para captar a amônia volatilizada dentro do recipiente. Após adicionar a amostra e o copo coletor universal, o recipiente plástico foi tampado e vedado com fita adesiva. As amostras de cama de frango foram mantidas dentro do recipiente por 24 horas. Posteriormente, o ácido bórico foi titulado com ácido sulfúrico 0,2N e a quantidade de amônia volatilizada determinada utilizando-se a equação 1:

$$A = V \times N \times \frac{17}{P}$$

Sendo A é a quantidade de amônia volatilizada (mg/g), V é o volume de ácido sulfúrico utilizado na titulação (mL), N é a normalidade do ácido sulfúrico, 17 é o peso molecular da amônia e P é o peso da amostra de cama de frango (g).

Para a contagem de mesófilos totais e coliformes fecais foram utilizados 25g de cama de frango, adicionados a um erlenmeyer contendo 225 mL de água salina peptonada 1%. Em seguida, as amostras foram colocadas em homogeneizadores esterilizados, resultando na primeira diluição (10^{-1}). A partir dessa diluição, foram realizadas diluições consecutivas usando a mesma proporção até a diluição 10^{-8} . De cada diluição foi retirado um inóculo de 1,0 mL transferido para uma placa de Petri para cada grupo de microrganismo avaliado. Os Mesófilos Totais foram enumerados em ágar Count (DIFCO) e os coliformes fecais em ágar

MaConkey (DIFCO), ambos, após a incubação aeróbica em estufa bacteriológica a temperatura de 37°C, por um período de 24 horas.

Para a determinação de *Salmonella* spp, os materiais remanescentes das análises anteriores foram incubados em estufa bacteriológica (etapa de pré-enriquecimento) a temperatura de 37°C por um período de 24 horas. Após esse período, foram retiradas das amostras alíquotas de 1mL e 0,1mL para tubos contendo 10 ml de Caldo Tetrionato e Rapaport Vassiliadis, respectivamente, como forma de enriquecimento seletivo. Em seguida, os tubos foram colocados em estufa bacteriológica por 24 horas a 37°C. Após o período de incubação as amostras foram estriadas em ágar MaConkey e incubadas nas mesmas condições de período e temperatura anterior. De cada amostra, 3 a 5 colônias não fermentadoras de lactose foram selecionadas e estriadas em placas contendo ágar Verde Brilhante, Hektoen e Salmonella-Shigella. As amostras que apresentaram crescimento sugestivo para o grupo *Salmonella* spp foram introduzidas em tubos contendo ágar inclinado TSI (Tríplice açúcar ferro) e incubadas sob mesmas condições. Amostras com crescimento sugestivo no TSI foram então selecionadas para uma série de provas bioquímicas. Inicialmente as colônias foram submetidas aos testes de descarboxilação da lisina, fermentação da lactose e/ou sacarose e produção de H₂S, no ágar Lisina Ferro (DIFCO) e ágar Tríplice Açúcar Ferro (DIFCO).

3.6 Avaliação do rendimento de carcaça

Para as variáveis de rendimento de carcaça aos 42 dias de idade, após o jejum alimentar de seis horas, todas as aves foram pesadas e em seguida, foram selecionados dois frangos de cada unidade experimental, com o peso vivo mais próximo ao peso médio da parcela.

As aves foram identificadas individualmente e eutanasiadas, passando por insensibilização através de eletronarcose, seguido de sangria, escaldagem (água a 60°C por 3 minutos), depena e evisceração.

As carcaças limpas, sem pescoço, pés e vísceras foram pesadas para determinação do rendimento de carcaça, que foi expresso em percentagem de peso vivo. Em seguida, foram realizados cortes para retirada do peito, coxa + sobrecoxa e gordura abdominal, os quais foram pesados para o cálculo do rendimento em relação ao peso da carcaça quente.

3.7 Avaliação dos parâmetros sanguíneos

Para a avaliação dos efeitos do uso de uma cultura de microrganismos probióticos para frangos de corte sobre os parâmetros sanguíneos foram realizados exames de sangue, nos quais foram avaliados o hemograma e os parâmetros bioquímicos.

Para a realização do hemograma, o sangue de cada ave foi coletado mediante punção da veia braquial, localizada na asa, com agulha e seringa descartável de 3mL. Depois de coletado, o sangue foi acondicionado em frascos apropriados para coleta contendo EDTA (BD Microtainer). A determinação da hemoglobina foi realizada em contador automático veterinário de células (Hemascreen 18) e a determinação do volume globular foi realizada através da técnica do microhematócrito utilizando-se tubos capilares Perfecta® e centrífuga de microhematócrito. A determinação das proteínas plasmáticas totais foi realizada por refratometria através de refratômetro de mão QUIMIS® Q767.

As determinações de hematimetria, leucometria global e trombocitometria foram realizadas a partir de uma única diluição que evidencia os eritrócitos, os leucócitos e os trombócitos, utilizando-se a solução de Natt-Herrick. A técnica da leucometria específica foi realizada através de hematoscopia em aumento de 1000 x (imersão) dos esfregaços corados pelo May-Grunwald-Giemsa (MGG).

Para a realização das análises bioquímicas do sangue, foi utilizada uma outra amostra de sangue que foi colhida via punção da veia braquial, localizada na asa, colocada em tubos apropriados e deixados em temperatura ambiente para coagulação e posterior centrifugação a 3.000 rpm durante 15 minutos. Após a centrifugação, foi retirado o sobrenadante (soro), sendo cada amostra dividida para que cada alíquota fosse acondicionada e, posteriormente, utilizada para as respectivas determinações. Em uma parte do soro foram dosados: ácido úrico, colesterol total, colesterol HDL, colesterol LDL, triglicerídeos, creatinina, alanina aminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST). Essas investigações bioquímicas foram realizadas pelo método de automação (Metrolab 2300 plus) com kits cinéticos da Weiner®, conforme as instruções do fabricante.

3.8 Análise estatística dos dados

As análises estatísticas dos dados foram realizadas utilizando o *Statistical Analysis System*. Os dados obtidos para desempenho, desenvolvimento do trato digestório, pH do conteúdo do trato, qualidade da cama e efeitos fisiológicos foram analisados pelo

procedimento ANOVA do SAS, seguindo um modelo inteiramente casualizado, sendo as médias comparadas pelo teste SNK, a 5% de probabilidade.

Os dados de microbiologia da cama de aviário foram transformados segundo a premissa de distribuição normal (SAMPAIO, 2002) e utilizados em Log na base 10 (Log10). Em seguida, foram analisados pelo procedimento ANOVA do SAS, sendo as médias comparadas pelo teste SNK, a 5% de probabilidade.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Conforme os resultados (Tabela 2) o consumo de ração, o ganho de peso e a conversão alimentar dos frangos de corte não variaram significativamente entre os tratamentos. Dessa forma, a adição de bactérias dos gêneros *Lactobacillus* e *Acetobacter* e de leveduras do gênero *Pichia* nas concentrações de 1×10^9 UFC/mL e 1×10^8 UFC/mL, respectivamente, administradas na ração ou na água de bebida, não diferiram significativamente ($P > 0,05$) entre si e em relação aos demais tratamentos, evidenciando que o produto pode ser adicionado em até 0,1%, seja via água ou via ração para frangos, sem causar problemas as aves.

Por outro lado, pode-se inferir também que a ausência de diferenças significativas nos parâmetros de desempenho indica que as condições experimentais não apresentavam desafio sanitário que comprometesse o desempenho dos animais. Consequentemente, que o probiótico, assim como o antibiótico, conseguisse proporcionar respostas significativas quanto aos seus benefícios sobre a saúde intestinal das aves. Esses resultados reforçam os argumentos de que há necessidade de um desafio sanitário suficiente nas condições experimentais para que os probióticos passem a produzir efeitos sobre o desempenho das aves (TRALDI *et al.*, 2009; PAZ *et al.*, 2010; HUYGHEBAERT *et al.*, 2011; KEERQUIN *et al.*, 2017).

Nesse contexto, não tem sido observado, com frequência, o efeito da ação dos probióticos em beneficiar o desempenho de frangos de corte quando comparado a não utilização de qualquer aditivo promotor de crescimento (ROCHA *et al.*, 2010; SOUZA *et al.*, 2010; WAITITU *et al.*, 2014; MICHEL *et al.*, 2017). No entanto, segundo Mountzouris *et al.* (2010) e Rigobelo *et al.* (2011), quando há relatos de problemas no desempenho dos animais, em grupo controle, a adição de microrganismos probióticos dos gêneros *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Bifidobacterium* e *Pediococcus* melhoram o desempenho, igualando aos resultados obtidos com a utilização de antibióticos.

De acordo com Freitas *et al.* (2014), a suplementação de microrganismos benéficos está relacionada principalmente a formação de uma barreira intestinal, física e química, em relação às bactérias patogênicas e suas toxinas no organismo animal, possibilitando que o trato digestivo possa exercer adequadamente todo o seu papel de digestão e absorção, influenciando diretamente o ganho de peso e a conversão alimentar, podendo garantir uma maior produtividade e melhorias nos índices econômicos. Todavia, as condições ambientais da presente pesquisa não possibilitaram que os microrganismos benéficos

presentes no probiótico atuassem efetivamente sobre o desempenho das aves, pois esse aditivo deve ser testado em condições de maior desafio microbiológico para que assim possa apresentar resultados de desempenho superiores, quando comparado ao uso de antibióticos ou até mesmo sem a adição de quaisquer aditivos.

Tabela 2 – Efeito dos diferentes tratamentos sobre o desempenho de frangos de corte em diferentes idades.

Tratamentos	Parâmetros Avaliados		
	Consumo de Ração (g)	Ganho de Peso (g)	Conversão Alimentar (g/g)
1 à 7 dias de idade			
RC ¹ + Sem Antibiótico	156,88	144,77	1,08
RC + Com Antibiótico	156,66	144,13	1,09
RC + PB ² (0,05% Ração)	158,02	144,22	1,10
RC + PB (0,1% Ração)	157,89	144,78	1,09
RC + PB (0,05% Água)	157,89	141,77	1,11
RC + PB (0,1% Água)	152,58	139,44	1,09
Média	156,65	143,19	1,09
CV ³ (%)	5,39	3,80	3,87
Efeitos - ANOVA ⁴		<i>p</i> – valor	
Tratamento	0,7858	0,3058	0,7671
1 à 21 dias de idade			
RC ¹ + Sem Antibiótico	1322,98	988,87	1,34
RC + Com Antibiótico	1273,10	945,63	1,35
RC + PB ² (0,05% Ração)	1313,81	974,28	1,35
RC + PB (0,1% Ração)	1310,93	963,38	1,36
RC + PB (0,05% Água)	1295,08	969,31	1,34
RC + PB (0,1% Água)	1311,60	961,17	1,37
Média	1304,58	967,11	1,35
CV ³ (%)	2,94	4,21	2,84
Efeitos - ANOVA ⁴		<i>p</i> – valor	
Tratamento	0,1488	0,4275	0,5959
1 à 42 dias de idade			
RC ¹ + Sem Antibiótico	4698,60	2708,82	1,74
RC + Com Antibiótico	4578,40	2618,87	1,75
RC + PB ² (0,05% Ração)	4734,90	2632,04	1,80
RC + PB (0,1% Ração)	4706,30	2642,71	1,79
RC + PB (0,05% Água)	4603,40	2542,20	1,81
RC + PB (0,1% Água)	4571,00	2494,25	1,84
Média	4648,78	2606,48	1,79
CV ³ (%)	5,96	7,54	4,76
Efeitos - ANOVA ⁴		<i>p</i> – valor	
Tratamento	0,7389	0,3189	0,1624

¹RC – Ração controle; ²PB – Probiótico; ³CV – Coeficiente de variação; ⁴ANOVA - Análise de variância (P>0,05) Efeito estatístico não significativo.

Fonte: do autor(a).

Para as características de carcaça, observou-se que a adição dos microrganismos, como probiótico, via ração ou água de bebida, não influenciou significativamente ($P>0,05$) o rendimento de carcaça, peito, coxa + sobrecoxa e a proporção de gordura abdominal (Tabela 3).

Tabela 3 – Efeito dos diferentes tratamentos sobre as características de carcaça de frangos de corte aos 42 dias de idade.

Tratamentos	Parâmetros Avaliados			
	Carcaça (%)	Peito (%)	Coxa+sobrecoxa (%)	Gordura abdominal (%)
RC ¹ + Sem Antibiótico	70,98	36,92	33,66	1,74
RC + Com Antibiótico	71,50	36,70	34,10	1,74
RC + PB ² (0,05% Ração)	72,35	36,40	34,00	1,94
RC + PB (0,1% Ração)	72,55	36,63	33,80	1,88
RC + PB (0,05% Água)	71,07	35,98	34,00	1,79
RC + PB (0,1% Água)	70,66	36,05	34,23	1,76
Média	71,52	36,45	33,96	1,80
CV ³ (%)	2,39	5,36	4,37	25,14
Efeitos - ANOVA ⁴	<i>p</i> – valor			
Tratamento	0,1706	0,9130	0,9782	0,9307

¹RC – Ração controle; ²PB – Probiótico; ³CV – Coeficiente de variação; ⁴ANOVA - Análise de variância ($P>0,05$) Efeito estatístico não significativo.

Fonte: do autor(a).

Os resultados obtidos para as características de carcaça se assemelham a alguns relatos da literatura sobre o efeito da utilização de promotores de crescimento alternativos e convencionais nas dietas para aves (ROCHA *et al.*, 2010; SOUZA *et al.*, 2010; ABDEL-HAFEEZ *et al.*, 2016, MALAKA *et al.*, 2016; NOSRATI *et al.*, 2017).

Por outro lado, Kabir *et al.* (2004) constataram que os microrganismos probióticos (*Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Bifidobacterium*, *Aspergillus* e *Candida*) apresentaram efeitos positivos sobre a porcentagem de peito e de coxa + sobrecoxa de frangos de corte. No entanto, Ashayerizadeh *et al.* (2009), ao avaliarem a utilização de probiótico comercial para frangos de corte, composto por *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus*, *Enterococcus faesium*, *Bifidobacterium thermophilum*, não observaram diferença significativa para porcentagem de carcaça das aves que receberam probiótico e antibiótico. Porém os autores verificaram diferença significativa pelo emprego desses aditivos em relação ao grupo controle.

Nesse contexto, a ausência de diferenças significativas entre as características de carcaças das aves submetidas aos diferentes tratamentos, indica que a utilização do produto probiótico não foi suficiente para influenciar as variáveis analisadas. Considerando que as

características de carcaças estão associadas ao desempenho dos animais, assim, normalmente, quando não há influência dos tratamentos sobre o consumo de ração e o ganho de peso dos frangos de corte, espera-se também que não ocorram diferenças estatísticas para o peso ao abate, peso da carcaça e alterações nas características da carcaça das aves.

Os resultados médios da avaliação do desenvolvimento dos órgãos do trato digestório dos frangos de corte que receberam dieta contendo microrganismos como probiótico, nas diferentes fases de criação, estão apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 – Efeito dos diferentes tratamentos sobre o peso relativo dos órgãos de frangos de corte em diferentes idades.

Tratamentos	Parâmetros Avaliados						
	Prov. ⁵ (%)	Moela (%)	Fígado (%)	Duodeno (%)	Jejuno (%)	Íleo (%)	Cecos(%)
Aos 21 dias de idade							
RC ¹ + Sem Antibiótico	0,53	2,51	3,22	0,61	1,14	1,08	0,39
RC + Com Antibiótico	0,51	2,49	3,15	0,54	1,05	0,99	0,38
RC + PB ² (0,05% Ração)	0,56	2,56	3,22	0,63	1,16	1,18	0,40
RC + PB (0,1% Ração)	0,58	2,53	3,06	0,55	1,10	1,08	0,39
RC + PB (0,05% Água)	0,54	2,48	2,96	0,57	1,04	1,10	0,36
RC + PB (0,1% Água)	0,54	2,34	3,33	0,57	1,04	1,04	0,36
Média	0,54	2,49	3,16	0,58	1,09	1,07	0,38
CV ³ (%)	11,67	13,54	15,19	18,10	14,52	15,72	16,09
Efeitos - ANOVA ⁴				<i>p</i> – valor			
Tratamento	0,2891	0,8114	0,6834	0,5098	0,4564	0,3592	0,5573
Aos 42 dias de idade							
RC ¹ + Sem Antibiótico	0,33	1,60	2,07	0,40	0,74	0,71	0,32
RC + Com Antibiótico	0,34	1,42	1,97	0,38	0,73	0,75	0,34
RC + PB ² (0,05% Ração)	0,37	1,54	1,84	0,42	0,76	0,76	0,33
RC + PB (0,1% Ração)	0,33	1,49	1,76	0,35	0,73	0,74	0,31
RC + PB (0,05% Água)	0,38	1,55	1,69	0,41	0,74	0,76	0,31
RC + PB (0,1% Água)	0,33	1,52	1,82	0,38	0,73	0,71	0,30
Média	0,35	1,52	1,86	0,39	0,74	0,74	0,32
CV ² (%)	14,35	14,05	14,74	14,66	13,44	15,46	15,80
Efeitos - ANOVA ³				<i>p</i> – valor			
Tratamento	0,1301	0,6867	0,0921	0,1976	0,9868	0,9210	0,6803

¹RC – Ração controle; ²PB – Probiótico; ³CV – Coeficiente de variação; ⁴ANOVA - Análise de variância (P>0,05) Efeito estatístico não significativo; ⁵Prov. – Proventrículo.

Fonte: do autor(a).

De acordo com os resultados, a utilização de bactérias dos gêneros *Lactobacillus* e *Acetobacter*, e leveduras do gênero *Pichia*, como um aditivo promotor de crescimento alternativo à utilização de antibióticos não influenciou significativamente (P>0,05) o peso

relativo do proventrículo, da moela, do fígado, do duodeno, do jejuno, do íleo e dos cecos de frangos de corte, aos 21 e 42 dias de idade.

Os resultados encontrados na presente pesquisa corroboram com os obtidos por Sarker *et al.* (2010) e Agboola *et al.* (2016), uma vez que esses autores não observaram alterações no peso relativo dos órgãos de frangos de corte alimentados com microrganismos probióticos compostos por *Lactobacillus* spp., *Bacillus* spp. e leveduras. Entretanto, Kim *et al.* (2011) relataram um menor peso relativo da moela em frangos que foram suplementados com *Lactobacillus*. Já Hossain *et al.* (2012) verificaram um menor peso relativo do proventrículo e dos rins nas aves que receberam cepas de microrganismos probióticos à base de *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Bacillus* e leveduras do gênero *Pichia*, não diferindo significativamente do tratamento em que os frangos receberam antibioticoterapia.

É conhecido que uma maior presença de microrganismos patogênicos no lúmen do trato digestório de frangos pode promover injúrias à mucosa, principalmente, no intestino, sendo fator de estresse para as aves, pois prejudica assim o processo de digestão e a absorção dos nutrientes da ração (PENDER *et al.*, 2016). Essas injúrias proporcionadas pelos patógenos, podem causar processos inflamatórios que elevariam a proliferação celular, modificando a espessura da parede do trato gastrintestinal, tornando-a mais espessa e assim podendo alterar sua anatomia e morfologia. No entanto, como não foram observadas alterações quanto ao peso relativo dos órgãos do trato digestório das aves na presente pesquisa, evidencia-se que os microrganismos patogênicos oriundos do meio de criação e os microrganismos contidos no produto probiótico testado, não foram suficientes para influenciar o desenvolvimento do trato digestório dos frangos de corte, não alterando a anatomia, morfologia e funcionamento do trato gastrointestinal, e conseqüentemente, não prejudicando o rendimento de carcaça das aves.

Ademais, de acordo com Benício (1996), quanto maior é a taxa de renovação celular, mais rápida é a eliminação de enterócitos, podendo fazer com que as células do trato digestório não consigam expressar a máxima capacidade para secretar enzimas e digerir ou absorver nutrientes. Dessa forma, uma menor quantidade de nutrientes seria absorvida pelo animal, resultando em uma maior disponibilidade de nutrientes para as bactérias patogênicas e, conseqüentemente, ocorreria uma maior produção de toxinas bacterianas que seriam absorvidas e biotransformadas pelo fígado, resultando em um aumento do órgão, dos hepatócitos e da proliferação celular hepática.

Todavia, como não foi observada nenhuma alteração no peso relativo do fígado, como também de nenhum outro órgão do trato digestório para as aves que receberam os

aditivos, pode-se inferir que a utilização tanto do antibiótico, quanto das bactérias dos gêneros *Lactobacillus* e *Acetobacter*, associadas às leveduras do gênero *Pichia* não comprometeram o desenvolvimento do trato digestório de frangos de corte. Isso confirma os relatos de Lancini (1994), que afirmou que a utilização de promotores de crescimento na dieta de aves tem a capacidade de impedir o metabolismo bacteriano e reduzir a competição direta pelos nutrientes entre os microrganismos patogênicos e o animal hospedeiro, promovendo a limitação microbiana de metabólitos tóxicos, como aminas, amônia e endotoxinas, que afetam o epitélio intestinal e ainda prejudicam a digestão e a absorção dos nutrientes.

Nesse contexto, a ausência de diferença significativa para o peso relativo dos órgãos do trato digestório, juntamente com a não influência significativa sobre o desempenho dos frangos de corte, demonstram que a integridade da mucosa gastrointestinal das aves não foi prejudicada pela utilização destes microrganismos como probiótico, podendo o produto ser adicionado em até 0,1% na dieta dos frangos de corte, em todo o ciclo produtivo, via ração ou água de bebida, sem apresentar alterações prejudiciais aos parâmetros avaliados.

Conforme os resultados (Tabela 5), não houve diferença significativa entre os tratamentos avaliados para o pH do conteúdo de cada segmento do trato digestório dos frangos de corte. Dessa maneira, pode-se inferir que a adição do produto probiótico, à base de *Lactobacillus*, *Acetobacter*, e leveduras do gênero *Pichia*, nos diferentes níveis e formas de administração, não proporcionou alterações no conteúdo do trato gastrointestinal das aves nas diferentes idades avaliadas.

Segundo Rutz *et al.* (2007) e Hume *et al.* (2011), com o uso de diferentes cepas de microrganismos probióticos podem ser esperados vários efeitos desejáveis no organismo animal, destacando-se a produção de ácidos graxos de cadeias curta e média, redução do pH intestinal, produção de bacteriocinas e estimulação da resposta imune. A formação desses ácidos orgânicos (acético, propiônico, butírico, láctico) pode inibir o crescimento de patógenos pela redução do pH intestinal ou pelo efeito direto dos ácidos sobre bactérias (LEEDLE, 2000, APPELT *et al.*, 2010; SAINT-CYR *et al.*, 2016).

Nesse contexto, as bactérias dos gêneros *Lactobacillus* e *Acetobacter* podem produzir ácidos orgânicos, como o ácido láctico e ácido acético, que reduzem o pH do meio, proporcionando um ambiente desfavorável a sobrevivência e multiplicação de patógenos como a *Salmonella* e outras enterobactérias, reduzindo o risco de infecção promovidas pelos patógenos e sua toxinas, garantindo a integridade e homeostase da mucosa intestinal (NEAL-MCKINNEY *et al.*, 2012; SAINT-CYR *et al.*, 2016).

No entanto, para Appelt *et al.* (2010) o baixo pH de alguns segmentos do trato digestório das aves pode indicar uma maior colonização de bactérias lácticas devido à produção de ácidos orgânicos. Contudo, no presente estudo, a concentração dessas bactérias no produto probiótico não foi suficiente para alterar o pH do conteúdo de cada segmento do trato digestório dos frangos de corte, assemelhando aos resultados encontrados por Agboola *et al.* (2016).

Tabela 5 – Efeito dos diferentes tratamentos sobre o pH do conteúdo dos órgãos de frangos de corte em diferentes idades.

Tratamentos	Parâmetros Avaliados						
	Papo	Prov. ⁵	Moela	Duodeno	Jejuno	Íleo	Cecos
Aos 21 dias de idade							
RC ¹ + Sem Antibiótico	4,67	4,47	3,42	6,20	5,82	5,16	6,80
RC + Com Antibiótico	4,92	4,39	3,28	6,24	5,73	5,55	6,42
RC + PB ² (0,05% Ração)	4,61	4,63	3,15	6,10	5,62	4,96	6,86
RC + PB (0,1% Ração)	4,59	4,19	3,25	6,13	5,64	5,18	6,51
RC + PB (0,05% Água)	4,59	4,01	3,10	6,10	5,55	5,03	6,75
RC + PB (0,1% Água)	4,80	4,39	3,15	6,24	5,60	5,12	6,72
Média	4,70	4,35	3,23	6,17	5,66	5,17	6,68
CV ³ (%)	5,36	14,17	12,44	2,86	3,50	7,93	5,68
Efeitos – ANOVA ⁴				<i>p</i> – valor			
Tratamento	0,0573	0,4339	0,6563	0,3386	0,1240	0,1007	0,1673
Aos 42 dias de idade							
RC ¹ + Sem Antibiótico	5,11	4,18	3,31	6,26	5,83	6,21	6,66
RC + Com Antibiótico	5,36	3,93	3,94	6,32	6,01	6,57	6,51
RC + PB ² (0,05% Ração)	5,61	4,40	3,52	6,39	6,02	6,56	6,41
RC + PB (0,1% Ração)	5,50	3,89	3,41	6,30	5,90	5,97	6,38
RC + PB (0,05% Água)	4,99	4,06	3,47	6,31	6,01	6,06	6,53
RC + PB (0,1% Água)	5,02	4,19	3,59	6,28	6,07	6,38	6,30
Média	5,26	4,11	3,54	6,31	5,97	6,29	6,46
CV ³ (%)	10,43	17,88	13,29	2,35	5,40	8,99	6,08
Efeitos – ANOVA ⁴				<i>p</i> – valor			
Tratamento	0,1318	0,7467	0,1520	0,5980	0,6840	0,1886	0,5278

¹RC – Ração controle; ²PB – Probiótico; ³CV – Coeficiente de variação; ⁴ANOVA - Análise de variância (P>0,05) Efeito estatístico não significativo; ⁵Prov. – Proventrículo.

Fonte: do autor(a).

Os resultados médios do teor de umidade, do pH e da concentração de amônia volatilizada da cama (Tabela 6) não foram influenciados pelos diferentes tratamentos. Assim, a utilização de bactérias dos gêneros *Lactobacillus* e *Acetobacter* e leveduras do gênero *Pichia* como probiótico para frangos de corte não influenciou significativamente (P>0,05) a qualidade da cama aviária.

É conhecido que a cama de aviários apresenta grande impacto na qualidade e na produtividade do frango de corte, sendo um item de importância fundamental para o manejo de galpões em sistemas de produção (CARVALHO *et al.*, 2011). Dessa forma, o nível de umidade da cama torna-se um fator crítico no manejo dos galpões, já que influencia a incidência e a severidade das lesões na carcaça das aves (QIU e GUO, 2010) e controla a volatilização da amônia, pois o aumento da umidade promove uma maior liberação de amônia nos galpões de produção (HERNANDES *et al.*, 2002).

Tabela 6 – Efeito dos diferentes tratamentos sobre a umidade, pH e concentração de amônia volatilizada da cama de frangos de corte.

Tratamentos	Parâmetros Avaliados		
	Umidade (%)	pH	Amônia Volatilizada (mg/g)
Aos 21 dias			
RC ¹ + Sem Antibiótico	28,34	7,63	0,76
RC + Com Antibiótico	28,75	7,77	0,68
RC + PB ² (0,05% Ração)	28,75	7,50	0,67
RC + PB (0,1% Ração)	27,20	7,65	0,73
RC + PB (0,05% Água)	24,31	7,74	0,80
RC + PB (0,1% Água)	26,10	7,74	0,79
Média	27,24	7,67	0,74
CV ³ (%)	16,38	2,63	15,68
Efeitos – ANOVA ⁴		<i>p</i> – valor	
Tratamento	0,2987	0,0941	0,1282
Aos 42 dias			
RC ¹ + Sem Antibiótico	25,86	7,64	1,64
RC + Com Antibiótico	29,54	7,50	1,49
RC + PB ² (0,05% Ração)	26,90	7,51	1,63
RC + PB (0,1% Ração)	27,17	7,49	1,49
RC + PB (0,05% Água)	25,45	7,52	1,65
RC + PB (0,1% Água)	25,00	7,77	1,63
Média	26,65	7,57	1,59
CV ³ (%)	13,93	2,98	22,12
Efeitos – ANOVA ⁴		<i>p</i> – valor	
Tratamento	0,1926	0,1216	0,8732

¹RC – Ração controle; ²PB – Probiótico; ³CV – Coeficiente de variação; ⁴ANOVA - Análise de variância (P>0,05) Efeito estatístico não significativo.

Fonte: do autor(a).

Normalmente, em condições de umidade excessiva da cama, pode ocorrer o aumento na produção de amônia a partir do metabolismo microbiano sobre as excretas, podendo interferir ativamente sobre a saúde das aves (TRALDI *et al.*, 2007). Na medida em que se observa um maior teor de umidade, a cama aviária passa a influenciar diretamente as condições ambientais, especialmente no que se refere ao desafio microbiológico. Muitas

vezes, promovendo condições ambientais desfavoráveis para os frangos, especialmente em relação à riscos e contaminações de agentes patogênicos (WEILLER, 2014; VIEIRA *et al.*, 2015).

Nesse cenário, a umidade da cama dos frangos de corte que receberam dieta contendo *Lactobacillus* e *Acetobacter* e leveduras do gênero *Pichia*, está abaixo de 35%, sendo esse valor considerado dentro dos parâmetros ideais para cama aviária (COBB-VANTRESS BRASIL, 2008). Estes resultados de umidade também corroboram com os valores relatados por Daipra (2011), nos quais os níveis considerados ideais de umidade devem estar entre 20% e 35%. Dessa maneira, a utilização de microrganismos como probiótico na presente pesquisa, independente da concentração e forma de administração do produto, não influenciou negativamente a qualidade da cama, estando os valores de umidade dentro do parâmetro considerado ideal.

Ademais, a umidade da cama, entre outros fatores, pode aumentar com a maior excreção de água pelas aves, podendo ser favorecida pela incidência de problemas sanitários nos animais ou pela presença de substâncias que causem diarreia nas aves (VIEIRA *et al.*, 2015; SHARMA *et al.*, 2017a). Por sua vez, a ausência de diferença significativa para a porcentagem de umidade, entre os tratamentos, evidencia a falta de efeitos prejudiciais na veiculação de bactérias e leveduras presentes no probiótico utilizado, podendo inferir que a condição de saúde do trato gastrintestinal das aves foi alcançada.

A ausência de influência significativa do uso de probióticos sobre a porcentagem de umidade na cama dos frangos de corte também foi relatada por Traldi *et al.* (2007), Weiller (2014) e De Cesare *et al.* (2017).

O pH da cama de frangos também tem uma importância no manejo das aves, pois influencia a liberação de amônia, que ao atingir níveis críticos no interior do galpão pode prejudicar o desempenho das aves e até mesmo contribuir para o aumento da mortalidade. Segundo Traldi *et al.* (2007) valores de pH superiores a 7,0 normalmente estimulam a proliferação bacteriana na cama e aumentam a produção de amônia, visto que a amônia somente se volatiliza em condições de alcalinidade.

No entanto, conforme os resultados, o pH da cama aviária não variou entre os tratamentos nos diferentes períodos avaliados, se mantendo dentro da faixa de pH considerada normal, podendo ser observado uma influência direta sobre os níveis de amônia no ar, visto que a volatilização da amônia é considerada baixa, quando o pH é menor que 7, e cresce, à medida que o pH se eleva. Os valores de pH determinados para os diferentes tratamentos

avaliado nessa pesquisa estão próximos a 7 e a 7,85, sendo estes valores relatados por Oliveira *et al.* (2003) para cama de frangos tratada com cal hidratada.

Em relação à concentração de amônia volatilizada, a utilização de bactérias dos gêneros *Lactobacillus* e *Acetobacter* e leveduras do gênero *Pichia*, como probiótico para frangos de corte não influenciou a volatilização da amônia, diferindo dos resultados encontrado por Traldi *et al.* (2007), Zhang *et al.* (2013) e Sharma *et al.* (2017b).

Contudo, os resultados para a concentração de amônia encontrados no presente experimento eram esperados, uma vez que não houve diferença significativa entre os tratamentos para os parâmetros de umidade e pH da cama, mesmo em condição de reutilização de cama aviária, sendo estas variáveis as que mais influenciam a qualidade do ar no interior do galpão (FURTADO *et al.*, 2010).

Para a contagem de microrganismos presentes na cama de frangos de corte observou-se a ausência de *Salmonella* spp em todas as amostras e a presença dos demais microrganismos avaliados (Tabela 7). Entretanto, não foi observado efeito significativo ($P > 0,05$) dos tratamentos sobre a contagem de mesófilos totais e coliformes fecais presentes na cama. Isso confirmando que as condições de criação estavam adequadas para frangos de corte e conseqüentemente desfavoráveis à proliferação de determinados microrganismos patogênicos que poderiam comprometer o desempenho das aves.

Tabela 7 – Efeito dos diferentes tratamentos sobre a contagem microbiológica da cama de frangos de corte aos 42 dias de idade.

Tratamentos	Parâmetros Avaliados		
	Mesófilos (Log 10 UFC/g)	Coliformes (Log 10 UFC/g)	<i>Salmonella</i> spp. (Log 10 UFC/g)
RC ¹ + Sem Antibiótico	8,64	6,19	ND ⁵
RC + Com Antibiótico	8,27	6,53	ND
RC + PB ² (0,05% Ração)	9,80	7,06	ND
RC + PB (0,1% Ração)	8,82	7,20	ND
RC + PB (0,05% Água)	8,51	7,44	ND
RC + PB (0,1% Água)	8,41	6,42	ND
Média	8,74	6,80	
CV ³ (%)	14,16	11,23	
Efeitos - ANOVA ⁴		<i>p</i> – valor	
Tratamento	0,4446	0,1010	

¹RC – Ração controle; ²PB – Probiótico; ³CV – Coeficiente de variação; ⁴ANOVA - Análise de variância ($P > 0,05$) Efeito estatístico não significativo; ⁵ND – Não detectado.

Fonte: do autor(a).

A alta concentração de nutrientes, material orgânico e uma constante deposição de excretas pelas aves conferem à cama utilizada no aviário, características de um substrato favorável à manutenção e ao desenvolvimento de uma elevada e diversificada população microbiana (WEILLER, 2014). Além de que fatores como alterações na microflora intestinal das aves e a densidade de criação também podem significar alterações na composição microbiológica da cama (JAYALAKSHMI *et al.*, 2009; CENGIZ *et al.*, 2015), influenciando diretamente na saúde dos animais. No entanto, a presença de *Salmonella* spp. na cama de aves está associada a contaminação prévia do material utilizado como cama ou das excretas das aves. Dessa forma, os resultados obtidos na pesquisa indicam a ausência desse microrganismo nas condições experimentais.

Em relação à população de mesófilos e coliformes, os valores determinados estão dentro dos limites relacionados por outros pesquisadores (SAMPAIO *et al.*, 1999), sendo a presença dessas bactérias na cama de frangos de corte, incluindo as entéricas, inerente à produção.

De acordo com Mcward e Taylor (2000), a umidade da cama associada a altos valores de temperatura do ar, constitui um dos fatores determinantes para o aumento da proliferação microbiana, com fermentação e liberação de gases, como nitritos, nitratos, amônia e sulfato de hidrogênio. Por sua vez, o equilíbrio dinâmico dos microrganismos na cama depende da sua capacidade de adaptação a este meio, o que determinará sua maior ou menor competitividade (CORRÊIA *et al.*, 2000) e, conseqüentemente, o quantitativo de sua população no meio.

Dessa forma, a ausência de variação nas condições de umidade, pH e concentração de amônia da cama aviária no experimento contribuiriam para a manutenção da população microbiana da cama das aves submetidas aos diferentes tratamentos com microrganismos probióticos.

O resultado encontrado para contagem de microrganismos presentes na cama não se assemelharam aos valores relatados por Silva (2000), Kim *et al.* (2011), Sen *et al.* (2012), Jeong e Kim (2014), Park e Kim (2014), no qual observaram que os probióticos têm a capacidade de produzir substâncias antibacterianas e enzimas, além de estimular o sistema imune da mucosa, ocorrendo a produção de anticorpos (IgA) que bloqueiam os receptores e reduzem o número de bactérias patogênicas na luz intestinal e conseqüentemente no meio externo, uma vez que o escape dos microrganismos contidos no produto do trato digestório das aves para cama contribuem para as características da cama aviária.

Os resultados médios do hemograma dos frangos de corte (Tabela 8) indicaram que os valores de hemácias, hemoglobina, hematócrito, volume corpuscular médio, concentração de hemoglobina corpuscular média, leucócitos totais, linfócitos e plaquetas não diferiram significativamente em função dos tratamentos. No entanto, para os valores de proteínas plasmáticas totais os resultados diferiram estatisticamente ($P < 0,05$) entre os tratamentos.

Tabela 8 – Efeito dos diferentes tratamentos sobre o hemograma de frangos de corte.

Tratamentos	Parâmetros Avaliados								
	He ⁵ (10 ⁶ µ)	Hb ⁶ (g/dL)	Ht ⁷ (%)	VCM ⁸ (fL)	CHCM ⁹ (%)	Leuc ¹⁰ (10 ⁶ µl)	Linf ¹¹ (%)	Plaq ¹² (10 ³ µl)	PPT ¹³ (g/dL)
RC ¹ + Sem Antibiótico	2,38	9,75	29,50	124,04	32,84	44,63	30,00	68,25	3,47b
RC + Com Antibiótico	2,47	10,25	31,25	126,40	32,54	49,00	28,00	70,00	4,00a
RC + PB ² (0,05% Ração)	2,46	10,25	31,00	126,09	33,05	52,50	35,00	91,15	3,55b
RC + PB (0,1% Ração)	2,50	10,14	31,00	123,63	32,68	44,00	20,00	69,00	4,14a
RC + PB (0,05% Água)	2,34	9,83	29,83	125,65	32,97	45,50	31,67	72,33	3,37b
RC + PB (0,1% Água)	2,22	9,45	28,00	126,07	33,72	32,67	33,33	95,67	3,27b
Média	2,40	9,97	30,19	125,30	32,94	45,26	29,63	77,35	3,65
CV ³ (%)	8,74	8,68	8,82	2,06	3,63	47,44	48,88	52,07	9,05
Efeitos - ANOVA ⁴	<i>p</i> – valor								
Tratamento	0,1723	0,4569	0,2224	0,2042	0,5722	0,6635	0,4532	0,6635	0,0001

¹RC – Ração controle; ²PB – Probiótico; ³CV – Coeficiente de variação; ⁴ANOVA - Análise de variância (P>0,05) Efeito estatístico não significativo; Médias seguidas de letras diferentes na coluna diferem pelo teste de SNK; ⁵He – Número total de hemácias; ⁶Hb – Hemoglobina; ⁷Ht – Hematócrito; ⁸VCM – Volume corpuscular médio; ⁹CHCM – Concentração de hemoglobina corpuscular média; ¹⁰Leuc. – Leucócitos; ¹¹Linf. – Linfócitos; ¹²Plaq. – Plaquetas; ¹³PPT – Proteínas plasmáticas totais.

Fonte: do autor(a).

Segundo Tessari *et al.* (2006) e Borsa *et al.* (2009), a ausência de alterações nos parâmetros de concentração de hemoglobina corpuscular média e volume corpuscular médio pode estar relacionada à boa nutrição e à falta de desafios nos locais onde são conduzidos os experimentos. Nesse sentido, os resultados obtidos para esses parâmetros na presente pesquisa, são indicativos do baixo desafio ambiental no qual os frangos de corte foram criados, influenciando diretamente nas respostas do probiótico e do antibiótico utilizados. Contudo, os resultados encontrados diferem dos relatados por Aguihe *et al.* (2017) que verificaram efeito positivos do uso de *Lactobacillus* e de *Saccharomyces* sobre a concentração de hemoglobina corpuscular média e volume corpuscular médio.

De acordo com Wang *et al.* (2009), o aumento significativo na concentração de leucócitos e linfócitos melhora as características do sangue a curto prazo, no que diz respeito a resposta imune, atuando como células efetoras na mediação dos processos inflamatórios (CETIN *et al.*, 2005; TOGHYANI *et al.*, 2010). Dessa forma, o uso de probióticos tem sido recomendado para melhorar a imunidade das aves, promovendo o aumento da produção de anticorpos, ativação de macrófagos, proliferação de células T e produção de interferon no organismo, estimulando a imunidade inata e adaptativa dos animais (OHIMAIN e OFONGO, 2012). Assim, para Martin *et al.* (2010) e Silva (2016b), os linfócitos são inteiramente influenciados pela modulação da microbiota, sendo os probióticos efetivos sobre essa modulação. Entretanto, na presente pesquisa, os resultados obtidos para essas variáveis evidenciam que as aves que tiveram acesso aos microrganismos como probiótico ou o antibiótico Virginiamicina, não foram beneficiadas, mas também não foram prejudicadas pela adição dos aditivos. O desafio sanitário no qual os animais foram expostos não foi suficiente para promover alterações imunológicas.

Em relação à determinação das proteínas plasmáticas totais, Kerr (2003) afirma que sua contagem é um indicador do estado de saúde das aves, sendo o plasma constituído de uma mistura de proteínas, dentre elas, albumina, globulinas, enzimas, proteínas específicas de transporte, hormônios proteicos e fatores de coagulação. A mensuração destas proteínas no sangue proporciona informações importantes sobre o estado fisiológico do animal, incluindo respostas imunológicas e inflamatórias (FAIRBROTHER *et al.*, 2004). No entanto, no presente estudo foi observada diferença significativa para esta variável, sendo que as aves alimentadas com 0,1 % do probiótico na ração apresentaram maiores valores de proteínas plasmáticas totais, não diferindo estatisticamente das aves que receberam o antibiótico.

Nesse sentido, o aumento na concentração de proteínas plasmáticas totais pode ser atribuído ao incremento da produção de lactato, acetato e de ácidos graxos de cadeia curta no

trato gastrointestinal das aves (SILVA, 2016b), a partir da ação de bactérias do gênero *Lactobacillus* e *Acetobacter* e das leveduras do gênero *Pichia* presentes no probiótico adicionado na ração das aves, reduzindo assim o pH do meio, promovendo uma ação imunoestimulante da mucosa, aumentando a produção de imunoglobulinas e a ativação do sistema imune (LEE *et al.*, 2010).

Os valores dos parâmetros hematológicos citados neste trabalho encontram-se dentro de intervalos normais para frangos de corte de acordo com Cardoso e Tessari (2003), indicando que a saúde das aves não foi comprometida ao longo do período de estudo.

Para os parâmetros bioquímicos dos frangos de corte (Tabela 9), foi observado que não houve efeito significativo ($P>0,05$) dos tratamentos sobre os valores de ácido úrico, colesterol total, HDL, LDL, creatinina, aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT) e triglicerídeos.

As condições de saúde, nutrição, clima e manejo que os animais são submetidos podem refletir nos resultados dos seus constituintes bioquímicos séricos (MINAFRA *et al.*, 2010), podendo estes serem utilizados como indicadores de desempenho produtivo das aves e de doenças metabólicas (ROTAVA *et al.*, 2008). Dessa forma, como os níveis sanguíneos de ácido úrico e creatinina dos frangos de corte não foram influenciados pelos tratamentos, pode-se inferir que não houve um comprometimento das funções renais conforme relatado por Konan *et al.* (2007).

Tabela 9 – Efeito dos diferentes tratamentos sobre os parâmetros bioquímicos de frangos de corte.

Tratamentos	Parâmetros Avaliados							
	Ácido Úrico (mg/dL)	Colesterol Total (mg/dL)	HDL ⁵ (mg/dL)	LDL ⁵ (mg/dL)	Creatinina (mg/dL)	AST ⁷ (U/L)	ALT ⁸ (U/L)	Trig. ⁹ (g/dL)
RC ¹ + Sem Antibiótico	4,67	110,61	44,87	65,74	0,41	313,13	8,75	146,00
RC + Com Antibiótico	4,75	114,41	50,87	63,54	0,39	293,75	7,50	155,00
RC + PB ² (0,05% Ração)	4,82	121,75	52,37	69,37	0,45	312,63	8,87	133,13
RC + PB (0,1% Ração)	4,97	117,69	53,37	64,31	0,42	299,63	9,75	138,63
RC + PB (0,05% Água)	4,81	119,39	49,87	69,51	0,42	303,13	9,00	158,88
RC + PB (0,1% Água)	4,70	121,71	51,50	70,21	0,32	296,50	8,75	140,63
Média	4,79	117,59	50,48	67,11	0,40	303,12	8,77	145,37
CV ³ (%)	8,43	7,90	12,15	12,78	21,00	8,60	19,85	23,48
Efeitos – ANOVA ⁴	<i>p</i> – valor							
Tratamento	0,7170	0,1366	0,1128	0,4679	0,0806	0,5648	0,2469	0,6430

¹RC – Ração controle; ²PB – Probiótico; ³CV – Coeficiente de variação; ⁴ANOVA - Análise de variância (P>0,05) Efeito estatístico não significativo; ⁵HDL – High density lipoprotein; ⁶LDL – Low density lipoprotein; ⁷AST – Aspartato aminotransferase; ⁸ALT – Alanina aminotransferase; ⁹Trig. – Triglicerídeos.

Fonte: do autor(a).

As aminotransferases ALT e AST pertencem a um grupo de enzimas que catalisam a conversão de aminoácidos em oxiácidos pela transferência de grupos amino, estando relacionadas ao metabolismo de aminoácidos e a gliconeogênese. A ALT é localizada primariamente no fígado, enquanto a AST é encontrada também no coração, cérebro, e tecido muscular. Em caso de suspeitas de lesão hepática, alterações dos valores de ALT e AST podem auxiliar no diagnóstico da doença (SCHMIDT *et al.*, 2007). Entretanto, como não foram observadas alterações nos valores de aminotransferases ALT e AST, pode-se inferir que a adição de *Lactobacillus* e *Acetobacter* e de leveduras do gênero *Pichia*, como probióticos para frangos de corte, não comprometeram o funcionamento do fígado, corroborando com a ausência de diferença significativa encontrada para peso relativo desse órgão no presente estudo.

Para Al-Saad *et al.* (2014), o uso de *Bacillus subtilis* spp como probiótico promoveu a diminuição dos valores de colesterol total e triglicerídeos do sangue de frangos de corte, uma vez que há redução da absorção e síntese de colesterol, havendo uma maior hidrólise bacteriana de sais biliares não-conjugados no intestino. Todavia, contrariando estes resultados, a adição de *Lactobacillus* e *Acetobacter* e de leveduras do gênero *Pichia* nas concentrações de 1×10^9 UFC/mL e 1×10^8 UFC/mL, respectivamente, não foram suficientes para promover alterações nos valores de colesterol total e triglicerídeos dos parâmetros bioquímicos de frangos de corte.

Nesse contexto, pode-se inferir que a ausência de diferença significativa entre os tratamentos para as variáveis indica boas condições de nutrição dos frangos e ausência de desafio de campo suficiente que pudessem prejudicar os parâmetros bioquímicos e o hemograma das aves e, conseqüentemente, trazer problemas no desempenho. Isso pode ter contribuído para a ausência de diferenças significativas entre o uso ou não do probiótico e antibiótico para frangos de corte.

A eficácia dos probióticos está relacionada a fatores como a concentração, a dosagem, a composição dos alimentos, as características das cepas dos microrganismos utilizados na elaboração do aditivo alimentar e o desafio ambiental no qual os animais são inseridos. Dessa forma, muitas vezes torna-se complicado comparar estudos com diferentes administrações e níveis de participação de probióticos, dificultando assim elucidar completamente sua atuação e benefícios no organismo animal (LAN *et al.*, 2017). Ademais, os efeitos dos probióticos não podem ser generalizados para todas as espécies animais, nem para todo um grupo do mesmo gênero ou ainda para outros probióticos, sendo a atuação do

produto extremamente específica para cada organismo (APPLEGATE *et al.*, 2010; STANLEY *et al.*, 2016).

Dessa forma, pelos efeitos dos microrganismos presentes nos probióticos serem estritamente específicos e influenciados por diversos fatores, as bactérias dos gêneros *Lactobacillus* e *Acetobacter* e as leveduras do gênero *Pichia* podem não ter apresentado o máximo efeito como probiótico sobre a microbiota de frangos de corte. No entanto, esses microrganismos probióticos devem ser avaliados em condição de maior desafio sanitário para que assim possa se certificado sua ação nessas condições.

5 CONCLUSÃO

O uso como probiótico da cultura de microorganismos composta por bactérias dos gêneros *Lactobacillus* e *Acetobacter* (1×10^9 UFC/mL) e leveduras do gênero *Pichia* (1×10^9 UFC/mL) não é tóxica ou patogênica aos frangos de corte, podendo ser veiculado via ração ou via água de bebida em até 0,1%, sem comprometer o desenvolvimento e desempenho dos animais.

REFERÊNCIAS

- ABDEL-HAFEEZ, H. M. *et al.* Effects of probiotic, prebiotic, and synbiotic with and without feed restriction on performance, hematological indices and carcass characteristics of broiler chickens. **Asian-Australasian Journal of Animal Science**. Seul, v. 30, p. 672-682, 2016.
- AGBOOLA, A. F. *et al.* Influence of Supplemental Levels of Probiotic on Growth Response, Intestinal Microbiota and Carcass Characteristics of Broilers. **American Journal of Experimental Agriculture**, [S.I], v. 12, p.1-7, 2016.
- AGUIHE, P. C. *et al.* Effect of dietary probiotic supplementation on carcass traits and haematological responses of broiler chickens fed shea butter cake based diets. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, Maringá, v. 39, p. 265-271, 2017.
- AL-SAAD, S. *et al.* Effects of some Growth Promoters on Blood Hematology and Serum Composition of Broiler Chickens. **International Journal of Agricultural Research**, USA. v.9, p.265-270, 2014.
- ALEXOPOULOS, C. *et al.* Field evaluation of the efficacy of a probiotic containing *Bacillus licheniformis* and *Bacillus subtilis* spores, on the health status and performance of sows and their litters. **Journal Animal Physiology Animal Nutrition**. USA. v. 88, p.381–392, 2004.
- ALLEN, H. K.; *et al.* Treatment, promotion, commotion: antibiotic alternatives in food producing animals. **Trends Microbiology**, Philadelphia, v.21, p. 114-119, 2013.
- AMERAH, A. M. *et al.* Effect of feeding diets containing a probiotic or antibiotic on broiler performance, intestinal mucosa-associated avian pathogenic *E. coli* and litter water-soluble phosphorus. **Journal of Applied Animal Nutrition**, Cambridge, v. 1, p. 1-7, 2013.
- ANDREATTI FILHO, R. L. *et al.* Probióticos e correlatos na produção avícola. *In*: PALERMO NETO, J.; SPINOSA, H. S.; GÓRNIK, S. L. **Farmacologia aplicada à avicultura**. São Paulo: Roca, p. 225-237, 2005.
- ANDREATTI, R. L.; SAMPAIO, H. M. **Probióticos e Prebióticos**. Educação continuada. São Paulo, v. 02, fascículo 03, p. 059-071, 2000.
- APPELT, M. D. *et al.* Níveis de probiótico em rações de origem animal e vegetal para frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**. Viçosa, v.39, p. 765-771, 2010.
- APPLEGATE, T. J. *et al.* Probiotics and phytogenics for poultry: Myth or reality? **The Journal ps Applied Poultry**. Oxford, v.19, p. 94-210, 2010.
- ARAÚJO, L. F. *et al.* Antibiótico e probiótico para frangos de corte no período de 24 a 41 dias de idade. *In*: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 2000, Viçosa. **Anais...** Viçosa: SBZ, p. 254, 2000.
- ASHAYERIZADEH, A. *et al.* Effect of dietary antibiotic, probiotic and prebiotic as growth promoters on growth performance, carcass characteristics and hematological indices of broiler chickens. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, Pakistan, v. 12, p. 52-57, 2009.

AWAD, W. A. *et al.* Effects of dietary inclusion of probiotic and synbiotic on growth performance, organ weights, and intestinal histomorphology of broiler chickens. **Poultry Science**. Oxford, v. 88, p. 49–56, 2009.

BATTCKOCK, M. Fermented and vegetables: A global perspective. **Food & Agriculture Org. USA**, v.134, 1998.

BEAL, R. K. *et al.* Immunological Development of the Avian Gut. *In*: PERRY, G.C. **Avian Gut Function in Health and Disease**. Oxfordshire: Carfax Publishing Company, p.85-103, 2006.

BENÍCIO, L. A. S. Paineis: Restrições e uso de aditivos (promotores de crescimento) em rações de aves; visão da indústria. *In*: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 1996, Curitiba. **Anais...** Curitiba: FACTA, p. 17-26, 1996.

BLONDEAU, K. **La paroi de levures: structure et fonctions, potentiels therapeutiques et technologiques**. Université Paris Sud. Paris. 18p. 2001.

BORSA, A. *et al.* Valores hematológicos em frangos de corte de criação industrial. **Colloquium Agrariae**, Presidente Prudente, v.5, p.25-31. 2009.

BRENDA, A. L. *et al.* Manipulação de microrganismos intestinais em monogástricos: Revisão de literatura. **PUBVET**, Londrina, v. 4, n. 1, ed. 106, Art. 714, 2010.

BRISBIN, J. T. *et al.* Effects of lactobacilli on cytokine expression by chicken spleen and cecal tonsil cells. **Clinical and Vaccine Immunology**. Washington, v. 17, p. 1337–1343, 2010.

BRISBIN, J. T. *et al.* Oral treatment of chickens with *Lactobacilli* *influentes*. **Clinical and Vaccine Immunology**, Whashington, v. 18, p. 1447-1455, 2011.

BÜCHL, N. R. *et al.* Differentiation of probiotic and environmental *Saccharomyces cerevisiae* strains in animal feed. **Journal Applied Microbiology**. USA, v.109, p. 783–791, 2010.

BUTOLO, J. E. Uso de aditivos na alimentação de aves: frangos de corte. *In*: SIMPÓSIO SOBRE IMPLICAÇÕES SOCIOECONÓMICAS DO USO DE ADITIVOS NA NUTRIÇÃO ANIMAL, 1999. Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: CBNA, p. 85-94, 1999.

CALLAWAY, T. R. *et al.* Probiotics, prebiotics and competitive exclusion for prophylaxis against bacterial disease. **Animal Health Research Reviews**. Cambridge, v.9, p. 217-225, 2008.

CANGUSSU, A. S. R. **Cinética de crescimento e metabolismo de levedura potencialmente probiótica**. Viçosa, 2003, 76 f. Tese (Doutorado em Microbiologia Agrícola) Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, 2003.

CARDOSO, P. V. *et al.* Administração oral de piperina em frangos de corte. **Ciência Rural**. Santa Maria, v. 39, n.5, p. 1521-1526, 2009.

CARDOSO, A.L.S; TESSARI, E. N. C. Estudo dos parâmetros hematológicos em frangos de corte. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 70, n. 4, p. 419-424, 2003.

CARVALHO, T. M. R. *et al.* Qualidade da cama e do ar em diferentes condições de alojamento de frangos de corte. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Distrito Federal, v. 46, n. 4, 2011.

CASSONI, V. **Valorização de resíduo de processamento de farinha de mandioca (Manipueira) por acetificação**. Botucatu, 2008, 76 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia - Energia na Agricultura) - Faculdade de Ciências Agronômicas da Unesp, Campus de Botucatu, Botucatu-SP, 2008.

CATALAN, A. A. S, *et al.* Aditivos fitogênicos na nutrição animal: *Panax ginseng*. **Revista Portuguesa Ciências Veterinárias**. Lisboa, v. 107, p. 581-582, 2012.

CECHINEL FILHO, V.; YUNES, R. A. Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais: conceitos sobre modificação estrutural para otimização da atividade. **Química Nova**. São Paulo, v. 21, p. 99-105, 1998.

CENGIZ, O. *et al.* Effect of dietary probiotic and high stocking density on the performance, carcass yield, gut microflora, and stress indicators of broilers. **Poultry Science**, Oxford, v. 94, p. 2395–2403, 2015.

CETIN, N. *et al.* The effects of probiotic and mannanoligosaccharide on some haematological and immunological parameters in Turkeys. **Journal of Veterinary Medicine Series A – Physiology Pathology Clinical Medicine**, USA, v.52, P.263–267. 2005.

CHAMBERS, J. R.; GONG, J. The intestinal microbiota and its modulation for Salmonella control in chickens. **Food Research International**. [S.I], v. 44, p. 3149-3159, 2011.

CHEN, F. *et al.* Isolation and Probiotic Potential of *Lactobacillus Salivarius* and *Pediococcus Pentosaceus* in Specific Pathogen Free Chickens. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**. Campinas, v. 19, p. 325-332, 2017.

CHEN, L. *et al.* Identification of yeasts from raw milk and selection for some specific antioxidant properties. **International Journal of Dairy Technology**, USA, v.63, n.1, p.47–54, 2010.

CHICHLOWSKI, M., *et al.* Metabolic and physiological impact of probiotics or direct-fed microbials on poultry: A brief review of current knowledge. **International Journal of Poultry Science**, USA, v. 6, p. 694-704, 2007.

CHOUDHARI, A. *et al.* Prebiotics and probiotics as health promoter. **Veterinary World**, USA, v. 1, p. 59-61, 2008.

COBB-VANTRESS BRASIL. **Manual de manejo de frangos de corte**. Guapiaçu: Cobb Vantress, 2008. 66p.

CORR, S. C. *et al.* Understanding the mechanisms by which probiotics inhibit gastrointestinal pathogens. **Advances in food and nutrition research**. The Netherlands, v.56, p. 1-15, 2009.

CORRÊIA, É. K. *et al.* Condicionamento ambiental e desempenho de suínos em crescimento e terminação criados sobre piso com leito de cama. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.29, p.2072-2079, 2000.

CORRÊA, G. S. S. *et al.* Utilização de antibiótico e probiótico como promotores de crescimento na alimentação de frangos de corte. **Revista Universidade Rural**, Rio de Janeiro, v.22, n.2, p.75 81, 2003.

COSTA, L. B. *et al.* Aditivos fitogênicos e butirato de sódio como promotores de crescimento de leitões desmamados. **Archivos de Zootecnia**. [S.I], v. 60, p. 687-698, 2011.

COX, C. M; DALLOUL, R. A. Dalloul. Immunomodulatory role of probiotics in poultry and potential in ovo application. **Beneficial Microbes**. The Netherlands, v. 6, p. 45–52, 2015.

DAIPRA, M. A. *et al.* Uso de cal virgem para o controle de *Salmonella spp* e *Clostridium spp* em camas de aviário. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.39, n.4, p.1189-1194, jul, 2009.

DAIPRA, M. A. Novas Estratégias para a Utilização de Cama em Aviários. *In: Conferência FACTA*, Ciência e Tecnologia Avícolas, 2011.

DALLOUL, R. A. *et al.* Induction of local protective immunity to *Eimeria acervulina* by a *Lactobacillus*-based probiotic. **Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases**. v. 28, p. 351–361, 2005.

DALÓLIO, F.S. *et al.* Aditivos alternativos ao uso de antimicrobianos na alimentação de frangos de corte. **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável**, Viçosa, v.5, n.1, 2015.

DE LOS SANTOS, J. R. G; GIL-TURNES, C. Probióticos na avicultura. **Ciência Rural**, Santa Maria v.35, p.741, 747, 2005.

DE CESARE, A. *et al.* Effect of dietary supplementation with *Lactobacillus acidophilus* D2/CSL (CECT 4529) on caecum microbioma and productive performance in broiler chickens. **PLoS ONE**, California, v. 12(5): e0176309, 2017.

DIAZ-SANCHEZ, S. *et al.* Botanical alternatives to antibiotics for use in organic poultry production. **Poultry Science**, Oxford, v. 94, p. 1419-1430, 2015.

DIBNER, J. J.; BUTTIN, P. Use of Organic Acids as a Model to Study the Impact of Gut Microflora on Nutrition and Metabolism. **The Journal of Applied Poultry Research**, Oxford, v. 11, p. 453-463, 2002.

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

DOBSON, A.; COTTER, P.D.; ROSS, P.; HILL, C. Bacteriocin production: a probiotic trait? **Applied and environmental microbiology**. Washington, v.78, n.1, p.106, 2012.

- DOURADO, E. *et al.* Enzimas na Nutrição de Monogástricos. *In:* SAKOMURA, N. K.; SILVA, J. H. V.; COSTA, F. G. P.; JOÃO BATISTA K. FERNANDES, J. B. K.; HAUSCHILD, L. (Org.). **Nutrição de Não Ruminantes**. 1ed. Jaboticabal: FUNEP, 2014, v. 1, p. 466-484, 2014.
- EDENS, F. W. An alternative for antibiotic use in poultry: Probiotics. **Brazilian Journal of Poultry Science**. Campinas, v.5, n.2, p. 75-97, 2003.
- EDENS, F. W. *et al.* Principles of ex ovo competitive exclusion and in ovo administration of *Lactobacillus reuteri*. **Poultry Science**, Oxford, v. 76. P. 179-196, 1997.
- EL-BANNA, H. A. *et al.* Effect os probiotic, prebiotic and symbiotic on broiler performance. **World Applied Science**, Valencia, v. 11. p. 388-393, 2010.
- ELKHOULY, M. A. *et al.* Effect of Phytobiotics, Probiotics and Toltrazuril on Chicken Coccidiosi. **Zagazig Veterinary Journal**, Egypt, v.44, n.3, p.214-223, 2016.
- FAIRBROTHER, A. *et al.* Avian immunotoxicology. **Journal of Toxicology and Environmental Health**, [S.I.], V. 7, P. 105-107, 2004.
- FARIA, D. E. *et al.* Alternarivas ao uso de antibióticos como promotores de crescimento para frangos de corte: 2. Ácidos orgânicos e probióticos. **Ciência Animal Brasileira**, Goiás, v.10, n.1, p.29 - 39, 2009.
- FERNANDES, J. I. M. *et al.* Probiótico dietético em um modelo de infecção experimental de enterite necrótica em frangos de corte. **Revista Acadêmica: Ciência Animal**, Paraná, v.14, p. 157-168, 2016.
- FERREIRA, A. A. *et al.* Papel do sistema imune e atuação dos probióticos na doença de Crohn. **Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR**, Paraná, v. 14, n. 2, p. 171-177, 2010.
- FREITAS, E. R. *et al.* Probióticos e prebióticos na nutrição de monogástricos. *In:* SAKOMURA, N. K.; SILVA, J. H. V.; COSTA, F. G. P.; JOÃO BATISTA K. FERNANDES, J. B. K.; HAUSCHILD, L. (Org.). **Nutrição de Não Ruminantes**. 1ed. Jaboticabal: FUNEP, 2014, v. 1, p. 485-510.
- FREZZA, A. L. C. **Probióticos na ração de frangos de corte e sua influência no pH do inglúvio e na microbiota intestinal**. Uberlândia, 2008, 44 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2008.
- FRITTS, C. A. *et al.* *Bacillus subtilis* C-3102 (Calsporin) improves live performance and microbiological status of broiler chickens. **Journal of Applied Poultry Research**, Oxford, v.9, n.2, p.149-155, 2000.
- FUKAYAMA, E. H. *et al.* Extrato de Orégano como Aditivo em Rações para Frangos de Corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**. Viçosa, v. 34, n.6, p. 2316-2326, 2005.
- FULLER, R. Probiotics in man and animals: a review. **Journal of Applied Bacteriology**, West Sussex, v. 66, p. 365-378, 1989.

FULLER, R. **Probiotics: the scientific basis**. London: Chapman & Hall, 328p, 1992.

FURLAN, R. L. *et al.* 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.

FURTADO, D. A. *et al.* Índices de conforto térmico e concentração de gases em galpões avícolas no semiárido paraibano. **Engenharia Agrícola**, Jaboticabal, v.30, n.6, p.993-1002, 2010.

GAGGIA, F. *et al.* Probiotics and prebiotics in animal feeding for safe food production. **International Journal of Food Microbiology**, Oxford, v. 141, p. 15-28, 2010.

GIBSON, G. R; TOBERFROID, M. B. Dietary modulation of concept of prebiotics. **Journal of Nutrition**, Oxford. v. 125, p. 1401-1412, 1995.

GONZALES, E.; MASCARENHAS, A. G. Regulamento do Uso de Aditivos na Alimentação Animal. *In: SAKOMURA, N. K.; SILVA, J. H. V.; COSTA, F. G. P.; JOÃO BATISTA K. FERNANDES, J. B. K.; HAUSCHILD, L. (Org.). Nutrição de Não Ruminantes*. 1ed. Jaboticabal: FUNEP, 2014, v. 1, p. 459-465, 2014.

GUARNER, F. *et al.* Probiotics and prebiotics. **World Gastroenterology Organization Practice Guideline**, 2008.

HAGHIGHI, H. R. *et al.* Cytokine gene expression in chicken cecal tonsils following treatment with probiotics and Salmonella infection. **Veterinary Microbiology**. [S.I], v. 126, p. 225–233, 2008.

HAGHIGHI, H. R. *et al.* Probiotics stimulate production of natural antibodies in chickens. **Clinical and Vaccine Immunology**. Whashington, v. 13, p. 975–980, 2006.

HANNAS, M. I.; PUPA, J. M. R. Enzimas: uma alternativa viável para enfrentar a crise na suinocultura. 2007. Ergomix. Disponível em <http://www.engormix.com/enzimas_uma_alternativa_viavel_p_artigos_26_POR.htm>. Acesso em 4 de outubro de 2017.

HATOUM, R. *et al.* Antimicrobial and probiotic properties of yeasts: From fundamental to novel applications. **Frontiers in Microbiology**, [S.I], v.3, p.1–12, 2012.

HERNANDES, R. *et al.* Frações nitrogenadas, glicídicas e amônia liberada pela cama de frangos de corte em diferentes densidades e tempos de confinamento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.31, p.1795-1802, 2002.

HIGGINS, J. P. *et al.* Effect of lactic acid bacteria probiotic culture treatment timing on Salmonella Enteritidis in neonatal broilers. **Poultry Science**. Oxford, v. 89, n.2, p. 243-247, 2010.

HOSSAIN, M. E. *et al.* Evaluation of probiotic strains for development of fermented *Alisma canaliculatum* and their effects on broiler chickens. **Poultry Science**, Oxford, v.91, p.3121-3131, 2012.

HUME, M. E. Historic perspective: prebiotics, probiotics, and other alternatives to antibiotics. **Poultry Science**, Oxford, v.90, n.11, p.2663-2669, 2011.

HUYGHEBAERT, G. *et al.* An update on alternatives to antimicrobial growth promoters for broilers. **The Veterinary Journal**, [S.I.], v. 187, P. 182-188, 2011.

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

JAYALAKSHMI, T. *et al.* Influence of stocking densities on litter moisture, microbial load, air ammonia concentration and broiler performance. **Tamilnadu Journal Veterinary and Animal Science**, Indian, v. 5, 0. 80-86, 2009.

JAYARAMAN, S. *et al.* *Bacillus subtilis* PB6 improves intestinal health of broiler chickens challenged with *Clostridium perfringens* - induced necrotic enteritis. **Poultry Science**. Oxford, v. 92, p. 370-374, 2013.

JASSEN, A. M. *et al.* Antimicrobial activity os essential oils: a 1976-1986 literature review Aspects of the test methods. **Planta Médica**. [S.I.], v. 53, n.5, p. 395-398, 1987.

JEONG, J. S.; KIM, I. H. Effect of *Bacillus subtilis* C-3102 spores as a probiotic feed supplement on growth performance, noxious gas emission, and intestinal microflora in broilers. **Poultry Science**, Oxford, v. 93, p. 3097–3103, 2014.

JIN, L. *et al.* Influence of dried *Bacillus subtil* and *Lactobacilli* culture on intestinal microflora and performance in broilers. **Asian Australian Journal Animmal Science**, Seoul, v. 9. P. 397-403, 1996.

JIN, L. Z. *et al.* Inhibition of enterotoxigenic *Escherichia coli* K88, K99 and 987P by the *Lactobacillus isolates* from porcine intestine. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Sussex, v.80, n.5, p.619-624, 2000.

JIN, L. Z. *et al.* Growth performance, intestinal microbial populations, and serum cholesterol of broilers fed diets *Lactobacillus* cultures. **Poultry Science**, Oxford, v.77, n.9, p.1259-1265, 1998.

JONES, F. T.; RICKE, S. C. Observations on the history of the development of antimicrobials and their use en poultry feeds. **Poultry Science**, Oxford, v.82, n.4, p.613- 612, 2003.

JUNQUEIRA, O. M.; DUARTE K. F. Resultados de pesquisa com aditivos alimentares no Brasil. *In*: XLII REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 2005, Goiânia. **Anais...** 2005, p.169-182.

KABIR, S. M. L. *et al.* The dynamics of probiotics on growth performance and immune response in broilers. **International Journal of Poultry Science**, [S.I.], v. 3, p. 361–364, 2004.

KAMEL, C. A. A novel look at a classic approach of plant extracts. **Ciência Rural Feed Mix – The International Journal on Feed, Nutrition and Technology – Special: Alternatives to antibiotcs**, West Sussev, v.8, n.3, p.19-21, 2010.

- KARIMI, M. A. T. *et al.* Assessing the effect of administering probiotics in water or as feed supplement on broiler performance and immune response. **Poultry Science**. Oxford, v. 51, p. 178–184, 2010.
- KERR, M. G. Proteínas plasmáticas. In: KERR, M. G.; MORAG, G. **Exames laboratoriais em medicina veterinária: bioquímica clínica e hematologia**. São Paulo: Roca, 2003. p.87-94.
- KEERQUIN, N. K. *et al.* Reintroduction of microflora from necrotic enteritis-resistant chickens reduces gross lesions and improves performance of necrotic enteritis-challenged broilers. **The Journal of Applied Poultry Research**. Oxford. p. 1–9, 2017.
- KIM G. B. *et al.* Effect of dietary prebiotic supplementation on the performance, intestinal microflora, and immune response of broilers. **Poultry Science**. V. 90, p. 75-82, 2011.
- KIM, K. S. *et al.* Effect of dietary supplementation of *Alisma canaliculatum* (*Alismatis rhizoma*) and *Viscum album* (mistletoe) on growth performance and immunity in broiler chicken. **Korean Journal of Poultry Science**. v. 38, p. 21–28, 2011.
- KOGUT, M. H. The gut microbiota and host innate immunity: Regulators of host metabolism and metabolic diseases in poultry? **The Journal of Applied Poultry Research**. Oxford, v.22, n.3, p.637-646, 2013.
- KONAN, N. A. Acute, subacute toxicity and genotoxic effect of hydroethanolic extract of the cashew (*Anacardium occidentale* L.) **Journal Ethnopharmacol**, [S.I], v.110, p.30 – 38. 2007.
- LAN, R. C. *et al.* Effects of *Enterococcus faecium* SLB 120 on growth performance, blood parameters, relative organ weight, breast muscle meat quality, excreta microbiota shedding, and noxious gas emission in broilers. **Poultry Science**, Oxford, v. 0, p. 1-8, 2017.
- LANCINI, J. B. Fatores exógenos na função gastrointestinal, aditivos. In: FUNDAÇÃO APINCO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA. **Fisiologia da digestão e absorção das aves**. Campinas: APINCO, 1994. p. 99-126.
- LAURENTIZ, A. C. **Efeito do probiótico e alturas de cama sobre o desempenho de frangos de corte submetidos a diferentes temperaturas**. Jaboticabal, 2000, 79 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2000.
- LAVERMICOCCA, P. *et al.* Study of adhesion and survival of lactobacilli and bifidobacteria on table olives with the aim of formulating a new probiotic food. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 71, n. 8, p. 4233-4240, 2005.
- LEE, K. W. *et al.* Direct fed microbials and their impact on the intestinal microflora and immune system of chickens. **Journal of Poultry Science**, Japan, v. 47, p. 106-114, 2010.
- LEEDLE, J. Probiotics and DFMs – mode of action in the gastrointestinal tract. In: SÍMPOSIO SOBRE ADITIVOS ALTERNATIVOS NA NUTRIÇÃO ANIMAL, 2000. Campinas. **Anais...** Campinas: CBNA, 2000. p. 25-40.

- LEMOS, M. J. *et al.* Uso de aditivo alimentar equilibrador da flora intestinal em aves de corte e de postura. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 83, p. 1-7, 2016.
- LI, S. *et al.* Synergy of Astragalus polysaccharides and probiotics (*Lactobacillus and Bacillus cereus*) on immunity and intestinal microbiota in chicks. **Poultry Science**, Oxford, v. 88, p. 519-525, 2009.
- LIMA, A. C. F. *et al.* Efeito do uso de probiótico sobre o desempenho e atividade de enzimas digestivas de frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.32, n.1, p.200-207, 2003.
- LODDI, M. M. *et al.* Uso de probiótico e antibiótico sobre o desempenho, o rendimento e a qualidade de carcaça de frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.29, n.4, p.1124-1131, 2000.
- LORENÇON, L. *et al.* Utilização de promotores de crescimento para frangos de corte em rações fareladas e peletizadas. **Acta Scientiarum Animal Sciences**. Maringá, v. 29, p. 151-158, 2007.
- LUEGAS, J. A. P. *et al.* Efeito da adição de probióticos na dieta sobre digestibilidade ileal da matéria seca e da proteína de frangos de corte. **Archivos de Zootecnia**, [S.I], . v. 64, 2015.
- MACARI, M. A.; MAIORKA, A. **Aspectos Fisiológicos da qualidade intestinal e produtividade em frangos de corte**. Departamento de Morfofisiologia Animal, Faculdade de Ciências Agrárias & Veterinárias, Campus Jaboticabal, 2001.
- MACARI, M.; FURLAN, R. L. Probióticos. Conferência de Ciência e Tecnologia Avícolas, Santos, SP. **Anais... Facta**, 2005, v. 1, p.53-72.
- MACARI, M.; MAIORKA, A. Estudo sobre uso de parede celular de *Saccharomyces cerevisiae* sobre desenvolvimento das vilosidades intestinais. *In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLA*, 2000, Campinas, SP. **Anais... Campinas, SP: FACTA 2000**. p. 170.
- MADIGAN, M; MARTINKO, J. **Brock Biology of Microorganisms**. 11 ed. New Jersey: Pearson Prentice Hall, 2005.
- MAIORKA, A. *et al.* Utilização de prebióticos, probióticos ou simbióticos em dieta para frangos. **Revista Brasileira de Ciências Avícola**, Campinas, v.3, n.1, p.75-82, 2001.
- MALAKA, R et al. Abdominal Fat Percentage and Carcass Quality of Broiler Given Probiotics *Bacillus* spp. **Scientific Research Journal**, [S.I] v. 4. p. 33-37, 2016.
- MARTIN, R. *et al.* Early life: gut microbiota and immune development in infancy. **Beneficial Microbes**, USA, v. 1, p. 367-382, 2010.
- MCWARD, G. W.; TAYLOR, D. R. Acidified clay litter amendment. **Journal Applied Poultry Research**, Oxford, v.9, n.4, p.518-529, 2000.

MENDES, H. B. R. **Identificação de novos microrganismos com potencial probiótico e atividade contra enteropatógenos bacterianos**. São Luís, 2017, 88 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia) Universidade Federal do Maranhão, São Luís -MA, 2017.

MENTEN, J. F. M. *et al.* Antibióticos, ácidos orgânicos e óleos essenciais na nutrição de monogástricos. *In:* SAKOMURA, N. K.; SILVA, J. H. V.; COSTA, F. G. P.; JOÃO BATISTA K. FERNANDES, J. B. K.; HAUSCHILD, L. (Org.). **Nutrição de Não Ruminantes**. 1ed. Jaboticabal: FUNEP, v. 1, p. 511-535, 2014.

MICHEL, M. A. *et al.* Evaluation of a commercially available probiotic and organic acid blend product on production parameters and economics in broiler breeders. **Nutrition Food Technology**, USA, v.3(1), 2017.

MILES, R. D. *et al.* Virginiamycin and broiler performance. **Poultry Science**, Oxford, v. 63, p. 1218-1221, 1984.

MINAFRA, C.S. *et al.* Perfil bioquímico do soro de frangos de corte alimentados com dieta suplementada com alfa-amilase de *Cryptococcus flavus* e *Aspergillus niger* HM2003. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa -MG, v. 39, n. 12, p. 2991- 2996, 2010.

MOUNTZOURIS, K. C. *et al.* Effects of probiotic inclusion levels in broiler nutrition on growth performance, nutriente digestibility plasma immunoglobulins, and cecal microflora composition. **Poultry Science**. Oxford, v.89, p. 58–67, 2010.

MOUNTZOURIS, K. C. *et al.* Evaluation of the efficacy of a probiotic containing Lactobacillus, Bifidobacterium, Enterococcus, and Pediococcus strains in promoting broiler performance and modulating cecal microflora composition and metabolic activities. **Poultry Science**. Oxford, v. 86, n. 2, p. 309-317, 2007.

MOUNTZOURIS, K. C. *et al.* Evaluation of yeast dietary supplementation in broilers challenged or not with *Salmonella* on growth performance, cecal microbiota composition and *Salmonella* in ceca, cloacae and carcass skin. **Poultry Science**, Oxford, v.00, p. 1–11, 2015.

MUIR, W. I. *et al.* Immunity, vaccination and the avian intestinal tract. **Developmental and Comparative Immunology**, [S.I.], v. 24, p. 325-342, 2000.

MURAKAMI, A. E. *et al.* Efeito da suplementação enzimática no desempenho e qualidade dos ovos de poedeiras comerciais. **Acta Scientiarum Animal Sciences**. Maringá, v. 29, p. 165-172, 2007.

MURAROLLI, V. D. A. **Efeito de prebiótico, probiótico e simbiótico sobre o desempenho, morfologia intestinal e imunidade de frangos de corte**. 2008. 101 f. Dissertação (Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Produção Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo. Pirassununga, 2008.

MURUGESAN, G. R. *et al.* Effects of direct-fed microbial supplementation on broiler performance, intestinal nutrient transport and integrity under experimental conditions with increased microbial challenge. **British Poultry Science**, Reino Unido, v. 55, p. 89–97, 2014.

MUSIKASANG, H. *et al.* Probiotic potential of lactic acid bacteria isolated from chicken gastrointestinal digestive tract. **World Journal Microbiology Biotechnology**. [S.I.], v.25, p.1337–1345, 2009.

NAIDU, A. S. *et al.* Probiotic spectra of lactic acid bacteria (LAB). **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v.38, n.1, p.13-126, 1999.

NAKPHAICHIT, M. S. *et al.* The effect of including *Lactobacillus reuteri* KUB-AC5 during post-hatch feeding on the growth and ileum microbiota of broiler chickens. **Poultry Science**, Oxford, v. 90, p. 2753–2765, 2011.

NAWAZ, H. *et al.* Effect of probiotics on growth performance, nutrient digestibility and carcass characteristics in broilers. **The Journal of Animal and Plant Sciences**, v. 26, n. 3, p. 599-604, 2016.

NEAL-MCKINNEY, J. M. *et al.* Production of organic acids by probiotic *lactobacilli* can be used to reduce pathogen load in poultry. **Plos One**. California, v. 7, n. 9, e43928, 2012.

NOSRATI, M. *et al.* The effects of antibiotic, probiotic, organic acid, vitamin C, and *Echinacea purpúrea* extract on performance, carcass characteristics, blood chemistry, microbiota, and immunity of broiler chickens. **Journal of Applied. Poultry Research**. Oxford, v. 26, p. 295-306, 2017.

NOUJAIM, J. C. *et al.* Detection of T Lymphocytes in Intestine of Broiler Chicks Treated with *Lactobacillus* spp. and Challenged with *Salmonella enterica* Serovar *Enteritidis*. **Poultry Science**. Oxford, v. 87, n.5, p. 927-933, 2008.

NURMI, E.; RANTALA, M. New aspects of *Salmonella* infection in broiler production. **Nature**, v. 241, p.210-211, 1973.

AOAC, Association of Official Analytical Chemists, **Official methods of analysis of the Association Analytical Chemists**. 18 ed. Gaithersburg, Maryland, 2005. 1298p. AOAC.

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

OHIMAIN, E. I.; OFONGO, R. T. S. The effect of probiotic and prebiotic feed supplementation on chicken health and gut microflora: A review. **International Journal of Animal and Veterinary Advances**, Dubai, v. 4, p. 135-143, 2012.

OLIVEIRA, M. C. *et al.* Teor de Matéria Seca, pH e Amônia Volatilizada da Cama de Frango Tratada ou Não com Diferentes Aditivos. **Revista Brasileira de Zootecnia**. Viçosa, v.32, n.4, p.951-954, 2003.

OLIVEIRA, M. C. *et al.* Efeito de condicionadores químicos na cama de frango sobre o desempenho de frangos de corte. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 56, n. 4, p. 536-541, 2004.

ORLA-JENSEN, S. La classification des Bacteries Lactiques. **Le Lait**. [S.I], v. 4, p. 468-477, 1921.

PALAMIDI, I. *et al.* Probiotic form effects on growth performance, digestive function, and immune related biomarkers in broilers. **Poultry Science**, Oxford, v.96, n.3, p. 778, 2017.

PAN, D; YU, Z. Intestinal microbiome of poultry and its interaction with host and diet. **Gut Microbes**. [S.I], v.5, n. 1, p. 108-119, 2014.

PARK, J.; KIM, I. Supplemental effect of probiotic bacillus subtilis b2a on productivity, organ weight, intestinal salmonella microflora, and breast meat quality of growing broiler chicks. **Poultry Science**, Oxford, v. 93, p.1-6, 2014.

PATTERSON, J. A.; BURKHOLDER. K. M. Application os prebiotes and probiotes in poultry production. **Poultry Science**, Oxford, v.82, n.4, p.627-631, 2003.

PAZ, A. S. *et al.* Aditivos promotores de crescimento na alimentação de frangos de corte. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**. Bahia, v. 11, p. 395-402, 2010.

PEARCE, M.; JIN, G. L. Z. Aditivos Fitogênicos. **Porkworld**, Campinas, n.58, p. 128-136, 2010.

PEDROSO, A. A. 2003. **Estrutura da comunidade de bactéria do trato intestinal de frangos suplementados com promotores de crescimento**. Tese de Doutorado em Ciência. Animal e Pastagens, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo. 103p, 2003.

PEDROSO, A. A. *et al.* Desempenho e qualidade de ovos de poedeiras de 50 a 66 semanas de idade suplementadas com probiótico. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.31, n.4, p.683-686, 2001.

PELICANO, E. R. L. *et al.* Intestinal mucosa development in broiler chickens fed natural growth promoters. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**. Campinas, v.7, n. 4, p. 221-229, 2005.

PENDER, C. M. *et al.* Effects of in ovo supplementation of probiotics on performance and immunocompetence of broiler chicks to an *Eimeria* challenge. **Beneficial Microbes**, [S.I], v. 7, n. 5, p. 699-705, 2016.

PENG, Q. *et al.* Effects of dietary Lactobacillus plantarum B1 on growth performance, intestinal microbiota, and short chain fatty acid profiles in broiler chickens. **Poultry Science**. Oxford, v. 95, n.4, p. 893-900, 2016.

PINOS-RODRÍGUEZ, J. M. *et al.* Performance and rumen fermentation of dairy calves supplemented with *Saccharomyces cerevisiae* 1077 or *Saccharomyces boulardii* 1079. **Animal Feed Science and Technology**, [S.I], v. 140, p. 223–232, 2008.

QIU, G.; GUO, M. Quality of poultry litter-derived granular activated carbon. **Bioresource Technology**, [S.I], v.101, p.379-386, 2010.

QIU, R. *et al.* Direct fed microbial supplementation repartitions host energy to the immune system. **Journal Animal Science**, Oxford, v. 90, p. 2639-2651, 2012.

RAMESH, B. K. *et al.* Effect of *Lactobacillus acidophilus* on gut pH and viable bacterial count in experimental fowl typhoid in broilers. **Indian Veterinary Journal**. **Indian**, v. 77, p.544-546, 2000.

RAMOS, L. S. N. **Aditivos alternativos a antibióticos em rações para frango de corte**. 2009. 85p. Tese (Doutorado em Ciência Animal), Centro de Ciências agrárias, Universidade Federal do Piauí, Teresina, Piauí, 2009.

REZENDE, C. S. M. *et al.* Ácido acético em rações de frangos de corte experimentalmente contaminadas com *Salmonella enteritidis* e *Salmonella typhimurium*. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Bahia, v.9, n.3, p.516-528, 2008.

RIGOBELLO, E. C. *et al.* Desempenho de frangos de corte suplementados com probiótico. **Ars Veterinaria**, Jaboticabal, v.27, n.2, 111-115, 2011.

RIZZO, V.S. *et al.* Extratos vegetais em dietas para frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**. Viçosa, v. 39, n.4, p. 801-807, 2010.

ROCHA, A. P. *et al.* Prebióticos, ácidos orgânicos e probióticos em rações para frangos de corte. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Bahia, v.11, n.3, p.793-801, 2010.

RODRÍGUEZ-CABEZAS, M. E. *et al.* The combination of fructooligosaccharides and resistant starch shows prebiotic additive effects in rats. **Clinical Nutrition**. [S.I], v. 29, p. 832–839, 2010.

RODRIGUEZ, A. C. *et al.* Effect of *Saccharomyces boulardii* against experimental oral infection with *Salmonella typhimurium* and *Shigella flexneri* in conventional and gnotobiotic mice. **Journal of Applied Bacteriology**, Oxford, v.81, n.3, p.251-256, 1996.

ROLFE, R. D. The role of probiotic cultures in the control of gastrointestinal health. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v.130, n.2, p. 396S-402S, 2000.

ROSTAGNO, H. S. *et al.* **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais de aves e suínos**. 3ª edição, Viçosa, MG: UFV, 252 p., 2011.

ROTAVA, *et al.* Bioquímica sanguínea de frangos de corte alimentados com subprodutos da uva. **Agrarian**, Mato Grosso, v.1, n.1, p.91-104. 2008.

RUTZ, F. *et al.* Antibióticos como promotores e impacto na saúde animal. *In: A ZOOTECNIA FRENTE A NOVOS DESAFIOS – ZOOTEC 2007*, Londrina. **Anais...** Londrina: UEL, 2007. p.369-406.

SAINT-CYR, M. J. *et al.* Use of the potential probiotic strain *Lactobacillus salivarius* SMXD51 to control *Campylobacter jejuni* in broilers. **International Journal of Food Microbiology**. [S.I], v. 247, p. 9-17, 2016.

SAMPAIO, I. B. M. **Estatística aplicada à experimentação animal**. 2º Edição. Belo Horizonte Belo Horizonte, 2002. Fundação de Estudo e Pesquisa em Medicina Veterinária, 265 p, 2002.

SAMPAIO, M. A. P. M. *et al.* Estudo da população microbiana e da liberação de amônia da cama de frangos tratada com gesso agrícola. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. [online]. Belo Horizonte, v. 51, n. 6, p.559-564, 1999.

SANTOS, E. C. *et al.* Uso de aditivos promotores de crescimento sobre o desempenho, características de carcaça e bactérias totais do intestino de frangos de corte. **Ciência. Agrotécnica**, Lavras, v. 29, p. 223–231, 2005.

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

SANTOS, I. I. *et al.* Desempenho zootécnico e rendimento de carcaça de frangos de corte suplementados com diferentes probióticos e antimicrobianos. **Acta Scientiarum Animal Sciences**. Maringá, v. 26, n. 1, p. 29-33, 2004.

SARKER, M. S. K. *et al.* Hamcho (*Salicornia herbacea*) with probiotics as alternative to antibiotic for broiler production. **Journal Medival Plants Research**. [S.I] v. 4, p. 415–420, 2010.

SARTORI, J. R. *et al.* Enzima e simbiótico para frangos criados nos sistemas convencional e alternativo. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.37, n.1, p.235-240, 2007.

SAS Institute. **SAS Users guide: Statistics**. Version 8. Carry, NC, 2000.

SATO, R. N. *et al.* Uso de antibiótico e/ou probiótico como promotores de crescimento em rações iniciais de frangos. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, Campinas, v. 4, p. 37, 2002.

SCHENEITZ, C. Competitive exclusion in poultry – 30 years of research. **Food Control**. Kidlington, v. 16, p. 657-665, 2005.

SCHMIDT, E. M. S. *et al.* Patologia clínica em aves de produção: uma ferramenta para monitorar a sanidade avícola - revisão. **Archives of Veterinary Science**, [S.I], v. 12(3), p. 09-20, 2007.

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**, [S.I], v. 93, p. 264-268, 2012.

SEIFE, K. *et al.* Efficiency of early, single-dose probiotic administration methods on performance, small intestinal morphology, blood biochemistry, and immune response of Japanese quail. **Poultry Science**, Oxford, v. 96, p. 2151-2158, 2017.

SHARMA, J. M. Host factors for disease resistance. *In*: CALNECK, B.W. **Diseases of poultry**. 10ª Ed. Ames: Iowa State University Press, p.47-58, 2008.

- SHARMA, N. K. *et al.* Nutritional effects on odour emissions in broiler production. **World's Poultry Science Journal**. Cambridge, v. 73, p. 257-280, 2017a.
- SHARMA, N. K. *et al.* Characterisation and quantification of changes in odorants from litter headspace of meat chickens fed diets varying in protein levels and additives. **Poultry Science**, Oxford, v. 96, p. 851- 860, 2017b.
- SILVA, E. N. Alimentos funcionais para aves: prebióticos e probióticos na alimentação avícola. Conferência de Ciência e Tecnologia Avícolas. Campinas -SP. **Anais... Facta**, v. 2, p.241-251. 2000.
- SILVA, G. S. *et al.* Effectiveness of the compound Chlorpyrifos + Cypermethrin + Citronella against *Alphitobius diaperinus*. Laboratory analysis and residue determination in carcasses. **Brazilian Journal of Poultry Science**, Campinas, v.9, n.3, p.167 170, 2007.
- SILVA, I. G. **Efeito da inoculação in ovo de probiótico e produto de exclusão competitiva em frangos de corte desafiados com *salmonella heidelberg***. Botucatu, 2016, 56f. Dissertação de Mestrado em Ciências Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, 2016a.
- SILVA, K. M. **Imuno nutrição de frangos de corte alimentados com ácidos orgânicos em alternativas aos quimioterápicos**. Dracena, 2016, 58f. Dissertação de Mestrado em Ciências e Tecnologia Animal, Universidade Estadual Paulista, 2016b.
- SIMON, O. *et al.* Probiotic feed additives - effectiveness and expected modes of action. **Journal of Animal Feed Sciences**, Poland, v.10, p. 51–67, 2001.
- SOARES, L. **Aditivos alternativos aos antibióticos promotores de crescimento no desempenho de frangos de corte sob desafio sanitário**. Jaboticabal, 2015, 72 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2015.
- SOARES, S. S. *et al.* Avaliação de métodos para determinação de cloro residual livre em águas de abastecimento público. **Semina: Ciências Exatas e Tecnológicas**, Loderina, v. 37, n. 1, p.119-130, 2016.
- SOHAIL, M. U. *et al.* Effect of supplementation of prebiotic mannan-oligosaccharides and probiotic mixture on growth performance of broilers subjected to chronic heat stress. **Poultry Science**, Oxford, v. 91, p. 2235-2240, 2012.
- SONG, J. *et al.* Effect of a probiotic mixture on intestinal microflora, morphology, and barrier integrity of broilers subjected to heat stress. **Poultry Science**, Oxford, v. 93, p. 581-588, 2014.
- SOUZA, L. F. A. *et al.* Probióticos e antibióticos como promotores de crescimento para frangos de corte. **Colloquium Agrariae**, Presidente Prudente, v. 6, n. 2, p. 33-39, 2010.
- STANLEY, D. *et al.* Bacteria within the Gastrointestinal Tract Microbiota Correlated with Improved Growth and Feed Conversion: Challenges Presented for the Identification of Performance Enhancing Probiotic Bacteria. **Front Microbiology**. USA, v. 7, p. 187, 2016.

SUMAN, P. A. **Processo de Obtenção de Vinagre de Gengibre**. Botucatu, 2012, 86 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Faculdade de Ciências Agronômicas da Unesp, Campus de Botucatu, 2012.

SYAL, P.; VOHRA, A. Probiotic potential of yeasts from traditional Indian fermented foods. **International Journal of Microbiology Research**, [S.I.], v. 5, n.2, p. 390–398, 2013.

TABIDI, M. H. Effects of probiotic and antibiotic on performance and growth attributes of broiler chicks. **Global Journal of Medicinal Plants Research**. [S.I.], v. 1, p. 136-142, 2013.

TÉLLEZ, G. *et al.* Food-producing animals and their health in relation to human health. **Microbial Ecology in Health and Disease**, USA, v. 26, p. 25876, 2015.

TESSARI, E.N. *et al.* Parâmetros hematológicos de frangos de corte alimentados com ração contendo aflatoxina B1 e fumonisina B1. **Ciência Rural**. Santa Maria. v.36, n.3, p.924-929, 2006.

TOGHYANI, M. *et al.* Performance, immunity, sérum biochemical and hematological parameters in broiler chicks fed dietary thyme as alternative for an antibiotic growth promoter. **African Journal of Biotechnology**, Africa, v.9, n.40, p.6819-6825, 2010.

TOURNUT, J. R. Probiotics. *In*: REUNIÃO ANUAL DASOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 1998, Botucatu. **Anais ...**Botucatu: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1998. p.179-199, 1998.

TRALDI, A. B. *et al.* Avaliação de probióticos na dieta de frangos de corte criados em cama nova ou reutilizada. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.36, p.660-665, 2007.

TRALDI, A. B. *et al.* Desempenho e características de carcaça de frangos de corte alimentados com ração contendo probiótico e criados sobre cama nova ou reutilizada. **Revista Ciência Animal Brasileira**, Viçosa, v. 10, n. 4, p.107-114, 2009.

TRUSCOTT, R. B.; AL-SHEIKHLY, F. The production and treatment of necrotic enteritis in broilers. **American Journal of Veterinary Research**. Schaumburg, v. 38, p. 857-861, 1977.

VASSALO, M. Probióticos para leitões de 10 aos 30 kgs de peso vivo. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 1, p. 131-138, 1997.

VIDENSKA, P. *et al.* Chicken faecal microbiota and disturbances induced by single or repeat therapy with tetracycline and streptomycin. **Veterinary Research**, [S.I.], v. 9, p. 1-9, 2013.

VIEIRA, M. F. A. *et al.* Qualidade sanitária de camas de frango de corte reutilizadas. **Engenharia Agrícola**, Jaboticabal, v.35, n.5, p.800-807, 2015.

VILLANI, F. *et al.* Antilisterial activity of thermophilin 347, a bacteriocin produced by *Streptococcus thermophilus*. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.25, n.2, p.179-190, 1995.

- WANG, P. J. *et al.* Effects of phenyllactic acid on production performance, egg quality parameters, and blood characteristics in laying hens. **Journal of Applied Poultry Research**, Oxford, v.18, p.202-209. 2009.
- WAITITU, S. M. Effect of supplementing direct-fed microbials on broiler performance, nutrient digestibilities, and immune responses. **Poultry Science**. Oxford, v. 93, p. 625-35, 2014.
- WALDROUP, P.W. *et al.* The use of bambarmycins (flavomycin) and halofuginone (stenorol) in diets for growing turkey. **Poultry Science**, Oxford, v. 64, p. 1296-1301, 1985.
- WEILLER, M. A. A. **Efeito de probiótico a base de *b. Subtilis* e *b. Cereus* sobre a cama de frangos desafiados com salmonella enteritidis**. Santa Maria, 2014, 44 f. Especialização (Residência em Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, 2014.
- WOLFENDEN, A. D. *et al.* Evaluation of spray application of a Lactobacillus-based probiotic on Salmonella Enteritidis colonization in broiler chickens. **International Journal of Poultry Science**. USA, v.6, n.7, p. 493-496, 2007.
- WULFF, K. N. G. **Probióticos a base de *bacillus* spp. na cama e na ração de frangos de corte**. Palotina, 2015, 60 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal do Paraná, Palotina, 2015.
- XIE, J. *et al.* Effects of Lactobacillus plantarum NCU116 on intestine mucosal immunity in immunosuppressed mice. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, USA, v. 63, p. 10914-10920, 2015.
- YANG, Y. *et al.* Effects of mannanoligosaccharide and fructooligosaccharide on the response of broilers to pathogenic *Escherichia coli* challenge. **British Poultry Science**, Reino Unido, v.49, p. 550-559, 2008.
- ZAGHARI, M. *et al.* Effect of *Bacillus subtilis* spore (GalliPro®) nutrients equivalency value on broiler chicken performance. **Italian Journal of Animal Science**, Italian, v.14, p. 3555, 2015.
- ZAINE, L. Bom para nutrição, bom para a saúde. **Revista Cães e Gatos**. São Paulo, n. 180, p. 54-55, 2014.
- ZHANG, M. *et al.* Effects of Lactobacillus salivarius Ren on cancer prevention and intestinal microbiota in 1, 2-dimethylhydrazine-induced rat model. **Journal of Microbiology**, Berlin, v. 53, p. 398-405, 2015.
- ZHANG, Z. *et al.* Effects of *Bacillus subtilis* UBT-MO2 on growth performance, relative immune organ weight, gas concentration in excreta, and intestinal microbial shedding in broiler chickens. **Livestock Science**. [S.I.], v.155, p. 343-347, 2013.

ANEXO



Universidade Federal do Ceará
 Comissão de Ética no Uso de Animais - CEUA
 Rua: Coronel Nunes de Melo, 1127 Rodolfo Teófilo
 Cep: 60430-270 Fortaleza-CE

CERTIFICADO

Certificamos que o projeto intitulado "AVALIAÇÃO DE UMA CULTURA DE MICROORGANISMO PROBIÓTICOS NA ALIMENTAÇÃO DE FRANGOS DE CORTE", protocolô nº45/2017 sob responsabilidade do Pro. Dr. Ednardo Rodrigues Freitas, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto 6899 de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e foi adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA-UFC) da Universidade Federal do Ceará, em reunião realizada em 25 de maio de 2017.

Vigência do projeto	05/05/2017 a 05/12/2017
Espécie/Linhagem	Ave- Frango de corte- Ag ROSS 308
Nº de Animais	768
Peso/Idade	57g a 2,800kg - 1 a 42 dias
Sexo	Machos
Origem	Aviário Comercial

Fortaleza, 26 de maio de 2017

Alexandre Havt Bindá

Prof. Dr. Alexandre Havt Bindá
 Coordenador do CEUA - UFC

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
ALEXANDRE HAVT BINDÁ
 COORDENADOR DA COMISSÃO DE ÉTICA E DO USO COM
 ANIMAIS - CEUA/UFC - MATRÍCULA SIAPE: 1666982