

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

PROBIÓTICOS NA RAÇÃO DE FRANGOS DE
CORTE E SUA INFLUENCIA NO PH DO
INGLUVIO E NA MICROBIOTA INTESTINAL

Andréa Leão Carneiro Frezza

Médica Veterinária

UBERLÂNDIA – MINAS GERAIS - BRASIL
Março 2008

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

PROBIÓTICOS NA RAÇÃO DE FRANGOS DE CORTE E
SUA INFLUENCIA NO PH DO INGLUVIO E NA
MICROBIOTA INTESTINAL

Andréa Leão Carneiro Frezza

Orientadora: Dra. Daise Aparecida Rossi

Co-orientador: Dr. Geraldo Sadoyama

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária
– UFU, como parte das exigências para a obtenção do título de
Mestre em Ciências Veterinárias (Produção Animal)

UBERLÂNDIA – MINAS GERAIS - BRASIL
Março 2008

Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias – Produção Animal

Faculdade de Medicina Veterinária

Universidade Federal de Uberlândia

Dissertação defendida e aprovada em 10 de março de 2008, pela comissão
examinadora constituída por:

Profa. Dra. Daise Aparecida Rossi

Universidade Federal de Uberlândia

Prof.Dr. Geraldo Batista de Melo

Universidade Federal de Goiás

Prof. Dr. Paulo Lourenço da Silva

Universidade Federal de Uberlândia

Prof. Dr. André Luiz Quagliatto Santos

Coordenador do Programa de Pós-graduação

Ciências Veterinárias

"Apesar de sua educação e inteligência, um homem tolo não conhecerá seu verdadeiro Ser.

E uma pessoa de mente deturpada não abandonará suas más qualidades.

A educação moderna leva somente à argumentação, e não à sabedoria total.

Qual a utilidade de se adquirir a educação mundana se ela não pode levá-los à imortalidade?

Adquiram o conhecimento que “os tornará imortais.”

Sathya Sai Baba

Dedicatória

Dedico esta conquista primeiramente a Deus por ter me proporcionado a oportunidade de estar a cada dia podendo aperfeiçoar meus conhecimentos. A meu esposo e amigo Wander pelo seu apoio, carinho e cumplicidade. A minha filha Laura pelo seu amor e pureza. A minha mãe, meu pai, minha avó e saudoso avô que sempre acreditaram em mim, assim como meus irmãos, cunhados (as), sobrinhos e familiares.

Agradecimento

Agradeço ao carinho e dedicação da minha eterna amiga Bia (Belchiolina), Max Siqueira, Patrícia Soares, Bernardo, Eurípedes, toda equipe do LABIO, a minha querida Orientadora e amiga de todas as horas Daise Rossi, ao meu co-orientador Geraldo Sadoyama, a Fapemig pelo financiamento e apoio ao desenvolvimento da pesquisa. A todos aqueles que de alguma forma me ajudaram a concretizar este trabalho.

SUMÁRIO

	Pág.
LISTA DE TABELAS	II
RESUMO	III
ABSTRACT	V
INTRODUÇÃO	1
OBJETIVOS	3
REVISÃO DA LITERATURA	4
MATERIAL E MÉTODO	14
RESULTADOS E DISCUSSÃO	18
CONCLUSÃO	26
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	27

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** – Determinação do pH médio mensurado no inglúvio de aves suplementadas (Tratamento I) e não suplementadas (Tratamento II) com probiótico ração em diferentes idades. 18
- Tabela 2** – Peso médio (g-1) das aves suplementadas com probiótico e aves controles, em diferentes idades 20
- Tabela 3** – Uniformidade de peso das aves tratadas¹ com probióticos e controles, em diferentes idades 22
- Tabela 4** – Contagens médias de enterobactérias (UFC.g⁻¹) no conteúdo cecal de aves suplementadas e não suplementadas com probiótico na ração, em diferentes idades 23
- Tabela 5** - Contagens médias¹ de *Clostridium* sulfito redutores (UFC.g⁻¹) no conteúdo cecal de aves suplementadas com probiótico e aves controles, em diferentes idades 25

PROBIÓTICOS NA RAÇÃO DE FRANGOS DE CORTE E SUA INFLUENCIA NO PH DO INGLUVIO E NA MICROBIOTA INTESTINAL

RESUMO - O banimento do uso de antibióticos promotores de crescimento para a criação de frangos de corte no ano de 2006, resultou na necessidade de avaliação de produtos substitutos. Uma alternativa segura, que não deixa resíduos na carne, e conseqüências aos humanos, são os probióticos. O objetivo desse estudo foi avaliar o uso de um probiótico comercial no desempenho de frangos de corte em diferentes idades e na alteração do pH do inglúvio. Foram utilizadas 120 aves (60 teste e 60 controle) da linhagem Cobb-Vantress, alojadas imediatamente após eclosão em gaiolas identificadas e separadas, em ambiente controlado. As aves testes receberam ração suplementada com antibiótico desde o alojamento, e as aves controles receberam a mesma ração sem probióticos. Nos dias um, sete, 12, 18, 23 e 28 de idade foram amostradas aves de cada tratamento para o estudo. Nesses dias também foi pesada a ração fornecida aos frangos. As aves amostrais foram pesadas, observadas quanto ao aspecto clínico e mortalidade e depois sacrificadas. Imediatamente após foi mensurado o pH do conteúdo do inglúvio de todos os animais. O pH médio mensurado foi significativamente menor ($p < 0,05$) no grupo tratado com probióticos nas idades de um, sete e 18 dias. Apesar de em todas as idades as aves do grupo suplementado apresentar maior peso, não houve diferenças significativas ($p > 0,05$) entre os tratamentos, em todas as idades. Também, não houve diferenças significativas ($p \geq 0,05$) no consumo de ração, nem na mortalidade, entre os tratamentos estudados. Concluiu-se, que a suplementação de probióticos diminui o pH do conteúdo do inglúvio nas idades de um, sete e 18 dias, podendo ser eficiente para evitar a colonização de bactérias patogênicas nos primeiros dias de vida dos pintinhos. Apesar de não haver diferença estatística no desempenho das aves, os resultados demonstram, em todas as fases, que as aves suplementadas apresentam maior ganho de peso corporal com a mesma quantidade de ração ingerida, o que pode ser economicamente viável em uma produção em grande escala.

Palavras-chave: probióticos, frango de corte, enterobactérias, pH

INFLUENCE OF PROBIOTIC IN BROILER FEED ON THE CROP PH AND THE INTESTINAL MICROBIOTIC

ABSTRACT - In 2006, a ban on the use of antibiotics that promote growth in broilers resulted in the need to evaluate and provide substitutes. One of the most viable alternatives, that does not leave traces in meat destined for human consumption and that does not affect human wellbeing, is probiotics. The objective of this study is to evaluate the use of commercially produced probiotics in the production of broilers at different ages. Evaluations were made of change in the pH level of the crop, enterobacterial count, the Clostridium reducer count in the caecum, as well as indices of weight gain, feed consumption, disease, mortality and the uniformity of the flock. The research involved 120 birds (60 in the test group and 60 in the control group) Coob – Vantress, housed in cages with tagged identification. The birds in the test group received feed with pro-biotic supplement from the time they were caged at twenty eight days of age. The control group was given the same feed without the probiotic supplement. At 12, 18, 23 and 28 days of age broilers were randomly selected from each group (the test as well as the control group) for analysis. Birds were weighed and examined clinically with notation of mortality and uniformity of development. On the specified days the quantity of feed given to the birds was also weighed. They were then slaughtered and the pH of the crop measured. The intestines were removed and samples of the caecal contents were obtained from groups of four birds in order to quantify the Clostridium sulfite reducers and levels of Enterobacteria. Results from both the control and the test groups were compared using Student's t test. Significant differences were identified in the pH measurements of the crop ($p < .05$), at the ages of one, seven and 18 days. However at 12, 23 and 28 days there were no differences ($p > .05$). In spite of the discovery that at all ages the test birds had higher weight gains, there were no significant differences in weight ($p \geq .05$) between the two groups. There were also no significant differences in feed consumption, disease or mortality among the groups studied. The test group presented higher uniformity only at 7 days of age ($p < .05$). There was no statistical difference in the Clostridium sulfite reducer count. The enterobacterial count, however, was higher ($p < .05$) in the birds that did not receive supplement at seven, 18 and 28 days, suggesting greater efficiency of the probiotic supplement in the animals that had received the supplemented feed. The lower pH of the crop observed in broilers

receiving supplement is desirable and may have contributed to a lower rate of colonization of enterobacteria. Although no statistically significant differences ($p>.05$) were identified between the two groups examined, it is believed that if probiotic supplement were adopted on a large scale, the results from this study could mean an increase in revenue since there were, in every phase, greater weight gains among those receiving supplement, even though they received the same amount of feed as the birds of the control group.

Keywords: pro-biotic, broilers, enterobacteria, pH

I) INTRODUÇÃO

A cadeia produtiva de frangos de corte no Brasil modernizou-se e ainda busca formas de melhoria de desempenho, uma vez que países desenvolvidos como os da União Européia, Estados Unidos e Japão impõem barreiras ao comércio internacional. Este processo ocorre de maneira bastante eficiente devido à competência do setor, que é comprovada pela posição alcançada em 2004, em que o país atingiu o *status* de maior exportador mundial de carne de frango (PEREIRA et al., 2006).

Os promotores de crescimento são aditivos largamente utilizados na alimentação animal, em particular na dieta de aves, sendo responsáveis pela melhoria na produtividade animal, principalmente nas fases iniciais de criação. A maioria é constituída por produtos antibacterianos em doses subterapêuticas oferecido por quase toda a vida do animal, respeitando, apenas, o período de retirada antes do abate.

Os antibióticos promotores de crescimento têm por finalidade controlar a microbiota prejudicial ao trato digestivo, e proporcionar os efeitos benéficos na absorção de nutrientes (VASSALO et al., 1997). Entretanto, é crescente a restrição ao uso de antimicrobianos na forma terapêutica e como promotor de crescimento em animais destinados à produção de alimentos (SILVA, 2000).

De acordo com Rostagno et al. (2003), na década de 80, a segurança dos antibióticos passou a ser questionada, principalmente, em virtude do seu uso rotineiro na alimentação das aves. Bactérias resistentes a antibióticos em seres humanos vem sendo relacionadas com o uso de antimicrobianos promotores de crescimento em espécies domésticas, como os frangos. Esses promotores em baixas dosagens podem levar ao aparecimento de cepas resistentes aos antibióticos na microbiota intestinal, que também contém bactérias patogênicas. As estruturas de alguns promotores de crescimento são semelhantes às estruturas de antibióticos de última geração desenvolvidos para uso humano. Também é possível a transferência dessa resistência à população humana, chamada resistência cruzada.

Segundo McMullin (2004), o Parlamento Europeu aprovou a decisão do Conselho da Comissão Européia que orienta a interrupção do uso de antibióticos promotores de crescimento na União Européia (EU) a partir de 2006. Assim, também os exportadores para este mercado terão que se adequar a essa política. Nesse cenário, o

Brasil como grande exportador de carne de frango, deve estar preparado para manter sua participação no mercado internacional.

A crescente pressão de restrição ao uso de antibióticos levou à necessidade da procura de substitutos a estes promotores. Dentre as opções disponíveis no mercado, alguns pesquisadores sugerem a utilização de produtos que possuem o princípio de exclusão competitiva (EC), como probióticos (MACARI e FURLAN, 2005). A EC é um termo usado para descrever o efeito protetor da microbiota bacteriana natural do intestino em limitar a colonização de alguns patógenos (JAFFREY, 1999). Porém os efeitos desses probióticos, não estão totalmente estabelecidos.

Conhecer os efeitos dos probióticos e seu impacto sobre os índices zootécnicos e saúde animal é de extrema importância para avicultura nacional, para que o país esteja pronto para se adequar à nova normativa internacional de forma competitiva.

II) OBJETIVOS

A) GERAL

Avaliar os efeitos de um probiótico suplementar à alimentação de frangos de corte desde o nascimento até 28 dias de idade.

B) ESPECÍFICOS

Comparar os efeitos da suplementação de um probiótico na alimentação de frangos de corte quanto ao:

- número de *Clostridium* sulfito redutor e enterobactérias no ceco;
- índice de ganho de peso, consumo de ração e uniformidade do lote;
- o pH do ingluvívio;
- índice de morbidade e de mortalidade.

III) REVISÃO DA LITERATURA

Segundo Vassalo et al. (1997), os antibióticos são adicionados às dietas com o intuito de controlar os agentes prejudiciais ao processo digestivo e propiciar os efeitos benéficos na absorção de nutrientes. No entanto, para Fuller (1989) o uso indiscriminado dos antibióticos pode resultar no desenvolvimento de populações bacterianas com possível resistência, dificultando assim o seu uso. Além disso, segundo Mulder (1991) podem quebrar a simbiose entre a microbiota desejável e o animal. Kelley et al. (1998) ressaltaram que essas drogas podem se acumular nos tecidos animais e estes, ao serem ingeridos, podem causar uma resistência da microbiota humana ao antibiótico utilizado, e ainda, causar resistência cruzada às terapias antibióticas em humanos e outros animais.

Em condições normais, as aves jovens são colonizadas por microrganismos provenientes da mãe, e em galinhas e peruas, a transferência da microbiota é muito eficiente quando os recém nascidos são criados próximos aos adultos. Porém, o sistema atual de produção intensiva na indústria avícola, impossibilita o contato entre adultos e recém nascidos, possuindo como consequência o retardo no desenvolvimento da microbiota intestinal protetora (FULLER, 1989; DAY, 1992).

A utilização de “microrganismos benéficos” na alimentação surgiu há muito tempo, com a prescrição de leites fermentados no tratamento de infecções do sistema gastrintestinal, sendo a primeira descrição publicada por METCHNIKOFF (1907). Na década de 70, estudo concluiu que a administração oral de alguns microrganismos alterava a sensibilidade do organismo do animal frente à *Salmonella* spp, e era capaz de prevenir o estabelecimento desta no organismo, sendo o tratamento denominado exclusão competitiva (NURMI & RANTALA, 1973).

Em 1960, Richard Parker usou pela primeira vez o termo “probiótico”, que significa “a favor da vida”. Segundo Jin et al. (1997) a partir daí, enfatizou-se os estudos sobre a população de microrganismos não patogênicos presente no trato digestório, tanto dos animais domésticos como os seres humanos.

Os benefícios quanto ao uso de microrganismos suplementando a alimentação animal é um assunto contraditório. Em 1998, o FDA (Food and Drug Administration) afirmou que apesar do aumento na produção e comercialização de aditivos microbianos, sua eficiência não havia sido comprovada em certos produtos. Zuanon et al. (1998) encontraram resultados observados em experimentos que objetivaram determinar os

microrganismos mais incriminados no inadequado desenvolvimento das aves, e a efetividade de determinados agentes antimicrobianos químicos no estímulo do desenvolvimento animal.

A administração de *Bifidobacterium bifidum* não provoca efeitos significativos no crescimento animal (ESTRADA et al., 2001). Bertechini e Hossain (1993), Suida (1994) e Zuanon (1995) trabalharam com probióticos para aves na fase inicial da criação e, quando compararam com um grupo testemunha, não observaram aumento no consumo de ração com a adição do probiótico na alimentação.

Um estudo utilizando um produto probiótico comercial teve por resultado um aumento no ganho de peso de frangos até as quatro primeiras semanas, mas não melhora a conversão alimentar (PANDA et al., 2000). Porém, Balevi et al. (2001) constataram que ao se utilizar um outro produto comercial contendo quatro gêneros de bactérias e dois de fungos, não altera o consumo de ração nem a conversão alimentar.

Campos *et al.* (2002), trabalhando com vários níveis de inclusão de probióticos na ração (0, 50, 100, 150 e 1000 g/ton), observaram uma diminuição do índice de mortalidade e o atribuíram a uma possível melhoria no sistema imune das aves que ingeriram probiótico.

No Brasil, dentre os fatores que determinam o consumo da carne de frango, pode-se citar a uniformidade do produto (SILVA e FABRINI FILHO, 1994). De acordo com Silva et al. (1994), a uniformidade dos lotes é um fator que pode influenciar no rendimento e na qualidade de carcaça.

Os benefícios da suplementação de dietas com probióticos se baseia no princípio da simbiose. Os microrganismos benéficos são capazes de inibir ou diminuir a multiplicação de patógenos melhorando a estabilidade da microbiota normal e o aproveitamento dos nutrientes ingeridos (KELLEY et al, 1998). Aves segregadas em grupos suplementados e não suplementado com uma mistura de *Lactobacillus*, e desafiadas com *Eimeria acervulina*, mostraram diferentes estímulos da resposta imune; o grupo que recebeu suplementação mostrou uma melhor resposta após o desafio (LUNDEN, 2001).

A base teórica que apóia o uso de microrganismos na alimentação animal é que a microbiota intestinal natural de frangos não é ideal para alcançar um rendimento ótimo. Se essa fosse constituída apenas por bactérias benéficas, o animal seria mais saudável e haveria melhor digestão dos alimentos. Assim, a introdução intencional de microbiota

benéfica, poderia por exclusão competitiva, melhorar a resistência à colonização por bactérias danosas (DALE, 1992).

Os probióticos são classificados pelo FDA como substâncias GRAS (Generally Regarding as Safe), ou seja, seguras. A essência de seu uso concerne em um equilíbrio da microbiota intestinal por meio da introdução de microrganismos benéficos (FDA, 1998).

Kaur et al (2002) definiu probióticos como suplementos alimentares, compostos por microrganismos vivos que beneficiam a saúde do hospedeiro, através da instauração de uma microbiota desejável, em equilíbrio com a microbiota intestinal. Schrezenmeir e De Vrese (2001), completam o conceito, considerando que o termo probiótico deveria ser usado para designar preparações ou produtos que contém microrganismos viáveis, em quantidade adequada, que possam alterar a microbiota das mucosas, através de uma colonização de um sistema do hospedeiro, produzindo benefícios em sua saúde.

Fuller (1989) definiu probióticos como “um suplemento alimentar constituído de microrganismos vivos capazes de beneficiar o hospedeiro através do equilíbrio da microbiota intestinal”. Posteriormente, o mesmo autor considerou que para serem considerados como probióticos, “os microrganismos deveriam ser produzidos em larga escala, permanecerem estável e viável em condições de estocagem, ser capaz de sobreviver no ecossistema intestinal e possibilitar ao organismo os benefícios de sua presença”. Os probióticos podem conter diferentes composições de microrganismos e, mesmo quando da mesma espécie, as cepas podem ser diferentes. Segundo Tornut (1998) a eficácia do probiótico é estritamente dependente da quantidade e características das cepas do microrganismo utilizado na elaboração do aditivo alimentar.

As vantagens do uso de probióticos na avicultura podem ser traduzidas na forma de diferentes benefícios: melhora dos índices zoeconômicos, maior produtividade, aumento no ganho de peso, melhor conversão alimentar e redução da colonização intestinal por patógenos (SILVA, 2000).

O mecanismo de ação dos probióticos está relacionado à competição por sítios de ligação ou exclusão competitiva, ou seja, as bactérias probióticas ocupam o sítio de ligação na mucosa intestinal formando uma barreira física às bactérias patogênicas. Assim, as bactérias indesejáveis seriam excluídas por competição. Alguns microrganismos somente se aderem à superfície superior dos enterócitos, enquanto que outras residem nas criptas, onde são produzidas as novas células epiteliais que migram até o topo das vilosidades (TORNUT, 1998). Além disso, há competição por nutrientes.

Como as bactérias dos probióticos se nutrem de ingredientes parcialmente degradados pelas enzimas digestivas normais das aves, a competição por nutrientes não ocorre entre a ave e a bactéria, mas sim entre as bactérias intestinais, por seus nutrientes específicos (TORNUT, 1998).

Enterobactérias são bactérias presentes no trato gastrointestinal das aves e de outros animais e amplamente utilizadas como indicadoras da qualidade de alimentos (KORNACKI e JOHNSON, 2001). Segundo Bourlioux et al.(2003) as enterobactérias tanto podem causar dano à célula intestinal como ter comportamento de comensal, e em condições propícias tornam-se patogênicas. A família das enterobactérias, Enterobacteriaceae, inclui bacilos gram-negativos, anaeróbios facultativos, com capacidade de fermentar a glicose a ácido (TORTORA et al., 2002). Esta família abriga patógenos capazes de causar enterites, entre eles, os gêneros *Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella* e *Yersinia* e outras.

Alguns estudos têm demonstrado as vantagens do uso de probióticos sobre a integridade do trato gastrintestinal. Experimento conduzido por Dobrogosz et al. (1991), com adição de *Lactobacillus reuteri* na ração de aves, mostrou um maior comprimento e profundidade das criptas intestinais, indicando que o uso de probióticos tem papel protetor na integridade da mucosa. Loddi et al. (2000) observou que as vilosidades intestinais se mantiveram íntegras em grupos de frangos que receberam antibióticos ou probióticos na dieta. Neste mesmo estudo, o grupo que não recebeu suplementação por um destes aditivos, apresentou vilosidades e integridade intestinais alteradas, principalmente no duodeno.

Além de competir pelos sítios de ligação nas mucosas, e assim, reduzirem a adesão de bactérias patogênicas ao epitélio intestinal, microrganismos benéficos introduzidos pelo consumo de probióticos, podem também atuar diretamente na inibição de patógenos. Algumas bactérias probióticas podem produzir substâncias antimicrobianas como peróxido de hidrogênio, dióxido de carbono, diacetil, ácido piroglutâmico, reuterina e bacteriocinas, que atuam diretamente na inibição do crescimento de alguns microrganismos ou grupos (EDENS et al., 1997).

Bactérias probióticas podem estimular a resposta imune sistêmica, aumentando o número e a atividade de células fagocíticas do hospedeiro. As aves possuem acúmulos de tecidos linfáticos localizados ao longo do trato intestinal, denominadas placas de Peyer, tonsilas cecais e bolsa de Fabrício. Esses tecidos captam antígenos disponibilizados no trato digestório, que estimulam as células B precursoras de IgA e as

células T colaboradoras das placas de Peyer, desenvolvendo uma imunidade geral e inespecífica. Pelo estímulo imunológico da mucosa, ocorre produção de anticorpos tipo IgA, que bloqueiam os receptores e reduzem o número de bactérias patogênicas na luz intestinal. Além disso, favorecem a ativação de macrófagos e proliferação de células T (SILVA, 2000).

De acordo com Dobrogosz et al. (1991) bactérias probióticas também protegem os vilos e as superfícies absortivas contra toxinas irritantes produzidas pelos microrganismos patogênicos, permitindo assim, a regeneração da mucosa intestinal lesada.

A administração precoce de probióticos para neonatos diminui os índices de mortalidade, e nas aves jovens, melhora o desempenho (EDENS et al., 1997). Em casos de diminuição das defesas orgânicas, o uso do probiótico pode ser vantajoso pela normalização da flora intestinal e pelo aumento da resistência das aves ao estresse.

As culturas probióticas apresentam características imunomodulatórias, imunoestimulantes, antimutagênicas, auxiliam a digestão de lactose, metabolizam colesterol, reduzem o risco de problemas cardiovasculares e mantém a integridade das mucosas. Como consequência, diminui também, a incidência e/ou duração de diarreias (SANDERS, 1998; TANNOCK, 1999).

Jin et al. (1998) suplementaram a dieta de frangos com 0,05%, 0,10% e 0,15% de uma cultura (10^9 células.g⁻¹), composta por 12 estirpes de quatro espécies de *Lactobacillus* (*L. acidophilus*, *L. fermentum*, *L. crispatus* e *L. brevis*). Os espécimes foram isolados de intestinos de aves, e possuíam capacidade de adesão ao epitélio. Melhora significativa no desempenho foi observada com 0,15% de suplementação e foi atribuída à capacidade de colonização das bactérias, que tinham forte aderência ao epitélio, sendo resistentes à bile e à acidez do trato gastrointestinal (TGI).

Um maior número relatos científicos que avaliam os possíveis substitutos aos antibióticos, considera que os aditivos alternativos serão aceitos pela indústria, independente da controvérsia observada nos resultados experimentais. Estudos realizados na União Européia sobre o custo de suplementos às rações demonstram que estes representam: 0,6% a 1,2% quando os aditivos são antibióticos, 2,6% para os probióticos e 1,3% para aditivos fitogênicos (MENTEN, 2002).

Andreatti Filho et al. (2000) comentam que apesar de os produtos probióticos não apresentarem todas as ações benéficas dos antibióticos, possuem outras vantagens. Por ser um aditivo essencialmente natural, possuem as características de não produzir

resíduos nos produtos de origem animal e não promover resistência bacteriana às drogas utilizadas em seres humanos.

Michael e Wei (1997) afirmam que a suplementação de pintos de um dia com culturas de bactérias isoladas do conteúdo intestinal de aves adultas saudáveis, induz a formação precoce da microbiota intestinal protetora. Esta microbiota inibe a multiplicação de bactérias patogênicas pela redução do pH intestinal por produzirem ácidos graxos voláteis de cadeia curta, como os ácidos acético, propiônico e butírico. Estes microrganismos também podem produzir peróxido de hidrogênio, que inibe o crescimento de bactérias anaeróbias e/ou bacteriocinas.

Além da importância do pH intestinal, o pH do ingluvío é extremamente importante como primeira barreira às bactérias patogênicas como a *Salmonella*, para impedir ou diminuir a colonização inicial por este patógeno. Estudos demonstram que altos números de *Lactobacillus*, com o conseqüente abaixamento do pH no ingluvío, podem reduzir a ocorrência de *Salmonella* (HINTON *et al.*, 2000). Segundo Duke (1994), o pH normal do ingluvío possui média entre 4 e 5, sem especificar a idade.

O gênero bacteriano *Lactobacillus*, com destaque para as espécies *L. reuteri*, *L. salivarius*, *L. animalle* *L. acidophilus*, quando presentes em quantidades adequadas na microbiota intestinal, contribuem para a saúde das aves (GUSILI *et al.*, 1998; ZACCONI *et al.*, 1999; PASCUAL *et al.*, 1999; RAMESH *et al.*, 2000). A administração de *Lactobacillus acidophilus* a pintos de um dia melhora os índices zootécnicos e econômicos, como a conversão alimentar e ganho de peso, bem como beneficia a digestibilidade dos lipídios e a retenção de nitrogênio (TORTUERO, 1973).

Ramesh *et al.* (2000) citam que além de melhorar os índices zoeconômicos, a administração de *Lactobacillus* se mostrou eficaz na proteção contra *Salmonella* spp. Aves tratadas com *L. acidophilus* durante duas semanas foram resistentes a desafios por *Salmonella Gallinarum*, patógeno específico de galinhas. Zacconi *et al.* (1999) e Pascual *et al.* (1999) observaram que *L. salivarius* também proporcionou proteção contra desafio por *Salmonella Kedougou*, além de melhorar os índices zoeconômicos. Quando esta mesma espécie de *Lactobacillus* foi administrada diretamente no ingluvío, juntamente com cultura de *Salmonella Enteritidis*, foi observado que o patógeno deixou de ser detectado nas aves 21 dias após o tratamento. Gusill *et al.* (1998) citam que *L. animalis* produziu substâncias antimicrobianas com capacidade de inibir, *in vitro*, o crescimento de *Salmonella Gallinarum*.

O gênero *Lactobacillus* faz parte da família *Lactobacillaceae* (ORLA-JENSEN, 1921). Em meios de cultura apresentam colônias pequenas, apigmentadas, arredondadas, com bordas bem delimitadas e aspecto cremoso. Produzem lactato e acetato, que reduzem o pH do meio e exercem efeito antibacteriano; adicionalmente podem produzir metabólitos que inibem bactérias patogênicas Gram-negativas e Gram-positivas. Produzem também vitaminas do complexo B, ativam o sistema imune e restauram a microbiota intestinal após antibioticoterapia (GIBSON e TROBERFROID, 1995).

De acordo com Edens et al. (1997) a ação inibitória dos *Lactobacillus* aos patógenos ocorre na mucosa do trato gastrointestinal, e para que os *Lactobacillus* exerçam sua atividade probiótica é necessária a adesão destes aos enterócitos. A ligação bactéria-enterócito evita sua eliminação através do peristaltismo e permite a sobrevivência no ecossistema gastrointestinal. A adesão dos *Lactobacillus* à mucosa intestinal está relacionada à habilidade de hemaglutinar eritrócitos, e da ligação à manose e a glicolípídeos presentes na mucosa intestinal, além do provável envolvimento de proteínas ou componentes protéicos como mediadores para a adesão

Os *Lactobacillus* apresentam certa especificidade de colonização quanto ao segmento intestinal. Espécies de *Lactobacillus* isoladas de duodenos e cecos tiveram pouco sucesso na adesão a células do íleo. Variações de temperatura entre quatro e 42°C não alteraram a capacidade de adesão às células do íleo, o que não ocorreu com variações de pH, pois valores de pH superiores a oito reduziram a capacidade de adesão dos *Lactobacillus* aos enterócitos (JIN et al., 1996).

Uni et al. (1996) comentam que o intestino delgado atua como uma interface entre o ambiente interno e o externo nos frangos de corte, que têm sua mucosa intestinal em uma condição dinâmica. O processo normal de renovação celular é decorrente de dois eventos citológicos primários associados: 1) renovação celular (proliferação e diferenciação), resultantes das divisões mitóticas sofridas por células totipotentes localizadas na cripta e ao longo dos vilos; 2) perda de células por descamação, que ocorre naturalmente no ápice dos vilos. A manutenção do número de células e da capacidade funcional do epitélio intestinal é assegurada pelo equilíbrio entre estes dois processos, a perda e a proliferação celular.

Macari (1995) explica que quando ocorre aumento na taxa de mitose com ausência, diminuição ou manutenção da taxa de extrusão, há um aumento no número de células. Consequentemente é observada maior altura das vilosidades, com ou sem

pregueamento da parede das mesmas, e aumento na densidade de vilos e microvilos. Se o estímulo levar a uma maior taxa de extrusão, com manutenção ou redução na taxa de proliferação, o intestino deverá responder com uma redução na altura dos vilos e haverá redução nas taxas de digestão e absorção. Se há redução no tamanho do vilos decorrente da perda celular, como consequência, ocorrerá um aumento na produção de células da cripta e, geralmente, também aumento da profundidade. Para Macari et al. (2002) em frangos de corte, o tempo necessário para a renovação celular é de 72 a 96 horas. Em comparação ao ciclo de vida atual dos frangos de corte, este tempo se torna relativamente longo, aproximadamente 10%..

Segundo Sell (1996) o maior desenvolvimento do intestino delgado das aves acontece entre cinco a sete dias pós-eclosão. Mas Uni et al. (1996) cita que em frangos de corte, pode-se observar no duodeno, um aumento acentuado na altura dos vilos, ainda *no ovo* do 17º dia de incubação até o 7º dia pós-eclosão.

A formação da microbiota intestinal das aves se dá imediatamente após o nascimento, e aumenta durante as primeiras semanas de vida, até se tornar uma população predominantemente de bactérias anaeróbicas ou facultativas. Os principais gêneros relatados em estudos são: *Bacillus*, *Bifidobacterium*, *Clostridium*, *Enterobacter*, *Lactobacillus*, *Fusobacterium*, *Escherichia*, *Enterococcus* e *Streptococcus*. Entretanto, o uso de técnicas moleculares tem demonstrado que 90% das bactérias do trato gastrintestinal das aves ainda são desconhecidas. Com relação à densidade, estudos demonstram que o número de bactérias pode alcançar 10^9 UFC.g⁻¹ a 10^{11} UFC.g⁻¹ de conteúdo ileal e cecal, respectivamente, durante os primeiros 3 dias pós eclosão, permanecendo relativamente estável nos próximos 30 dias (APAJALAHTI et al., 2004).

O epitélio intestinal age como uma barreira natural contra bactérias patogênicas e substâncias tóxicas. Distúrbios na microbiota normal ou nas células epiteliais e intestinais, causados por algum tipo de estresse ou patógenos, podem alterar a permeabilidade desta barreira natural, facilitando a invasão dos patógenos ou sua agressão por toxinas produzidas por eles. Diferentes aditivos alimentares que objetivam aumentar a microbiota benéfica ou introduzir determinados grupos bacterianos podem melhorar o desempenho animal e a eficiência energética no intestino (SPRING 1999 e SAVAGE et al., 1997).

Segundo Yamamoto e Kiyono (1999), o sistema imune da mucosa intestinal é uma eficiente barreira entre microrganismos patogênicos ou comensais e o hospedeiro.

A resposta imune é por si mesma, muito complexa, principalmente no trato digestivo, devido à grande quantidade de elementos e fatores envolvidos. De acordo com McDonald (1999), a imunidade celular da mucosa intestinal é constituída por células T, células B (responsáveis pela produção de anticorpos), células “*natural killer*” (NK), e células fagocíticas, como granulócitos e macrófagos. As células T ou linfócitos timo-dependentes ou ainda linfócitos CD3+, são constituídas de dois subtipos de células: CD8+ ou células T citotóxicas, e CD4+ ou células T auxiliaadoras (T helper - Th), divididas em Th1 (responsável pela imunidade mediada por células) e Th2 (responsável pela imunidade mediada por anticorpos).

A presença de um antígeno no lúmen intestinal estimula resposta coletiva do tecido linfóide nos três maiores compartimentos do sistema imune da mucosa. São eles: 1) placas de Peyer (PP) que estão distribuídas ao longo do intestino delgado; 2) lâmina própria (LP); 3) linfócitos intraepiteliais (LIE) presentes no epitélio na face luminal do tecido mucoso (BRANDTZAEG, 1995). Porém, para estimular esta resposta, o antígeno deve ser transportado através de células especializadas, as células M, que são associadas ao epitélio do folículo das PP, até as células apresentadoras de antígenos (CAA), que irão apresentá-lo às células T e B, fazendo com que estas tornem-se ativadas, deixem as PP, e migrem, via vasos linfáticos e circulação periférica, para a mucosa proximal e distal onde irão emergir na LP (EARLE, et al., 1994). Aí as células B irão secretar IgA que será transportada através do epitélio até o lúmen do intestino, protegendo a superfície mucosa de toxinas e de outros agentes antigênicos (KRAEHENBUHL e NEUTRA, 1992). Os linfócitos CD4+ e CD8+ serão ativados quando entrarem em contato com um antígeno apropriado. Os linfócitos CD4+ irão auxiliar na diferenciação das células B presentes no plasma, e os linfócitos CD8+ irão se deslocar ao longo do epitélio e se juntar à população de LIE presentes na membrana basal, constituída, basicamente, de células T e linfócitos timo-independentes (MOWATT e VINEY, 1997).

O tratamento com *Lactobacillus* spp tem demonstrado possuir efeitos imunoestimulantes sobre a mucosa intestinal (JIN et al., 1997; CHAI et al., 2001; SIMON et al., 2001). Em ratos que tiveram enterocolite induzida, a administração de *Lactobacillus plantarum* aumentou os níveis intestinais de IgA e linfócitos CD4+ e CD8+ na lâmina própria intestinal, além de reduzir a resposta inflamatória na mucosa (MAO et al., 1996). Em aves, a presença de *Lactobacillus* spp no intestino estimula a síntese de IgA pelo sistema imune através da liberação de peptídeos de cadeias curtas, aumentando, assim, a resistência às doenças (PULVERER et al., 1990). Além disso, os

Lactobacillus são capazes de modificar as propriedades imunoregulatórias (POUWELS, et al., 1996), alterando o perfil de indução de citocinas, com conseqüente influência sobre o resultado da resposta imune (MAASSEN et al., 1998).

Dentro das características simbióticas e imunoregulatórias, os *Lactobacillus* desempenham um papel de vetores de antígenos, principalmente pela via oral, funcionando como suplemento imunogênico. Dessa forma, são capazes de estimular uma resposta imune intestinal, que não representa ameaça ao hospedeiro, quando comparado com outros vetores como, por exemplo, as *Salmonellas* (GERRITSE et al., 1990; POUWELS, et al., 1996). Assim, a presença de *Lactobacillus* é fundamental para regular a composição da microbiota intestinal, desenvolver a imunidade do intestino e, também, promover a saúde das aves (MUIR et al., 2000).

IV) MATERIAL E MÉTODOS

A) LOCAL E AMOSTRAGEM

Foram utilizados pintos de corte de um dia de idade, machos, da linhagem Cobb-Vantress, e de mesma origem materna. Os animais eram de produção comercial, de uma empresa avícola localizada na região do Triângulo Mineiro e certificada pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. As aves tinham o mesmo peso inicial na eclosão e permaneceram de um aos 28 dias de idade alojadas na Granja experimental da Fazenda Glória da Universidade Federal de Uberlândia, localizada na região do Triângulo Mineiro, no período de junho a julho de 2007.

No experimento foram utilizadas 120 aves de corte, sendo 60 aves no grupo teste e 60 aves no grupo controle. Os pintos foram alojados duas horas após a eclosão em gaiolas separadas e identificadas, na quantidade de 10 por gaiola, em ambiente adequado para ventilação, temperatura e umidade.

B) ESTUDO

B.1) Suplementação das aves com probiótico

Foi utilizado um probiótico comercial de apresentação em pó, composto por *Lactobacillus plantarium*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus rhaminosus*, *Enterococcus faecium*, *Bifidobacterium bifidum* e *Streptococcus thermofilu*. A suplementação das aves teste foi realizada via ração, na concentração indicada pelo fabricante, um grama do produto para 6,8 kg de ração farelada.

A ração continha a formulação básica de sorgo e farelo de trigo. O probiótico foi pesado no laboratório de Biotecnologia Animal Aplicada em balança analítica de seis dígitos, e a ração em balança de alta precisão, ambas calibradas. A mistura do probiótico à ração foi realizada manualmente, e de forma a obter uma mistura homogênea. Os animais controle receberam a mesma ração das aves teste, porém sem a presença de probióticos.

As rações oferecidas aos animais foram pesadas para verificar o consumo. Todas as aves teste e controle receberam ração à vontade do primeiro até os 28 dias de idade.

B.2) Coleta das amostras

Peso das aves

Nos dias 1, 7, 12, 18, 23 e 28 de idade foram retiradas aleatoriamente de cada grupo (teste e controle) aves para estudo. Nas idades de um e sete dias foram retiradas 12 aves e aos 12, 18, 23 e 28 dias, coletadas nove aves.

As aves amostrais (teste e controle) foram transportadas ao Laboratório de Biotecnologia Animal Aplicada (LABIO), e pesadas individualmente em balança GEHAKA®. Após a pesagem das aves foi sinais clínicos aparentes de enfermidades para avaliar a morbidade. Aves prostradas, encorujadas, com sintomatologia clínica de diarreia ou algum dano no sistema respiratório foram consideradas doentes.

Os animais foram eutanasiadas após insensibilização pelo éter por deslocamento da coluna cervical.

Para cálculo da mortalidade utilizou-se a fórmula: Número de óbitos /População existente

Para cálculo da mortalidade utilizou-se a fórmula: Número de óbitos /População existente. A morbidade foi observada através da análise de sintomatologia clínica das aves.

Uniformidade das aves

A uniformidade de peso corporal foi obtida considerando-se um coeficiente de variação de 10% utilizando a seguinte fórmula de acordo com Filho e Ribeiro (2005)

$$LS = PM \times 1,1$$

$$LI = PM \times 0,9$$

O índice de uniformidade é calculado pelo número de aves entre a faixa de peso dos limites inferiores (LI) e superiores (LS) e o número total de aves.

Coleta de fezes

Uma incisão foi feita no abdome das aves, e com auxílio de luvas e pinças estéreis foi retirado o intestino delgado. O intestino foi separado nas porções de duodeno, jejuno, íleo e ceco. De cada porção do intestino foram retiradas separadamente amostras individuais de 10 g^{-1} de fezes.

Para análise microbiológica, as amostras de fezes foram diluídas em 90mL de água peptonada tamponada (diluição 10^{-1}) e a partir destas, realizadas diluições decimais seriadas até 10^{-8} .

B.3) Análises

B.3.1) Determinação do pH do inglúvio

Para mensuração do pH do inglúvio, foi realizada inicialmente uma incisão no papo das aves. Em seguida foi introduzido o eletrodo (pH-metro TEC- 3MP®), previamente aferido, diretamente no conteúdo interno do inglúvio. A leitura foi realizada após 1 minuto da introdução e anotada.

B.3.2) Análises microbiológicas

Foram realizadas contagens de *Clostridium* sulfíto redutores e enterobactérias no ceco.

B.3.2.1) Enterobactérias

A enumeração de enterobactérias foi realizada no conteúdo cecal das aves aos 7, 12, 18, 23 e 28 dias de idade. Foi utilizada a técnica de inoculação em profundidade de uma alíquota de 1 mL das diluições selecionadas, em agar MacConkey. As placas foram incubadas durante 48 horas a 37°C (SILVA et. al, 2001). Os resultados em UFC.g^{-1} de enterobactérias foi obtido pela multiplicação das colônias contadas, pela recíproca da diluição utilizada.

B.3.2.2) *Clostridium* sulfito redutor

Para contagem de *Clostridium* sulfito redutores no ceco das aves com 18, 23 e 28 dias de idade foi utilizado o protocolo recomendado por SILVA et. al (2001). As diluições selecionadas foram inoculadas em profundidade agar Sulfito Polimixina Sulfadiazina (SPS) e incubadas em atmosfera de anaerobiose 48 horas em temperatura de 46°C. Os resultados em UFC.g⁻¹ foi obtido pela multiplicação das colônias contadas pela recíproca da diluição utilizada.

B.4) Análise dos dados

O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, com dois tratamentos distribuídos em grupo teste (teste) e grupo controle (controle).

Para todas as variáveis estudadas foi realizado o teste t de Student para diferenças de médias ($p < 0,05$), considerando amostras independentes para peso da ave, peso da ração e pH em cada dia de idade analisada. As análises das variáveis foram realizadas com o uso do programa BioEstat 5.0.

V) RESULTADOS E DISCUSSÃO

A- pH no inglúvio

A comparação do pH do conteúdo do inglúvio das aves do grupo teste e controle demonstrou que há diferença estatística ($P < 0,05$) nas médias obtidas nas idades de 1, 7 e 18 dias. Porém, nas aves com 12, 23 e 28 dias, não foi observada diferença significativa ($P \geq 0,05$) (Tabela 1).

Tabela 1 – pH médio mensurado no conteúdo do inglúvio de aves em diferentes idades. suplementadas (grupo teste) e não suplementadas (grupo controle) com probiótico na ração².

Idade (dias)/ no. de animais	pH do inglúvio		<i>P</i>
	grupo controle	grupo teste	
1 (n=12)	6,80 ^a	4,98 ^b	0,0162
7 (n=12)	4,39 ^a	2,98 ^b	0,033
12 (n=9)	3,37 ^a	3,06 ^a	0,1984
18 (n=9)	5,71 ^a	3,88 ^b	0,0005
23 (n=9)	4,58 ^a	4,11 ^a	0,0956
28 (n=9)	4,86 ^a	4,55 ^a	0,4239

² dieta suplementada com probiótico (6,8g/kg de ração)

Médias na linha seguidas de letras distintas indicam valores estatisticamente diferentes pelo teste T Student ($P \leq 0,05$).

Nas aves domésticas, o pH do papo tem uma importante função no controle de bactérias. Particularmente, na primeira semana de vida, o baixo pH observado neste estudo, pode contribuir para a saúde geral destes animais, que ainda não possuem o sistema de defesa completamente formado. O pH normal do inglúvio possui média entre 4 e 5, sem especificar a idade (DUKE, 1994). Na idade de um dia após a administração do probiótico, o pH do inglúvio das aves suplementadas foi de 4,98, contrastando com o

valor de 6,8 nas aves não tratadas, o que provavelmente, se deve a um retardo na colonização de bactérias produtoras de ácidos nesse local.

O baixo pH determinado no ingluvío das aves tratadas é capaz de inibir ou minimizar a multiplicação de microrganismos como *Escherichia coli* (pH ótimo de 6,0 a 7,5) (ANONIMO, 2000), *Campylobacter* sp (pH ótimo de 6,5 a 7,5) (HAZELEGER et al., 1994) e *Salmonella* (pH ótimo de 6,5 a 7,5) (PINTO, 2000), dificultando o avanço dos mesmos ao longo do trato digestivo.

O pH médio mais baixo nas idades 1, 7 e 18 dias pode ser indicio de uma maior colonização de bactérias lácticas nestes períodos, e da conseqüente produção de ácido láctico (MATHEW, 1996). Silva et al. (2000) afirmaram que frangos de corte que recebem dietas contendo probióticos apresentaram um pH no conteúdo do trato digestivo um pouco menor que as não suplementadas. Isto porque o probiótico é composto por bactérias produtoras de ácido láctico, que são colonizadoras naturais do ingluvío.

Em aves, bactérias patogênicas como *Salmonella*, atingem o trato digestivo após vencerem a barreira do ingluvío. A existência de um ambiente com pH baixo no ingluvío é importante para impedir ou diminuir a colonização inicial por este patógeno. Estudos demonstram que altos números de *Lactobacillus*, com o conseqüente abaixamento do pH no ingluvío, podem reduzir a ocorrência de *Salmonella* (HINTON et al., 2000).

Apesar de nas aves tratadas o pH do conteúdo do ingluvío também ser mais baixo nas idades de 12, 23 e 28 dias, a comparação com o grupo controle demonstrou que a diferença não foi significativa ($p > 0,05$). Silva et al. (2000) não encontraram diferenças significativas na média do pH do ingluvío em aves suplementadas e não suplementadas com probiótico aos 42 dias de idade. Medidas de pH determinadas no conteúdo do ingluvío nas idades estudadas e consideradas como normais ou desejáveis não foram encontradas para comparação.

Não se pode explicar com esse estudo, o motivo da não diferença entre o pH do conteúdo do ingluvío em determinadas idades nas aves suplementadas e não suplementadas com probióticos. Mas, provavelmente, este fato é devido à aquisição de estabilidade da microbiota endógena, composta também por bactérias produtoras de ácido láctico com o decorrer da idade.

B. Peso corporal e consumo de ração

A comparação dos pesos das aves demonstrou que não houve diferença significativa ($P>0,05$) entre os valores obtidos nos animais do grupo teste e grupo controle em todas as idades. Os resultados dos pesos médios nas diferentes idades podem ser observados na Tabela 2.

Tabela 2 – Peso médio (g^{-1}) de aves em diferentes idades suplementadas (grupo teste) e não suplementadas (grupo controle) com probiótico na ração².

Idade (dias)/ no. de animais	Peso médio (g^{-1})		<i>p</i>
	grupo controle	grupo teste	
1 (n=12)	45,42	45,79	0,3979
7 (n=12)	127,49	138,69	0,0891
12 (n=9)	280,00	281,80	0,4524
18 (n=9)	490,24	501,64	0,2833
23 (n=9)	828,33	859,34	0,1693
28 (n=9)	1265,60	1330,73	0,1097

² dieta suplementada com probiótico (6,8g/kg de ração)

Médias na linha seguidas de letras distintas indicam valores estatisticamente diferentes pelo teste T Student ($P\leq 0,05$).

Não houve diferença significativa ($p>0,05$) entre os tratamentos grupo teste e grupo controle, no que se refere ao peso dos animais. Este resultado está de acordo com a maioria dos relatos da literatura. Henrique *et al.* (1998) avaliaram o uso de probióticos na dieta de frangos de corte na fase de crescimento, e observaram que o tratamento não promoveu melhorias significativas no desempenho e no rendimento de carcaça. Resultado semelhante foi obtido em um estudo que avaliou vários níveis de inclusão de probióticos na ração (0 g/ton , 50 g/ton, 100 g/ton, 150 g/ton e 1000 g/ton). Os diferentes níveis de suplementação não resultaram em efeitos significativos para o consumo de ração, ganho de peso e conversão (CAMPOS *et al.*, 2002).

Alvarez (1994) e Vargas et al. (2001) adicionaram um composto de leveduras e lactobacilos na ração de frangos de corte, e também não obtiveram melhora significativa no ganho de peso das aves. Os autores atribuíram este resultado, ao fato de que provavelmente, os animais estudados não tinham o trato intestinal colonizado por microrganismos indesejáveis em números suficientes para deprimir o consumo de ração.

O uso de um produto comercial provocou aumento no ganho de peso de frangos até as quatro primeiras semanas, mas não melhorou a conversão alimentar (PANDA et al., 2000). Porém, Balevi et al. (2001) ao trabalharem com outro produto disponível no mercado contendo quatro gêneros de bactérias e dois de fungos, constataram que não houve alteração no consumo de ração nem a conversão alimentar.

A administração de *Bifidobacterium bifidum* não provocou efeitos significativos no crescimento animal (ESTRADA et al., 2001). Bertechini e Hossain (1993), Suida (1994) e Zuanon (1995) trabalharam com probióticos para aves na fase inicial da criação e, quando compararam com um grupo testemunha, não observaram aumento no consumo de ração com a adição do probiótico na alimentação.

Silva (1999) estudou o efeito da administração de rações com probióticos para frangos de corte na fase inicial, e também não verificou vantagens desta suplementação sobre o ganho de peso das aves. Entretanto, Jin et al. (1998) mostraram que a inclusão de 0,1% de cultura de *Lactobacillus* nas rações proporcionou melhora no peso e na conversão alimentar de frangos. Loddi et al. (2000b), observaram que aves suplementadas com probiótico apresentam melhores valores de consumo de ração, peso final e conversão alimentar.

Apesar de resultados contraditórios sobre ganho de peso e conversão alimentar, a suplementação com probióticos pode gerar ganhos aos animais. Esta afirmativa é devida a diversos mecanismos de ação, que podem agir sinergisticamente: a) neutralização de toxinas; b) supressão do número de bactérias indesejáveis e viáveis; c) alteração do metabolismo microbiano; d) estímulo à imunidade; e) manutenção de uma microflora intestinal estável não patogênica; f) restauração de uma microflora intestinal após desequilíbrio e; g) promover uma microflora intestinal não patogênica estável no recém nascido (FULLER e COLE, 1989).

O consumo total de ração no de animais tratados com probióticos foi de 37, 2849 kg⁻¹ e do lote grupo controle, 37, 3326 kg⁻¹. Não foi observada diferença estatística ($p \geq 0,05$) no consumo entre os dois grupos.

Nesse estudo, apesar da diferença de peso corporal entre aves suplementadas com probióticos e grupo controle não demonstrar diferenças estatísticas ($p > 0,05$). TEM ALGUMA COISA ERRADA, ISTO NÃO TEM SENTIDO!

Nesse estudo, apesar da diferença de peso entre aves suplementadas com probióticos e controles não demonstrar diferenças estatísticas, pode-se observar que em todas as idades houve um maior ganho de peso nas aves teste. Esse fato é no mínimo interessante já que essas aves têm a mesma origem, mesmo peso ao nascer e consumo de ração praticamente idêntico. Assim, quando o aumento de peso (não significativo) é computado em grande escala, como nas criações comerciais, é possível verificar um adicional na receita. Por exemplo, se a diferença entre os grupos tratados e controles for hipoteticamente 50 g^{-1} , e uma granja produzir 50.000 animais/mês, com uma média de peso de $2,5 \text{ kg}^{-1}$, ao preço de venda de R\$ 1,45 (AVEWORLD, 2007), uma receita adicional de R\$ 3.625,00 será obtida na venda dos animais.

Seguindo o mesmo raciocínio, mas com a média de peso adicional obtida neste estudo que foi de 65 g^{-1} . Considerando o abate de 1 milhão de frangos/mês, com peso médio de $2,5 \text{ kg}^{-1}$ e preço/kg de R\$ 1,45. Este peso adicional geraria uma receita anual de 1,13 milhões de reais.

C. Uniformidade, Mortalidade e Morbidade das aves

Nesse estudo não houve mortalidade de aves e não foi observada morbidade em nenhum dos grupos. Esses resultados estão em desacordo com Campos et al. (2002), trabalhando com vários níveis de inclusão de probióticos na ração (0 g/ton, 50 g/ton, 100 g/ton, 150 g/ton e 1000 g/ton), onde observaram uma diminuição no índice de mortalidade.

A comparação da uniformidade média entre as aves do grupo teste e grupo controle demonstrou que não há diferença significativa ($p \geq 0,05$) nas idades 1, 12, 18, 23 e 28 dias. Aos sete dias de idade houve um maior índice de desuniformidade no grupo controle ($p < 0,05$) (Tabela 3).

Tabela 3 – Uniformidade de peso das aves tratadas com probióticos e controle, em diferentes idades.

Idade (dias)/ no. de animais	Peso Médio		P
	grupo controle	grupo teste	
1 (n=12)	0,75 ^a	0,92 ^a	0,3548
7 (n=12)	0,25 ^a	0,92 ^b	0,0083
12 (n=9)	0,78 ^a	0,78 ^a	0,1018
18 (n=9)	0,89 ^a	0,89 ^a	0,2100
23 (n=9)	0,67 ^a	0,78 ^a	0,8145
28 (n=9)	0,89 ^a	0,67 ^a	0,1677

Médias na linha seguidas de letras distintas indicam valores estatisticamente diferentes pelo teste T Student ($P \leq 0,05$).

Não foi encontrada na literatura experimentos com aves suplementadas com probióticos analisando a uniformidade de peso nessas idades. Porém através desse estudo observa-se que na idade de sete dias a uniformidade é maior no grupo teste. Outros estudos devem ser realizados, pois a uniformidade é um fator que pode influenciar no rendimento e na qualidade de carcaça (SILVA et al., 1994).

D. Microbiota intestinal das aves

As contagens médias de enterobactérias no ceco das aves, em diferentes idades, estão descritas na Tabela 4. Aos 7, 18 e 28 dias o grupo controle apresentou uma maior contagem de enterobactérias no ceco comparada ao grupo teste ($p < 0,05$). Há uma vasta microbiota indesejável no ceco de frangos aparentemente normais, com destaque para espécimes da família *Enterobacteriaceae*. Muitas vezes estes microrganismos são responsáveis por enterites em aves (ZHU et al., 2002).

A família das enterobactérias, *Enterobacteriaceae*, inclui bacilos gram-negativos, anaeróbios facultativos, com capacidade de fermentar a glicose a ácido. Esta família abriga patógenos capazes de causar enterites, entre eles, os gêneros *Echerichia*,

Salmonella, *Shigella* e *Yersinia*. Estes microrganismos são amplamente utilizados como indicadores da qualidade de alimentos (KORNACKI e JOHNSON, 2001). Segundo Bourlioux et al. (2003) as enterobactérias tanto podem causar dano à célula intestinal como ter comportamento de comensal, e em condições propícias tornam-se patogênicas.

Tabela 4 – Contagens médias de enterobactérias (UFC.g⁻¹) no conteúdo cecal de aves suplementadas e não suplementadas com probiótico na ração², em diferentes idades.

Idade (dias)	Contagem de Enterobactérias (UFC.g ⁻¹)		P
	grupo controle	grupo teste	
7 (n=4)	1,7 x 10 ⁹ ^a	7,7 x 10 ⁸ ^b	0,002
12 (n=4)	5,6 x 10 ⁹ ^a	2,2 x 10 ⁹ ^a	0,2045
18 (n=4)	1,4 x 10 ⁹ ^a	2,3 x 10 ⁸ ^b	0,0001
28 (n=4)	1,4 x 10 ⁸ ^a	2,6 x 10 ⁶ ^b	0,0129

² dieta suplementada com probiótico (6,8g/kg de ração)

Médias na linha seguidas de letras distintas indicam valores estatisticamente diferentes pelo teste T Student ($P \leq 0,05$).

Determinar o número de enterobactérias no conteúdo cecal permite avaliar a influência do probiótico administrado sobre a microbiota endógena deste segmento intestinal. Nesse estudo houve diferença entre as contagens realizadas no grupo grupo teste e controle. O grupo tratado com probióticos apresentou uma menor população ($p < 0,05$) de enterobactérias nas idades de 7, 18 e 28 dias. Provavelmente, os microrganismos presentes no probiótico foram capazes de inibir ou controlar a multiplicação da microbiota endógena, seja por competição de sítios de ligação ou exclusão competitiva (DOBROGOSZ et al., 1991 e TORNUT, 1998), produzindo substâncias antimicrobianas e ácidos orgânicos como peróxido de hidrogênio, dióxido de carbono, diacetil, ácido piroglutâmico, reuterina, bacteriocinas (EDENS et al., 1997), ou estimulando o sistema imune das aves (SILVA, 2000). Os dados obtidos neste estudo sugerem que há um eficiente controle dos probióticos sobre as enterobactérias, desde a fase inicial até os 28 dias. Nessa idade foi observada a diferença mais marcante,

com contagem média de $1,4 \times 10^8$ UFC.g⁻¹ nas aves não tratadas, e de $2,6 \times 10^6$ UFC.g⁻¹ nos animais que receberam a suplementação.

A enumeração de *Clostridium* sulfito redutores no conteúdo cecal das aves suplementadas com probiótico não demonstrou a mesma tendência de redução que a observada para enterobactérias. Não houve diferenças nas contagens médias ($p > 0,05$) entre o grupo tratado e controle (Tabela 5). A avaliação desses microrganismos é importante, pois engloba a *Clostridium perfringens* (SILVA et al., 2001), e dessa forma, pode ser um indicativo da presença da mesma. Porém mesmo o *C. perfringens* sendo um habitante da flora normal do intestino, em certas condições o mesmo pode se tornar patogênico desencadeando a produção de toxinas (BOURLIOUX et al. 2003) que irão ocasionar enterite necrótica nas aves (LATINOVIC, 1983)

Tabela 5 - Contagens médias de *Clostridium* sulfito redutores (UFC.g⁻¹) no conteúdo cecal de aves suplementadas com probiótico e aves controles, em diferentes idades.

Idade (dias)	<i>Clostridium</i> sulfito redutores (UFC.g ⁻¹)		P
	grupo controle	grupo teste	
18 (n=4)	$5,5 \times 10^2$ ^a	$1,6 \times 10^2$ ^a	0,1487
23 (n=4)	$5,7 \times 10^2$ ^a	$9,0 \times 10^2$ ^a	0,3141
28 (n=4)	$1,1 \times 10^3$ ^a	$1,2 \times 10^2$ ^a	0,4254

Médias na linha seguidas de letras distintas indicam valores estatisticamente diferentes pelo teste T Student ($P \leq 0,05$).

Não foi encontrada na literatura qual a contagem de *Clostridium* sulfito redutor deve ser considerada normal ou desejável no conteúdo cecal de frangos. Porém, os resultados desse trabalho mostram que não há interferência do uso de probióticos no controle dessa bactéria.

VI) CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste estudo permitem concluir que a suplementação de aves de corte com probióticos até 28 dias de idade pode trazer vantagens parciais em parâmetros que influenciam os índices zootécnicos.

Há uma menor colonização por enterobactérias nos cecos das aves suplementadas com probióticos, mas seu uso não influencia nos números de *Clostridium* sulfito redutores, neste segmento intestinal.

O uso de probióticos não determina diferenças estatísticas no consumo de ração e no ganho de peso de frangos de corte. Porém para o parâmetro uniformidade das aves o resultado foi inconclusivo, pois houve uma diferença de uniformidade positiva para lotes tratados apenas com 7 dias de idade.

O pH do ingluvío em aves de um até sete dias de idade, suplementadas com probióticos é significativamente menor que o das não suplementadas principalmente nas idades iniciais, atingindo valor capaz de inibir o crescimento de patógenos entéricos. Isso é importante para evitar uma colonização precoce por enterobactérias no trato digestivo.

VII) REVISÃO DA LITERATURA

ALVAREZ, L. C.; BARRERA, E. M.; GONZÁLES, E. A. Evaluación de promotores del crecimiento para pollos de engorda. **Veterinária México**, v. 24, n. 2, 1994.

ANDREATTI FILHO, R.L.; SAMPAIO, H.M. **Probióticos e Prebióticos**. Avicultura Industrial., São Paulo, v. 90, n. 1078, p. 1632, 2000.

ANDREATTI FILHO, R. L.; SILVA, N. E.; RIBEIRO, R. A.; KONDO, N.; CURI, R. P. Use of anaerobic cecal microflora, Lactose and acetic acid for the protection of broiler chicks against experimental infection with *Salmonella typhimrum* and *Salmonella* Enteritidis. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.31, p.107-112, 2000.

ANONIMO. Procesamiento mundial de aves. **Indústria Avícola**, p.10-13, 2000.

APAJALAHTI, J., KETTUNES, A., GRAHAM, H. Characteristics of the gastrointestinal microbial communities, with special reference to the chicken. **World's Poultry Science Journal**, v. 60, p.223-232, 2004.

AVEWORLD, Cotações de dezembro de 2007, disponível em: <http://www.aveworld.com.br/index.php?pasta=29>, acesso em dezembro de 2007.

BALEVI, T.; COSKUN, B.; KURTOGLU, V.; ETINGUL, T. S. Effect of dietary probiotic on performance and humoral immune response. **British poultry Science**, v. 42, p. 456-461, 2001.

BERTECHINI, A.G.; HOSAIN, S.M. Efeito da utilização de probiótico sobre o desempenho de frangos de corte. *In*: O FANTÁSTICO MUNDO DOS PROBIÓTICOS. Manual Técnico BIOTECNAL, p. 65, 1993a.

BERTECHINI, A. G.; HOSSAIN, S. M. Utilização de um tipo de probiótico como promotor de crescimento em rações de frangos de corte. *In*: CONFERÊNCIA DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLA, 1993, Santos. **Anais...** Santos: Apinco, p.1, 1993b.

BOURLIOUX, P. KOLETZKO, B.; GUARNER, F.; BRAESCO, V. The intestine and its microflora are partners for the protection of the host: report on the Danone Symposium: "The Intelligent Intestine", held in Paris, June 14, 2002. **Am J Clin Nutr**; v.78, p.675-83, 2003.

BRANDTZAEG, P. Basic mechanisms of mucosal immunity a major adptive system. **Immunologist**, v.3, p.89-96, 1995.

CAMPOS, D.M.B. Nívelde inclusão de probiótico sobre o desempenho de frangos de corte. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 4, supl. 4, p. 36, 2002.

CHAI, J.; MINGJUNG, S.; QIAN, Y. Isolation and identification of *Lactobacillus brevis* and its effects on mucosa immunity of chicken. **Chinese Journal Veterinary Science**, v.21, p.485-488, 2001.

DALE, N. Probióticos para aves. **Avicultura Profissional**, v. 10, n. 1, p. 88-89, 1992.

DAY, C. A. Competitive exclusion in poultry: a review. **Worcessershire: Lifeare nProd**, p.18, 1992.

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

DUKE, G.E. Physiology of digestion and metabolism. **Zootecnia Internacional**, New York, v. 17, n. 8, p. 50-53, Oct. 1994

EARLE, D. J. Expression and function of the MAdCAM-1 receptor, integrin $\alpha 4\beta 7$, on human leukocytes. **Journal Immunology**, v.153, p.517-528, 1994.

EDENS, F. W.; PARKHURST, C. R.; CASAS, I. A.; DOBROGOSZ, W. J. Principles of ex ovo competitive exclusion and in ovo administration of *Lactobacillus reuteri*. **Poultry Science**, v.76, p.179-196. 1997.

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

FDA - **U.S. Food and Drug Administration - Center for Food Safety and Applied Nutrition**. 1998. Disponível em: <<http://vm.cfsan.fda.gov/~mow/foodborn.html>> Acesso em: mai 2007.

FILHO, I. B.; RIBEIRO, R. C. Manejo de Machos. In: MACARI, M.; MENDES, A. A. ed. 2 Manejo de Matrizes de corte. Campinas, FACTA, p. 169-177,2005 .

FULLER, R. Basland Eficacy os Probiótics. **World Poultry Science Journal**, v.44, n.1,p.69- 70, Feb. 1988.

FULLER, R. The importance of lactobacilli in maintaining normal microbial balance in the crop, **British Poultry Science**, v.18, p.85-94, 1988

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

FULLER, R., C. B. COLE. The scientific basIof the Probiotic concept in probiotics. Theory and Applications. Ed. B. A Stark and J. M. Wilkinson. Chalcombe. Publications, p. 1-14 1989.

GERRITSE, K.; POSNO, M.; SCHELLEKENS, M. M.; BOERSMA, W. J. A.; CLAASSEN, E. Oral administration of TNP-lactobacillus conjugates in mice: a model for evaluation of mucosal and systemic immune responses and memory formation elicited by transformed Lactobacilli. **Researat Microbiology**, v.141, p.955- 962, 1990.

GIBSON, G.R.; TROBERFROID, M.B. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. **Journal of Nutrition**. v. 125, p. 1401-1412, 1995.

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

GUSILIS, C.; PEREZ CHAIA, A.; APELLA, M. C.; AMOROSO, M. J.; OLIVER, G. Antibacterial activity of *Lactobacillus animalII*olated from chicken against *Salmonella gallinarum*. **Microbiol. Aliment. Nutr.**, v.16, p.265-273, 1998.

HAZELEGER, W.; ARKESTEIJN, C.; TOOROPBOUMA, A.; BEUMER, R. Detction of the coccoid form of *Campylobacter jejuni* in chicken products with the use of the polymerase chain reaction. **International Journal of Food Microbiology**, v. 24, p. 273-281, 1994

HENRIQUE, A.P.F. Uso de probiótico e antibiótico como promotores de crescimento para frangos de corte. *In*: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 35., 1998, Botucatu. **Anais...**, Botucatu: SBZ, 1998. p. 297-299.

HINTON, A. JR. , BUHR, R: J. E INGRAM, K. D. Reduction of *Salmonella* in the crop of broiler chickens subjected to feed withdrawal. **Poultry Science**, v. 79, p.1566-1570, 2000.

JEFFREY, J. S. Use of Competitive Exclusion Products for Poultry. **Cooperative Extension, University Of California**, 1999.

JIN, L.; HO, Y.W.; ABDULLAH, N. Influence of dried *Bacillus subtilis* and *Lactobacilli* culture on intestinal microflora and performance in broilers. **Asian Australian Journal Animmal Science**, v.9, p.397-403, 1996

JIN, L.Z.; HO, Y.W.; ABDULLAH, N.; JALALUDIN, S. Probiotics in poultry: modes of action. **World's Poultry Science Journal**. v. 53, p. 351-368, 1997.

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

KELLEY T.R., PANCORBOO.C., MERCA W.C., BARNHARTS H.M; Antibiotic resistance of bacterial litter isolates. **Poultry Science**, n.77, p.243-247, 1998.

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

KORNACKI, J. L.; JOHNSON, J. L. Enterobacteriaceae, Coliforms, and Escherichia colia as quality and safety indicators. In DOWNES, F. P.; ITO, K. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 4 ed. Washington: American Public Health Association, p. 69-82, 2001.

KRAEHENBUHL, J. P.; NEUTRA, M. R. Molecular and cellular basis of immune protection of mucosal surface. **Physiol Revision**, v.72, p.853-879, 1992.

LATINOVIC, V. Study of characteristics of *Clostridium perfringens* strains isolated from broilers with enteritis. **Veterinaria Yugoslavia**, v. 32, p. 267-275, 1983.

LODDI, M.M.; SATO, R.N.; ARIKI, J. et al. Ação isolada ou combinada de antibiótico e probiótico como promotores de crescimento em rações iniciais de frangos de corte. In: **Reunião Anual Da Sociedade Brasileira De Zootecnia**, 37, 2000, Viçosa. Anais... São Paulo. 2000.

LUNDÉN, T. Effects of antimicrobial drugs on the immune defence of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). PhD thesis, p. 67, 2001.

MAASSEN, C. B. M.; van HOLTEN, J. C. A. M.; BALK, F.; HEIJNE den BAKGLASHOUWER, M. J.; LEE, R.; LAMAN, J. D.; BOERSMA, W. J. A.; CLAASSEN, E. Orally administered *Lactobacillus* strains differentially affect the direction and efficacy of the immune response. **Veterinary Quarterly**, v.20, p.S81-S83, 1998.

MACARI, M. Mecanismo de proliferação e reparação da mucosa gastrointestinal em aves. **AnaIprimeiro simpósio de coccidiose e enterite** . Campinas – SP 1995

MACARI, M; FURLAN, R.LGONZÁLES, E. Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte. FUNEP/UNESP 2002.

MACARI, M.; FURLAN, R.L. Probióticos. In: CONFERÊNCIA DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2005, Santos. **Anais...** Santos: Facta, 2005. v. 1, p. 53-72.

MAO, Y; NOBAEK, S.; KASRAVI, B.; ADAWI, D.; STENRAM, U.; MOLIN, G.; JEPPSSON, B. The effects of *Lactobacillus* strains and oat fiber on methotrexate-induced enterocolitlin rats. **Gastroenterology**, v.111, n.2, p.334-344, 1996.

MATHEW, A. G. Influence of weaning age on ileal microflora and fermentation acids in young pigs. **Nutritional Reserch**, v. 6, p. 817-827,1996.

McDONALD, V. Gut intraepithelial lymphocytes and immunity to *Coccidia*. **Parasitol. Today**, v.15, n.12, p.483-487, 1999.

McMULLIN, P. Produção avícola sem antibióticos: riscos potenciaIde contaminação cruzada e detecção de resíduos. In: CONFERÊNCIA DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2004, Santos. **Anais...** Santos: Facta, 2004. v. 2, p. 219-226.

MENTEN, J.F.M. **Probióticos, Prebióticos e Aditivos Fitogênicos na Nutrição de Aves**. In: II Simpósio sobre Ingredientes na Alimentação Animal CBNA, p. 251-275, 2002.

METCHNIKOFF, I. Prolongation of live. **New York: Putnam**, 1907.

MICHAEL, S., WEI, S. , MACK. *Escherichia coli* strain 2348/69 in vitro adhrían Ireduced in the presence of a *Lactobacillus* species. **Gastroenterology**, v.112, p.1042, 1997.

MOWATT, A. MCL.; VINEY, J. L. The anatomical basis of intestinal immunity. **Immunology Revision**, v.156, p.145-166, 1997.

MUIR, W. I., BRYDEN, W. L., HUSBAND, A. J. Immunity, vaccination and the avian intestinal tract. **Dev. Comp. Immunol.**, v. 24, p.325-342, 2000.

MULDER, R.W.A.W. Probiotics as a tool against Salmonella contamination. **Misset World Poultry**, v.7, p.36-37, 1991.

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

ORLA-JENSEN, S. La Classification des Bacteries Lactiques. **Lait**, v.4, p.468-477, 1921.

PANDA, A.K. Growth, Carcass characteristics, immunocompetence and response to *Escherichia coli* of broilers fed diets with various levels of probiotic. **Archiv Für Geflügelkunde**, v.64, n.4, p.152-156, 2000.

PASCUAL, M.; HUGAS, M.; IGNACIO BADIOLA, J.; MARIA MONFORT, J.; GARRIGA, M. *Lactobacillus salivarius* CTC2197 prevents *Salmonella* Enteritidis colonization in chickens. **Applied Environmental Microbiology**, v.65, p.4981-4986, 1999.

PEREIRA, L.L.N.; SILVEIRA, E.T.F.; BARAQUET, N.J.; PENETATE, A.; ANDRADE J.C.; BUZELLI, M.L. Adição de complexo vitamínico na dieta de frangos e seus efeitos no estresse pré-abate, qualidade da carcaça e carne. **Avicultura Industrial**, V.01, n. 97, p.32-36, 2006.

PINTO, P.S.A. Aspectos sanitários da salmonelose como zoonose. **Higiene Alimentar**, v. 14, n. 73, p.39-43, jun. 2000.

POUWELS, P. H.; LEER, R. J.; BOERSMA, W. J. A. The potencial of *Lactobacillus* as a carrier for oral immunization: development and preliminary characterization of vector systems targeted delivery of antigens. **Journal Biotechnology**, v.44, p.183-192, 1996.

PULVERER, G., KO, H. L., ROSZKOWSKI, W., BEUTH, J., YASSIN, A., JELJASZEWICZ, J. Digestive tract microflora liberates low molecular weight peptides with immunotriggering activity. **Int. J. Med. Microbiol.**, v.272, p.318- 327, 1990.

RAMESH, B. K.; SATYNARAYANA, M. L.; GOWDA, R. N. S., VIJAYASARATHI, S. K.; SUGUNA RAO. Effect of *Lactobacillus acidophilus* on gut pH and viable bacterial count in experimental fowl typhoid in broilers. **Indian Veterinary Journal**, v.77, p.544-546, 2000.

ROSTAGNO, H.S. Utilização de probióticos e prebióticos em aves. In: FERREIRA, C.L.F. (Ed.).Prebióticos e probióticos: atualização e prospecção. Viçosa: UFV, 2003. p. 181-202.

SANDERS, M. E. Overview of functional foods: emphasis on probiotic bacteria. **Int. Dairy J.**, v.8, p.341-347, 1998.

SAVAGE, T. F.; ZAKRZEWSKA, E. I.; ANDREASEN Jr., J. R. The effects of feeding diets to poult on performance and the morphology of the small intestine. **Poultry Science**, v.76, n.1, p.139, 1997.

SCHEREZENMEIR ,J., DE VRESE, M. Probiotics, prebiotics and synbiotics – approaching a defition. **American Journal of clinical nutrition**, New York,V.73, p. 361s-364s, 2001 suplement.

SELL, J. L. Physiological limitations and potential for improvement in gastrointestinal tract function of poultry. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 5, p. 96-101, 1996.

SILVA, A. B. P.; GARCIA, E. A.; MENDES, A. A. Efeito do sexo sobre desempenho e uniformidade em lotes de frangos de corte. In: CONFERÊNCIA APINCO DE

CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 1994, Campinas. **Trabalhos de pesquisa**.
Campinas: Facta, 1994. p. 107-108.

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

SILVA, L. F.; FABRINI FILHO, L. C. Complexo avícola e questões sobre hábito alimentar. **Caderno de Debate**, v. 2, p. 41-61, 1994.

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

SILVA, E.N. Antibióticos intestinais naturais: bacteriocinas. *In*: SIMPÓSIO SOBRE ADITIVOS ALTERNATIVOS NA NUTRIÇÃO ANIMAL, 2000, Campinas. **Anais...** Campinas: CBNA, 2000. p. 1016.

SILVA, N. E.; TEIXEIRA, A. S.; FIALHO, E. T.; BERTECHINI, A. G.; SOUZA, P. R. I. Efeitos dos probióticos e antibióticos sobre as vilosidades e ph do trato gastrointestinal de frangos de corte . **Ciência agrotecnica**, v.24 (Edição Especial), p.163-173, 2000.

SILVA, E.N. Alimentos funcionais para aves: prebióticos e probióticos na alimentação avícola. *In*: CONFERÊNCIA DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2000, Campinas. **Anais...** Campinas: Facta, 2000. v. 2, p. 241-251.

SPRING, P. The move away from antibiotic growth promoters in Europe. *In*: ALLTECH'S ANNUAL SYMPOSIUM, 15., 1999, Nottingham. **Proceedings...** Nottingham : Alltech, p.173–183, 1999.

SUIDA, D. Estimulantes do desempenho de galinhas poedeiras e de frangos de corte. 1994. 59 f. Dissertação (Mestrado em Nutrição de Monogástrico) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1994.

TANNOCK, G.W. A fresh look at the intestinal microflora. In: TANNOCK. G.W. (Ed.). **Probiotics a critical review**. Wymondham: Horizon Scientific Press, p.5-14, 1999.

TORTORA, G.S **Microbiologia**. 6 ed., Artmed, 827pg, p. 302, 2002.

TORTUERO, F. Influence of implantation of *Lactobacillus acidophilus* in chicks on the growth, feed conversion, absorption of fats syndrome and intestinal flora. **Poultry Science**, v.52, p.197-203, 1973.

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

UNI, Z., NOY, Y., SKLAN, D. Development of the small intestine in heavy and light starin chickes before and after hatching. **British Poultry Science**, v.36, p.63-71, 1996.

VARGAS JR., J.G., TOLEDO, R.S., ALBINO, L.F.T., ROSTAGNO, H.S., OLIVEIRA, J.E., CARVALHO, D.C.O. Uso de probióticos, prebiótico e antibiótico em rações de frango de corte. In: XXXVIII Reunião da SBZ, 2001, Piracicaba. **Anais...**Piracicaba: SBZ, p. 819-20, 2001.

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

YAMAMOTO, M.; KIYONO, H. Immunoregulatory functions of mucosal and T cells, **Microbes Infective**, v.1, p.241-246, 1999.

ZACCONI, C.; SCOLARI, G.; SARRA, P. G. Effect of administration of *Lactobacillus salivarius* and lactic microflora in chick digestive tract. **An. Microbiol. Enzimol.**, v.49, p.117-123, 1999.

ZHU, X. Y.; ZHONG, T.; PANDYA, Y. 16S Rna-Based analysis of microbiota from cecum of broiler chickens. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 68, n. 1, p. 124-137, 2002.

ZUANON, J. A. S. Efeito de promotores de crescimento de frangos de corte. 1995. 70 p. Dissertação (Mestrado em Nutrição de Monogástricos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1995.

ZUANON, J.A.S. Desempenho de frangos de corte alimentados com rações contendo antibióticos e probióticos adicionados isoladamente, associados e em uso seqüencial. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 27, p. 994-998, 1998.