

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA  
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA**

CAROLINE TEIXEIRA DREYER

**Potencial de inibição de microrganismos probióticos sobre bactérias  
patogênicas importantes na avicultura**

Uberlândia

2023

CAROLINE TEIXEIRA DREYER

**Potencial de inibição de microrganismo probióticas sobre bactérias  
patogênicas importantes na avicultura**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Uberlândia como requisito parcial para obtenção do título de bacharela em Zootecnia.

Orientador: Profa. Dra. Belchiolina Beatriz Fonseca.

Uberlândia

2023

Dedico este trabalho aos meus pais, pelo  
estímulo, apoio e amor.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais, meu irmão Carlos, minha família que sempre esteve ao meu lado, me apoiando, me incentivando e me auxiliando em tudo desde sempre, tudo que conquistei até aqui é por vocês e por causa de vocês.

Agradeço também à minha Tia Solange e a minha avó Zilda, mulheres incríveis que estiveram comigo desde sempre, também, com todo apoio e amor. Além de claro, minha prima Giulia que sempre esteve comigo e é minha pessoa nesse mundo.

Agradeço ao meu namorado, Matheus Real, que esteve sempre ao meu lado me apoiando e me incentivando todos os dias, além de todo o amor e paciência.

Agradeço à professora e minha orientadora Bia Fonseca por ter acreditado no meu potencial e me dado oportunidades e, principalmente, o incentivo, motivação e orientação nesta caminhada acadêmica.

Agradeço aos meus amigos que estiveram presentes em toda essa caminhada me dando apoio, em especial, a Bruna Campos, que mais que uma amiga se tornou parte da família e que sempre me ajudou e deu total apoio e, também, minha amiga Laura Rodrigues, pelo apoio, mas também pela amizade e paciência.

Agradeço também às mulheres incríveis do LADOC-UFU, que me deram todo suporte, ajuda e atenção durante meu trajeto dentro do laboratório. Em especial, à Simone, que, com toda atenção, paciência, dedicação e carinho, foi importante em todo meu conhecimento no laboratório e, principalmente, pela ajuda na elaboração deste trabalho.

E, por fim, agradeço ao PET Zootecnia, que ao longo desses anos como “petiana”, tive um grupo que foi responsável por grandes conquistas e feitos durante a graduação e pela oportunidade de aprender tanto, em especial, à tutora prof.<sup>a</sup> Elenice, por todo apoio, conselhos e amizade.

“Ninguém ignora tudo. Ninguém sabe tudo. Todos nós sabemos alguma coisa. Todos nós ignoramos alguma coisa”.

(FREIRE, 2002, p. 69)

## RESUMO

No cenário mundial atual, o desenvolvimento de métodos que substituam a utilização de antibióticos é de suma importância no controle das principais doenças que atingem a produção avícola. Com isso, o objetivo desse trabalho foi identificar a eficácia *in vitro* de diferentes espécies de microrganismos probióticos, no controle de patógenos importantes na produção avícola. Foi realizada a análise *in vitro* da inibição de cinco (5) cepas probióticas (*Saccharomyces boulardii*, *Lactobacillus delbrueckii* CNRZ 327, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* UNICLON LLL01, *Lactiplantibacillus plantarum* UNICLON LP09 e *Lacticaseibacillus acidophilus* UNICLON LA01) sobre 10 isolados patogênicos oriundos de frangos de corte e humano (*Salmonella* Heidelberg, *Salmonella* Enteritidis, *Salmonella* Typhimurium, *Salmonella* Minnesota, *Salmonella* Infantis, *Escherichia coli* patogênica aviária, *Campylobacter jejuni* e *Clostridium perfringens*), utilizando o método de halo de inibição. Foi feita uma solução para cada probiótico, utilizando 5 mL de solução salina para obter uma concentração de aproximadamente  $10^8$  UFC/mL. Em seguida, 5  $\mu$ L de cada solução foram depositados na superfície do ágar no centro da placa para a formação de *spot*, depois do período de incubação foi feita a inativação desses com clorofórmio e consseguente a inoculação das cepas patogênicas. Os resultados destacam a capacidade de cepas probióticas em inibir o crescimento de patógenos, com ênfase em *L. acidophilus* e *L. plantarum* e na sinergia observada em blends de probióticos para controle de *S. Heidelberg*. O estudo destaca a variabilidade na eficácia dos probióticos na inibição de patógenos avícolas, dependendo de espécie, sorotipo e cepa. As formulações *L. acidophilus*, *L. plantarum* e o *blend* demonstraram efeitos inibitórios superiores em relação a *L. delbrueckii*, *L. lactis* e *S. boulardii*, embora *L. delbrueckii* tenha exibido um efeito positivo notável sobre *S. Heidelberg* e *Clostridium perfringens*. Este estudo ressalta a importância da escolha criteriosa de probióticos para promover a saúde avícola e controlar patógenos, proporcionando *insights* valiosos para práticas de manejo mais eficazes na indústria avícola.

**Palavras-chave:** Aves; bacteriocinas; produção livre de antibióticos; sanidade.

## ABSTRACT

In the current global scenario, the development of methods that replace the use of antibiotics is of paramount importance in controlling the main diseases that affect poultry production. Therefore, the objective of this work was to identify the in vitro effectiveness of different species of probiotic microorganisms in controlling important pathogens in poultry production. In vitro analysis of the prevention of five (5) probiotic strains (*Saccharomyces boulardii*, *Lactobacillus delbrueckii* CNRZ 327, *Lactococcus lactis* subsp. *Lactis* UNICLON III01, *Lactiplantibacillus plantarum* UNICLON LP09 and *Lacticaseibacillus acidophilus* UNICLON LA01) over 10 isolate pathogens from broilers and human (*Salmonella* Heidelberg, *Salmonella* Enteritidis, *Salmonella* Typhimurium, *Salmonella* Minnesota, *Salmonella* Infantis, Avian pathogenic *Escherichia coli*, *Campylobacter jejuni* and *Clostridium perfringens*), using the inhibition halo method. A solution was made for each probiotic, using 5 mL of saline solution to obtain a concentration of approximately  $10^8$  CFU/mL. Then, 5  $\mu$ L of each solution was deposited on the surface of the agar in the center of the plate to form spots. After the incubation period, these were inactivated with chloroform, resulting in the inoculation of pathogenic strains. The results highlight the ability of probiotic strains to inhibit the growth of pathogens, with emphasis on *L. acidophilus* and *L. plantarum* and the synergy observed in probiotic blends to control *S. Heidelberg*. The study highlights the variability in the effectiveness of probiotics in inhibiting poultry pathogens, depending on species, serotype and strain. The *L. acidophilus*, *L. plantarum* and *blend* formulations demonstrated superior inhibitory effects towards *L. delbrueckii*, *L. lactis* and *S. boulardii*, although *L. delbrueckii* exhibited a notable positive effect against *S. Heidelberg* and *Clostridium perfringens*. This study highlights the importance of choosing probiotic criteria to promote poultry health and control pathogens, providing valuable insights for more effective management practices in the poultry industry.

**Keywords:** bacteriocins, health; poultry; probiotics-free productions.

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO .....	12
2	REFERENCIAL TEÓRICO .....	13
2.1	Cenário da avicultura de corte e uso de antimicrobianos.....	13
2.2	Probióticos.....	13
2.2.1	Bactérias ácido lácticas (BAL) .....	15
2.2.2	<i>Sacharomyces Boulardi</i> .....	17
2.3	Impacto das bactérias patogênicas para a avicultura.....	17
2.3.1	<i>Salmonella</i> .....	17
2.3.2	<i>Clostridium</i> .....	19
2.3.3	<i>Campylobacter</i> .....	19
2.3.4	<i>Escherichia coli</i> patogênica aviária (APEC).....	20
3	METODOLOGIA .....	20
3.1	Espécies de microrganismos probióticos utilizadas .....	20
3.2	Cepas patogênicas utilizadas .....	20
3.3	Formação dos <i>spots</i> de probióticos .....	21
3.4	Inoculação das cepas patogênicas de <i>Salmonella</i> , APEC e <i>Clostridium</i> .....	21
3.5	Inoculação de <i>Campylobacter</i> .....	22
3.6	Avaliação dos resultados .....	22
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	24
5	CONCLUSÃO .....	28
	REFERÊNCIAS.....	29



## 1 INTRODUÇÃO

O aumento da procura do mercado consumidor por um produto mais saudável e livre de antibióticos na produção tem levado à intensificação de mais pesquisas em busca de alternativas viáveis para a produção animal, que garantam bom rendimento e um produto final seguro ao consumidor.

Um dos principais desafios enfrentados na avicultura está relacionado às doenças que afetam as aves. Salmoneloses, campylobacteriose, clostridioses e colibacilose são algumas das enfermidades que demandam especial atenção por parte dos profissionais da saúde animal. O foco dos sanitaristas na avicultura reside na implementação de medidas sanitárias eficazes, garantindo o acompanhamento necessário para atender às exigências de proteção à saúde das aves e dos consumidores. Essa abordagem visa promover à produção avícola condições sanitárias adequadas, especialmente, considerando a grande importância socioeconômica do Brasil no setor de produção de frango. O país ocupa o primeiro lugar em exportação e o segundo lugar como maior produtor mundial, com isso, se destaca os cuidados sanitários para sustentar e expandir essa posição no mercado global (Associação Brasileira de Proteína Animal, 2023).

Existe um grande interesse na seleção de probióticos que possam substituir os antibióticos na prevenção e combate de doenças contagiosas e deletérias à produção animal. Os probióticos provocam uma mudança na população microbiana no intestino, afetando a composição da microbiota intestinal e, assim, também, modulando o sistema imunológico (Neveling *et al.*, 2021). O efeito dos probióticos irá depender da eficácia de uma única cepa, mas também, podendo ocorrer interação entre múltiplas cepas, formando assim, um composto de probióticos. Na avicultura, atualmente, utilização de probióticos pode gerar efeitos positivos no hospedeiro, como melhoradores de desempenho em frangos de corte, onde sua principal ação se dá no trato gastro intestinal (Zhang *et al.*, 2022).

Portanto, este estudo buscou avaliar o potencial de cinco (5) espécies de bactérias probióticas, dispostas individualmente e compostas (*blend*), na inibição de bactérias patogênicas, usando a metodologia do halo de inibição. As bactérias probióticas avaliadas foram *Saccharomyces boulardii* (SB), *Lactobacillus delbrueckii* (LD), *Lactococcus lactis subsp. Lactis* (LL), *Lactiplantibacillus plantarum* (LP) e *Lacticaseibacillus acidophilus* (LA). As bactérias patogênicas testadas foram *Salmonella* Heidelberg (SH), *Salmonella* Enteritidis 1(SE), *Salmonella* Typhimurium (ST), *Salmonella* Minnesota (SM), *Salmonella* Infantis (SI), *Escherichia coli* patogênica aviária (APEC), *Campylobacter jejuni* (CJ), *Clostridium perfringens* (CP)..

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Cenário da avicultura de corte e uso de antimicrobianos

O Brasil ostenta uma das aviculturas mais competitivas do mundo e alcançou níveis de excelência que servem como *benchmarks*<sup>1</sup> para outras nações. Diversos elementos na cadeia de produção desempenharam um papel essencial na atual performance dos animais e na produtividade. A eficiência zootécnica da indústria avícola brasileira experimentou um notável aprimoramento nos últimos anos, sendo grande parte desse avanço resultado de seleção e aprimoramento genético. Além disso, outro aspecto notável desse progresso está relacionado à nutrição, práticas de manejo e condições ambientais (Mendes, 2014).

Em 2022, segundo relatório anual da Associação Brasileira de Proteína Animal (2023), o Brasil produziu cerca de 14 milhões de toneladas de carne de frango, atingindo o posto de segundo maior produtor do mundo e primeiro exportador do mundo. Temos dados de mais de 4 milhões de toneladas destinadas à exportação, para 145 países, uma média de 33% da produção nacional é destinada à exportação.

Diante de uma alta produtividade, acompanham-se grandes desafios, um deles é o controle de patógenos em frangos de corte durante toda sua vida até o abate. Esse controle é muito discutido, devido ao uso indiscriminado de antibióticos, que resulta cada vez mais uma maior resistência bacteriana. Com isso, o crescimento dessa resistência aos antibióticos representa uma inquietação global em relação à saúde humana e animal (Roth *et al.*, 2019).

### 2.2 Probióticos

Os probióticos, considerando a definição da Organização de Alimentos e Agricultura e Organização Mundial da Saúde, são “microrganismos vivos, que quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde do hospedeiro” e podem conferir importante papel à saúde e manutenção do trato gastrointestinal de aves. Além disso, podem ocorrer interações desses microrganismos intestinais e das células epiteliais intestinais de frangos de corte (Neveling *et al.*, 2021).

---

<sup>1</sup> processo de busca das melhores práticas de gestão da entidade numa determinada indústria e que conduzem ao desempenho superior.

Espécies de probióticos têm papel biológico crucial na fermentação de alimentos no intestino, como, também, na produção de metabólitos e como fator de inibição de bactérias patogênicas (Abd El-hack *et al.*, 2020). Um estudo mostra que espécies de *Lactobacillus* e *Saccharomyces* spp. podem colonizar não apenas o intestino, como também, o estômago humano (Compare *et al.*; Rijkers, 2022). A utilização de probióticos pode reduzir a inflamação por meio da regulação da composição da microbiota, restaurando a integridade e a função da barreira epitelial e mucosa, e exercendo um efeito que equilibra a resposta imunológica (Compare *et al.*, 2022). Os benefícios fornecidos pela utilização de probióticos para a saúde incluem redução da taxa de colonização de bactérias patogênicas na parede intestinal, melhoria da morfologia intestinal, estimulação do sistema imunológico, melhoria da função metabólica, melhoria da absorção de nutrientes e melhoria do desempenho de crescimento em aves, competindo com patógenos por nutrientes e adesão a barreira intestinal (Zhang *et al.*, 2022).

Os probióticos podem por meio de vários mecanismos. Eles competem com patógenos que se aderem às células do hospedeiro em locais como o trato gastrointestinal, com o fator de competição por características específicas do habitat. Além disso, interagem com vários componentes celulares no ambiente intestinal, incluindo células epiteliais, macrófagos, células dendríticas e linfócitos. Várias vias de sinalização biológica, como NF $\kappa$ B, MAPK, Akt/PI3K e PPAR $\gamma$ , são alvos para os probióticos ou seus produtos (Thomas *et al.*, 2010). Uma de suas atuações mais importantes no controle de patógenos é a mudança do pH do trato gastrointestinal, causando um ambiente inóspito às bactérias causadoras de doenças, fazendo com que ocorra inibição delas. No entanto, os mecanismos pelos quais os probióticos exercem seus efeitos benéficos ainda não foram claramente definidos (Pais *et al.*, 2020).

O mecanismo imunomodulador seria a ocorrência do trânsito de probióticos que produzem substâncias antimicrobianas ou que contribuem indiretamente para a modulação imunológica ou função da barreira intestinal (Pais *et al.*, 2020). Assim sendo, os probióticos podem modular a resposta imune do hospedeiro de várias maneiras. Eles podem interagir com células imunes e podem, também, influenciar na produção de citocinas e quimiocinas, além de modular a produção de anticorpos. Com isso, esses efeitos imunomoduladores podem ajudar a prevenir ou tratar doenças, como doenças inflamatórias intestinais (Thomas *et al.*, 2010).

A ação dos probióticos é muito importante para a saúde do hospedeiro, pois atua na microbiota intestinal, que tem ação no desenvolvimento e regulação do sistema imunológico do hospedeiro (Li *et al.*, 2017).

O que vai influenciar na capacidade de inibição das BAL em relação as bactérias patogênicas estudadas será mediada pela modulação do trato gastrointestinal. A atuação desse

processo pode envolver a exclusão competitiva e a liberação de substâncias antimicrobianas, tais como ácidos orgânicos, como o ácido lático, que é essencial na redução do pH intestinal, criando um ambiente impróprio para as bactérias patogênicas, além da liberação de bacteriocinas e peptídeos (Evangelista *et al.*, 2023).

Portanto, é essencial elaboramos avaliações dos potenciais efeitos probióticos benéficos de cepas individuais em diferentes condições patológicas, otimizando sua utilização na produção avícola, elaborando e desenvolvendo formas mais eficazes e de menor impacto para lidar com os desafios que a existe na produção.

### 2.2.1 Bactérias ácido lácticas (BAL)

A eficácia dos probióticos é dependente da cepa específica e da dosagem. Não são todos os probióticos que proporcionam os mesmos benefícios, e a escolha da cepa correta e da quantidade adequada é crucial (Jager *et al.*, 2019). As bactérias ácido lácticas (BAL), que englobam as bactérias *Lactobacillus*, *Lactococcus*, entre outras, produzem substância antimicrobianas, como as bacteriocinas, como parte do mecanismo de defesa e sistema imune.

Como parte das BAL estudadas neste trabalho, temos o *L. plantarum* que é tido como um dos microrganismos mais encontrados no trato gastrointestinal tanto de humanos quanto de outros animais. Ele está envolvido com diversas funções para a biologia do corpo, sendo elas: fermentação intestinal de alimentos e produção de metabólitos. Dessa forma, ele aprimora a função da barreira epitelial e a inibição da colonização do patógeno. Além disso, também produz substâncias antimicrobianas (Coelho-Rocha *et al.*, 2023). Tais substâncias conhecidas como bacteriocinas são importantes no mecanismo antimicrobiano gerado pelas bactérias probióticas, discutidas neste trabalho, no trato gastrointestinal de aves (Darbandi *et al.*, 2022)

O *L. acidophilus*, que é um probiótico intestinal da família das bactérias lácticas, foi inicialmente isolado das funções essenciais em diversas áreas. Devido à sua notável capacidade de resistência a ácidos e sais biliares, ele apresenta capacidade de que além de sua sobrevivência, a de que seus produtos funcionem com sucesso (Gao *et al.*, 2022). Pesquisas evidenciam a capacidade do *L. acidophilus* em inibir patógenos intestinais, potencializando a resposta inflamatória e impedindo a colonização desses agentes patogênicos em frangos (Li *et al.*, 2017).

O *L. delbrueckii* é do gênero de bactérias Gram-positivas, anaeróbicas facultativas. Ele possui genes essenciais relacionados à resposta ao estresse ácido e biliar e à atividade antimicrobiana. É uma bactéria probiótica utilizada na indústria de laticínios. Como probiótico,

ele tem capacidade de resistir aos estressores presentes no trato gastrointestinal, auxiliar na inibição de patógenos e possuir utilização em outras doenças (de Jesus, 2022).

O *L. lactis*, assim como o *L. delbruekii*, é do gênero de bactérias Gram-positivas. Ele é usado na indústria alimentícia para produção de alimentos fermentados, embora exista um potencial sendo explorado como hospedeiro para a super expressão de proteínas da membrana. Esse microrganismo probiótico possui diferentes lipídios dentro da membrana e é rico em glicolipídios e cardiolipina, que são lipídios não presentes nas membranas de *E. coli*. (Frelet-Barrand, 2022).

As BAL são conhecidas por produzir várias bacteriocinas com características ideais para inativar patógenos, incluindo seu amplo espectro de atividade antimicrobiana, tolerância ao pH e ao calor, e natureza não tóxica, já que não causa efeitos colaterais ao hospedeiro, ou seja, não afetam a microbiota intestinal, diante de sua sensibilidade a proteases digestivas como complexo pancreático, proteases dos hospedeiros, tripsina e quimotripsina. É, também, devido a sua falta de efeitos colaterais que elas são potenciais substitutos de antibióticos (Darbandi *et al.*, 2022).

A substância de interesse de ação em resposta à inibição das bactérias patogênicas são as bacteriocinas, que são peptídeos antimicrobianos sintetizados via ribossomo, o que as diferem dos antibióticos tradicionais. Elas são classificadas em diferentes classes com base em características como tamanho, alvo microbiano, modo de ação e mecanismos de liberação e imunidade, são secretadas pelas BAL. São classificadas em diferentes classes (I, II e III), com base em características como tamanho, alvo microbiano, modo de ação e mecanismos de liberação e imunidade. Elas têm a capacidade inibitória contra organismos intimamente relacionados, como bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, geralmente, está associado ao processo de formação de poros na membrana celular externa de bactérias suscetíveis (Darbandi *et al.*, 2022).

As bacteriocinas ligam-se a alvos nas paredes celulares de micróbios suscetíveis, interagem com a membrana externa e geram poros. Os íons inorgânicos vazam pelos poros, resultando na morte da célula-alvo. (Svetoch *et al.*, 2010; Hernández-González *et al.*, 2021) Assim, possuindo alguns outros modos de ação, como, por exemplo, impedimento à formação da parede celular, penetração no citoplasma bacteriano e clivagem do DNA ou RNA (Darbandi *et al.*, 2022; Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 2023). As bacteriocinas, que podem inibir o crescimento de patógenos intestinais, como Salmonella e E. Coli, por exemplo, bactérias que foram estudadas nesse trabalho também podem ajudar a manter o equilíbrio da microbiota intestinal. Além disso, as bacteriocinas podem ter efeitos imunomoduladores,

estimulando a resposta imune do hospedeiro (Thomas *et al*, 2010). Entretanto, vale ressaltar que, o mecanismo específico de ação de uma bacteriocina depende de sua estrutura e do tipo de bactéria que ela atinge. (Hernández-González *et al.*, 2021).

### **2.2.2 *Sacharomyces Boulardi***

A *Saccharomyces boulardii* é uma levedura com propriedades probióticas, destaca-se como um organismo unicelular com uma função crucial no trato gastrointestinal (TGI). Essa levedura desempenha um papel essencial na colonização do TGI e na competição com agentes patogênicos. O que a diferencia notavelmente é sua resiliência diante de condições adversas. A exposição ao ácido estomacal, aos agentes gastrointestinais e à ação dos sais biliares no intestino delgado não a afeta significativamente, garantindo sua sobrevivência em comparação com os *Lactobacillus*.

A capacidade da *S. boulardii* de restaurar a microbiota normal é particularmente valiosa em situações em que patógenos invadem o trato gastrointestinal. Além disso, sua característica de transitoriedade no trato gastrointestinal a diferencia dos demais probióticos, tornando-a uma aliada essencial na manutenção da saúde e do equilíbrio do sistema digestivo. (Pais *et al.*, 2020)

Certas cepas de *S. boulardii* demonstram a habilidade de produzir níveis significativos de ácido acético, induzindo a diminuição do pH, um processo essencial para a atividade antimicrobiana dos ácidos orgânicos. A interação sinérgica entre a concentração elevada de ácido acético e o pH reduzido pode representar um mecanismo adicional que contribui para a eficácia probiótica do *S. boulardii*. (Pais *et al.*, 2020)

## **2.3. Impacto das bactérias patogênicas para a avicultura**

### **2.3.1. *Salmonella***

A *Salmonella* pertencente à família Enterobacteriaceae, bactérias Gram-negativas, ganha destaque na comunidade científica, sendo um dos principais desafios na produção avícola por ter caráter zoonótico que pode dar origem a infecções intestinais com potencial de extensão para outros sistemas. É uma bactéria que possui duas espécies, *Salmonella enterica* e *Salmonella bongori*, sendo a *S. enterica* de maior relevância para a saúde pública, segundo o Ministério da Saúde. A *S. enterica* é dividida em seis subespécies e, dentre elas, a subespécie

enterica possui os principais sorovares, como, por exemplo, a *Salmonella* Enteritidis e *Salmonella* Typhimurium (Silva, 2022).

A *Salmonella* é uma ameaça significativa na produção de frangos, com taxas de prevalência de 27% na UE e 15,6% nos EUA. Essas descobertas sublinham o impacto global da *Salmonella* na saúde animal, na agricultura e nos riscos à saúde humana por meio da transmissão alimentar. Controlar e reduzir a contaminação por *Salmonella* em animais de criação é crucial para a sustentabilidade econômica e a proteção da saúde pública (Evangelista *et al.*, 2023).

As infecções causadas por essa bactéria podem ter como sintomas febre aguda, náusea, dor abdominal e diarreia em humanos (Ferrari *et al.*, 2019). Na produção, mesmo com tratamento promovendo redução na mortalidade de aves infectadas, essas podem vir a ser reservatórios de grande potencial de disseminação do patógeno no plantel (Costa, 2020). Segundo dados da European Food Safety Authority (Autoridade Europeia para a Segurança Alimentar, 2019) e do Center for Diseases Control and Prevention (Centro de Controle e Prevenção de Doenças, 2017), *S. Enteritidis* foi o sorovar mais detectado em humanos nos casos de salmonelose não tifoide em 2017 (Silva, 2022).

As infecções por *Salmonella* enterica, causadas por seus sorovares *Salmonella* Typhimurium e *Salmonella* Enteritidis, podem infectar mais de um tipo de animal, além disso, possuem plasmídeos de virulência que são responsáveis pela disseminação sistêmica da infecção dos glânglios linfáticos mesentéricos, baço e fígado. São conhecidas como paratífóides, não sendo muito patogênicas para as aves, porém, podem sobreviver e ter multiplicação nas mesmas, ocasionando riscos para os humanos (Bernardo, 2022). Ademais, *Salmonella* Heidelberg e *Salmonella* Typhimurium causam infecções como gastroenterite, náuseas, vômitos e diarreia. (Gut *et al.*, 2018).

Uma vez que a *Salmonella* atinge o intestino de aves jovens, ela adere e coloniza especialmente as células epiteliais do ceco e do segmento ileocecal, de onde produzirá uma excreção fecal persistente por até seis (6) meses. Alguns sorotipos, como *S. Enteritidis*, são patogênicos o suficiente para atravessar as células do intestino, atingindo a corrente sanguínea. A bacteremia permite a infecção de muitos outros órgãos e tecidos, principalmente, fígado, baço e ossos. Muitas cepas também têm a capacidade de se alojar e se multiplicar dentro dos órgãos, evitando assim serem eliminadas pelo sistema imunológico da ave (Bernardo, 2022).

### 2.3.2. *Clostridium*

O *Clostridium* é um gênero de bactérias Gram-positivas, anaeróbica, formadora de endosporos, que estão localizados no interior da célula. Esporos são formas latentes da célula com maior resistência física. Uma das formas de sobrevivência dessa bactéria é a formação de esporos, quando em um ambiente extremo, garantindo sua sobrevivência (Shen *et al.*, 2019).

Em aves, entre outros animais e humanos, o *Clostridium perfringens* é o causador responsável da enfermidade enterite necrótica. A enfermidade ocorre principalmente em pintos de corte entre duas (2) e seis (6) semanas de idade (Abd El-hack *et al.*, 2022). Ela é caracterizada como uma enterotoxemia aguda, cuja causa é dada pela produção de toxinas feita pela bactéria em questão. A liberação dessas toxinas no trato intestinal ocasiona lesões ulcerativas e necrose focal a confluyente da mucosa (Ribas, 2020). A infecção causada por essa bactéria danifica a mucosa intestinal e perturba a homeostase da microbiota intestinal dos frangos (Li *et al.*, 2017).

### 2.3.3. *Campylobacter*

*Campylobacter* é um gênero de bactérias Gram-negativas, que vivem normalmente como organismos comensais, ou seja, reservatórios, no trato gastro intestinal de várias aves e mamíferos domésticos e selvagens. Tem grande potencial na causa de diversas infecções bacterianas de origem alimentar, sendo a causa mais comum para gastroenterite humana (campilobacteriose), com maior incidência da espécie *Campylobacter jejuni*. Sua infecção em humanos está mais frequentemente relacionada ao consumo e manuseio de produtos cárneos de aves positivas para a bactéria (Bolton, 2015; Gloanec, 2023).

Em aves, a infecção por *Campylobacter* pode induzir diversos sintomas, incluindo diarreia, redução nas taxas de crescimento e diminuição na produção de ovos. No entanto, a detecção e o controle da propagação do patógeno são desafiadores, uma vez que muitas aves infectadas com *Campylobacter* podem ser assintomáticas. Em seres humanos, a infecção por *Campylobacter* pode resultar em gastroenterite, evidenciada por sintomas como diarreia, dor abdominal e febre. Em casos raros, essa infecção pode desencadear complicações mais sérias, como a síndrome de Guillain-Barré, que pode levar à paralisia (Svetoch; Stern, 2010). Segundo o Ministério da Saúde (2023), a síndrome de Guillain Barré é um distúrbio autoimune grave, acometido pela ingestão de alimentos contaminados, sendo um deles a carne de frango, contaminado pela *Campylobacter jejuni*. Entre os sintomas mais comum está a diarreia.



#### 2.3.4. *Escherichia coli* patogênica aviária (APEC)

A ExPEC (*Escherichia coli* Patogênica Extraintestinal) é um subgrupo de *E. coli*, que tem a capacidade de causar infecções fora do trato gastrointestinal, isso quer dizer que essa bactéria pode causar infecções em partes do corpo como o sistema urinário, sangue e órgãos. A APEC (*Escherichia coli* Patogênica Aviária) é um subtópico da ExPEC que é especificamente associado a aves. Ela é o agente causador da colibacilose em aves, sendo assim, os sintomas em aves incluem inflamação dos sacos aéreos, pericardite, perihepatite, celulite, onfalite, coligranuloma e infecções sistêmicas (Thomrongsuennakij *et al.*, 2021; Kathayat *et al.*, 2021).

A APEC é uma doença que pode causar perdas significativas na avicultura. A infecção por essa bactéria resulta numa elevada taxa de mortalidade, ou até mesmo gastos para tratar aves doentes. Portanto, a APEC gera um pesado fardo econômico para a indústria avícola (Li *et al.*, 2021).

### 3 METODOLOGIA

O experimento foi realizado no Laboratório de Doenças Infectocontagiosas (LADOC) da Universidade Federal de Uberlândia. Foi realizada a análise *in vitro* de cinco (5) cepas probióticas, para inibição de 10 isolados patogênicos.

#### 3.1. Espécies de microrganismos probióticos utilizadas

Foram utilizadas as seguintes cepas probióticas: *Saccharomyces boulardii* (cepa ainda não nomeada), *Lactobacillus delbrueckii* CNRZ 327, *Lactococcus lactis* *subsp. lactis* UNICLON LLL01, *Lactiplantibacillus plantarum* UNICLON LP09 e *Lacticaseibacillus acidophilus* UNICLON LA01. Os microrganismos que compõem as formulações foram recebidos liofilizados e a hidratação das cepas foi realizada no momento da realização dos testes. Foi utilizado também um *blend* de todos os microrganismos probióticos em uma mesma solução.

#### 3.2. Cepas patogênicas utilizadas

As bactérias patogênicas testadas foram *Salmonella* Heidelberg (SH), *Salmonella* Enteritidis (SE), *Salmonella* Typhimurium (ST), *Salmonella* Minnesota (SM), *Salmonella*

Infantis (SI), Avian Pathogenic *Escherichia coli* (APEC), *Campylobacter jejuni* (CJ), *Clostridium perfringens* (CP). Todas as cepas de *Salmonella* foram isoladas de frango de corte, as cepas de APEC (cepa 1) Grupo B2 ST131 isoladas de humano, menos patogênica que a ST73, mas é multiresistente e APEC (cepa 2) Grupo G ST117 sorogrupo O53, gentilmente doadas pela profa. Dra. Terezinha Knöbl da Universidade de São Paulo. E as cepa de *C. Perfringens* produtora de toxina  $\alpha$  isoladas frango de corte com sintomatologia clínica, gentilmente doado por Rodrigo Otávio Silveira Silva da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). Foi utilizada a cepa de *Campylobacter jejuni* IAL isolada de humano.

### 3.3. Formação dos spots de probióticos

Para crescimento dos microrganismos probióticos, utilizou-se placas de Petri contendo ágar Man, Rogosa & Sharpe (MRS) (Neogen®) para LD, LP e LA e ágar M17 (Biolog®) para LL. Em seguida, incubadas a 36°C em microaerofilia por 24 horas. O probiótico SB foi inoculado em ágar nutriente (Neogen®) e incubado a 33°C por 24 horas.

No dia seguinte, foi feita uma solução de cada probiótico adicionando-se uma colônia dos microrganismos a ser testado em 5 mL de solução salina e homogeneizando com auxílio de um vórtex para se obter uma concentração de aproximadamente  $10^8$  UFC/mL, utilizando a escala de Mc Farland como padrão de turvação.

Em seguida, utilizando uma pipeta, 5  $\mu$ L de cada uma das soluções foi depositada cuidadosamente na superfície do ágar no centro da placa (*spot* de cultura bacteriana e/ou fúngica), deixando as placas abertas no fluxo laminar por 10 minutos para a secagem do inóculo. As placas contendo as bactérias do gênero LL (inoculado em ágar M17) e LD, LP e LA (inoculados em ágar MRS) foram então incubadas a 36°C em microaerofilia por um período de 24 horas em estufa bacteriológica e as placas contendo SB (inoculado em ágar AN) foram incubadas a 33°C por 24 horas também em estufa bacteriológica.

### 3.4. Inoculação das cepas patogênicas de *Salmonella*, APEC e *Clostridium*

Paralelamente à etapa anterior, as cepas patogênicas do gênero *Salmonella* e APEC foram estriadas em ágar nutriente e incubadas a 37°C em estufa bacteriológica por 24 horas. A bactéria CP foi estriada na placa de ágar modificado SPS (TM MEDIA®) e incubada em anaerobiose a 37°C em estufa bacteriológica por 24 horas.

No dia seguinte, os *spots* das cepas probióticas foram inativados com clorofórmio para inativar os microrganismos probióticos e avaliar a produção de substâncias capazes de inibir o crescimento da bactéria patogênica adjacente (Pereira; Gómez, 2007). Para isso, as placas foram abertas em capela de fluxo laminar e as colônias foram expostas ao vapor de clorofórmio (Synth®), pela adição de 1 mL do mesmo em papel filtro na tampa da placa e fechando a mesma por 30 minutos para promover a morte das células. Em seguida, as placas foram abertas, ainda no fluxo, por mais 30 minutos, para evaporação do clorofórmio residual.

Transcorrido esse tempo, 10ul de uma solução da bactéria patogênica a concentração de aproximadamente  $10^8$  UFC foi adicionada à 10 mL de ágar a 42°C líquido. O ágar acrescido da amostra de bactéria patogênica foi vertido cuidadosamente sobre cada placa contendo as linhagens de probióticos. As placas inoculadas com *Salmonella* e APEC foram incubadas em estufa bacteriológica a 37°C por 24 horas e as placas inoculadas com CP foram incubadas em anaerobiose a 37°C por 24 horas

### **3.5. Inoculação de *Campylobacter***

A cepa utilizada foi estriada na placa de petri com ágar Campy Blood Free Selective Medium – CCDA (Neogen®) (CCDA) e incubada em microaerofilia durante 48 horas a 40°C. Após esse período, as colônias foram diluídas em caldo Bolton com 1% de extrato de levedura e 5% de sangue. Dessa diluição, foram utilizados 100ul misturados em 10ml ágar CCDA líquido e inoculados nas placas petri contendo spots de LA, LD, LL, LP e SB. Prontamente, após isso, foi incubado em microaerofilia, por 48 horas a 40°C.

### **3.6. Avaliação dos resultados**

O halo de inibição formado ao redor dos *spots* das culturas probióticas foi medido com o auxílio de uma régua milimetrada medindo o raio em oito (8) diferentes direções. O cálculo do diâmetro do halo foi realizado ajustando a 6,5 mm de diâmetro o *spot* de cultura, que é o diâmetro semelhante a um disco de antibiótico para antibiograma, e a determinação da capacidade antagonista dos isolados foi realizada de acordo com Santos (1984), sendo considerada como inibição muito forte as zonas acima de 20 mm de diâmetro; inibição forte, de 15 a 19 mm; moderada, de 11 a 14 mm; fraca, de 9 a 10 mm; e nenhuma inibição, menor que 9 mm.

Todo o trabalho foi realizado em três repetições por tratamento com a avaliação dos diâmetros em oito (8) direções diferentes, onde foi feita a média das oito (8) direções. Ademais, controle negativo e controles positivos foram inseridos a todo momento da análise além dos controles com antibióticos.

Foi realizada análise estatística considerando uma significância de 0,05, usando o teste da análise variância (ANOVA) seguido pelo teste de Tukey. O programa utilizado foi o GraphPad Prism 10.0.

#### 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O efeito inibitório do LA, LP e *blend* foi muito forte para todas as bactérias patogênicas testadas, sendo superior aos resultados dos demais microrganismos probióticos, com exceção da inibição do LD sobre SH que apresentou um resultado similar a LA, LP e *blend* e, também para CP que apresentou resultado similar ao *blend* e LA, e superior à LP.

Os resultados de LA e LP foram similares ao do *blend* exceto do efeito sobre SH em que o *blend* apresentou um resultado superior (Tabela 1).

Tabela 1. Média de halo de inibição das bactérias patogênicas pelas bactérias probióticas testadas

	LA	LP	LD	LL	SB	Blend
<i>S. Heidelberg</i>	44,17b	43,08b	26,00c	6,50d	6,50d	78,50a
<i>S. Enteritidis</i>	49,17a	49,50a	15,58b	6,50b	6,50b	52,50a
<i>S. Minnessota</i>	50,17a	44,88a	6,50b	10,50b	6,50b	43,8a
<i>S. Infantis</i>	45,50a	43,25a	6,50b	10,83b	6,50b	52,17a
<i>S. Tiphymurium</i> (cepa a)	48,17a	43,08a	19,33b	6,50b	6,50b	56,50a
<i>S. Tiphymurium</i> (cepa b)	48,83a	49,75a	19,83b	6,50c	6,50c	
APEC (cepa a)	39,50a	43,42a	23,25b	10,08b	6,50b	45,83a
APEC (cepa b)	29,50a	29,67a	16,08b	6,50b	6,50b	48,50a
<i>C. jejuni</i>		50,25	47,58	14,38	6,50	
<i>C. perfringens</i>	25,83	22,88	26,38	15,75	6,50	27,17

Fonte: Elaboração própria.

Fonte: Elaboração própria.

LA=*Lactobacillus acidophilus*, LP=*Lactobacillus plantarum*, LD=*Lactobacillus delbrueckii*, LL=*Lactococcus lactis*, SB=*Saccharomyces boulardii*. A cor verde representa inibição muito forte, a cor amarela representa inibição forte, a cor laranja representa inibição moderada, a cor azul representa inibição fraca e a cor cinza representa ausência de inibição. Letras diferentes na mesma linha mostram diferença estatística.

Infelizmente por um problema no laboratório a análise de CJ não foi realizada para LA, mas os resultados de LP mostram uma inibição muito forte similar a LD, mas superior a LL e SB.

LD apresentou um efeito inibitório muito forte para SH, forte para SE, ST, APEC (cepa b) e CJ sem efeito sobre SM e SI. Embora com resultados de inibição muito forte ou forte, em

nenhum resultado LD foi superior a LL ou SB, com exceção da inibição sobre SH. LD teve um efeito de inibição muito forte sobre CJ superior a LL e SB.

A LL apresentou efeito forte sobre CP, moderado sobre CJ, fraco sobre SM, SI e APEC (cepa a) e sem efeito sobre as demais. Os resultados da LL foram similares a LD ou SB em todas as situações exceto o resultado para SH em que LD foi superior. LL apresentou uma inibição moderada sobre CJ inferior a LP e LL, mas superior a SB que não inibiu CJ.

SB não apresentou efeito inibitório em nenhuma das cepas testadas. É interessante notar que a LD apresentou um efeito de inibição muito forte para a APEC (cepa a) e forte para APEC (cepa b), conforme demonstrado na Tabela 1.

Os resultados de LP e LA sobre a inibição de bactérias patogênicas no geral foram superiores as das outras bactérias (Tabela 1). As bactérias LA e LP podem produzir bacteriocinas, substâncias antimicrobianas que têm a capacidade de matar ou inibir o crescimento de bactérias patogênicas. As bacteriocinas produzidas por LP são várias, como plantaricina, bacteriocina J23, ST28MS, ST26MS, JW3BZ, JW6BZ, plantaricina C-11, plantaricina NA, bacteriocina AMA-K, que tem capacidade de inibir bactérias patogênicas tanto Gram positivas quanto Gram negativas, isso explica o resultado satisfatório de LP. A bacteriocina plantaricina JLA-9, produzida por LP, exibe atividade antibacteriana de amplo espectro contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. (Hernández-González *et al.*, 2021; Darbandi *et al.*, 2021)

A LA produz bacteriocinas como acidocina CH5 e acidocina D20079. A acidocina CH5 é seletiva contra bactérias Gram-positivas, enquanto a acidocina D20079, de baixo peso molecular, destaca-se pela resistência a extremos de pH e calor, mostrando atividade inibitória em um espectro mais limitado (Darbandi *et al.*, 2022). Outros autores apontam que a suplementação com LA e LP pode reduzir a prevalência de patógenos intestinais, como *Salmonella spp.*, *Escherichia coli* e *Clostridium perfringens*, e melhorar a saúde intestinal. No entanto, a eficácia dessas bactérias probióticas pode variar dependendo da espécie animal, da dose e da formulação utilizada (Hernández-González *et al.*, 2021)

A LD, também, é capaz de produzir bacteriocinas incluindo delbrucina, acidophilina e lactacina F. A delbrucina trata-se de uma bacteriocina com amplo espectro de ação, eficaz contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas (Darbandi *et al.*, 2022) o que permite a inibição de patógenos *in vivo* e *in vitro* apresentado em um estudo para *E. coli* e *S. Typhimurium* (Jesus *et al.*, 2022). Já no presente trabalho, LD apresentou efeito inibitório muito forte para SH e forte para SE, ST, APEC (cepa b) e CJ. Contudo, LD não apresentou efeito inibitório sobre SM e SI. Esses resultados mostram que há bactérias patogênicas que resistem a ação de

LD. Adicionalmente, LD apresentou um efeito muito forte sobre APEC cepa a e forte para a APEC cepa b mostrando que a ação da LD varia dependendo da espécie, sorotipo e cepa patogênica.

O efeito inibitório dependente da espécie ou sorotipo probiótico também ocorre com a LL que apresenta efeito forte sobre CP, moderado sobre CJ e efeito fraco ou sem efeito nas demais. LL é uma bactéria isolada principalmente do leite e queijo e produz bacteriocinas como nisina, lacticina 481, lacticina 3147 e lactococina G e pode ter efeito inibitório sobre Gram-positivas, como *Clostridium* (Darbandi *et al.*, 2022). Isso pode explicar o resultado de inibição muito forte da LL sobre o CP.

Em todos os resultados, se observa a falta de formação de halo de inibição de todas as bactérias patogênicas testadas quando se utiliza a SB. Embora nesse trabalho a SB não tenha tido efeito inibitório sobre bactérias patogênicas, trabalhos *in vivo* mostram que essa levedura tem efeito protetor, tornando um ambiente saudável no trato gastrointestinal, contribuindo para homeostase da microbiota normal do trato gastrointestinal (Pais *et al.*, 2020).

Trabalhos prévios *in vitro* para selecionar microrganismos probióticos de acordo com o objetivo na produção animal são muito importantes para diminuir número de animais testados, custos e trabalho. O objetivo de controlar patógenos é um tema crucial para avicultura já que *Salmonella*, APEC, CJ e CP são bactérias que desafiam o setor. Nesse trabalho foi utilizado diferentes espécies de microrganismos probióticos e foi possível perceber a melhor ação de LA, LP. Porém, o uso de *blend* pode potencializar a ação, dando um resultado mais robusto para algumas bactérias importantes como a SH.

Os probióticos podem de fato serem usados como um *blend*. Em alguns estudos, foram demonstrados a eficácia da utilização da junção dos probióticos, com apresentação de um resultado melhor em comparação ao controle (Bowen, 2007). A junção de diferentes cepas de probióticos pode ter efeitos sinérgicos, aumentando a eficácia na modulação da microbiota intestinal e na resposta imune do hospedeiro. Além disso, a junção de diferentes cepas pode permitir que os probióticos tenham um espectro mais amplo de atividade antimicrobiana, inibindo o crescimento de uma variedade de patógenos intestinais. No entanto, é importante notar que nem todas as combinações de cepas probióticas são eficazes, e que a eficácia dos probióticos pode depender da dose entre outros fatores (Thomas *et al.*, 2010).

Para exemplificar, um centro de estudo destaca os benefícios da combinação de leveduras e bactérias, ressaltando a interação e ação conjunta entre esses microrganismos. Suas funções complementares envolvem a levedura, vinculando-se a bactérias oportunistas e estabelecendo comunicação com células epiteliais e a microflora intestinal. Enquanto isso, as

bactérias exercem efeito por meio da produção de metabolitos e competem com bactérias externas pela adesão às células epiteliais e nutrientes. Ambos, leveduras e bactérias, têm a capacidade de estimular e modular o sistema imunológico, fortalecendo as defesas do organismo (Maillet, 2023). Portanto, a utilização de um *blend* tem um importante papel da criação de ambiência e força aos demais probióticos (Pais *et al.*, 2020; Salman *et al.*, 2023).



## 5 CONCLUSÃO

A ação dos probióticos sobre a inibição de patógenos importantes na avicultura pode ser espécie, sorotipo e cepa patogênica dependente. Os probióticos testados demonstraram eficácia na inibição de cepas patogênicas de interesse para a avicultura sendo os resultados gerais de LA, LP e o *blend* com efeito inibitório melhor que LD, LL e SB, embora, LD tenha um ótimo efeito sobre SH e CP.

Contudo, apesar dos progressos alcançados, a pesquisa também aponta para a necessidade de estudos adicionais, especialmente no que diz respeito às bacteriocinas, visando uma detecção mais específica.

## REFERÊNCIAS

- ABPA – Associação Brasileira de Proteína Animal. **Relatório 2023**. Disponível em: <https://abpa-br.org/wp-content/uploads/2023/04/Relatorio-Anual-2023.pdf>. Acesso em: 07 out. 2023.
- ABD EL-HACK. E.H.; EL-SAADONY, M.; E SHAFI, M.; QATTAN, S.Y.A. *et al.* Probiotics in poultry feed: A comprehensive review. **J Anim Physiol Anim Nutr**, p. 1835-1850, 2020.. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32996177/>. Acesso em: 15 ago. 2023.
- ABD EL-HACK. E.H.; EL-SAADONY, M.; ELBESTAWY, A.R.; EL-SHALL, N.A. *et al.* Necrotic enteritis in broiler chickens: disease characteristics and prevention using organic antibiotic alternatives – a comprehensive review. **Poultry Science**, 2022. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0032579121006118>. Acesso em: 07 nov. 2023.
- ARAÚJO, J. L. **Impactos das salmoneloses na avicultura e na saúde pública: uma revisão de literatura**. 2020. 20f. Monografia (Graduação em Medicina Veterinária) - Centro de Ciências Agrárias, Universidade Estadual da Paraíba, UEPB, Areias, 2020. Disponível em: <https://repositorio.ufpb.br/jspui/handle/123456789/19161>>. Acesso em: 30 out. 2023.
- BERNARDO, G.L. Cenário da avicultura no Brasil e as principais afecções - Revisão de literatura. 2022. 34f. Monografia (Graduação em Medicina Veterinária) - Centro de Ciências Agrárias, Universidade Estadual da Paraíba, UEPB, Areias, 2022. Disponível em: <https://repositorio.ufpb.br/jspui/bitstream/123456789/25620/1/GLB26122022-MV395.pdf>. Acesso em: 11 nov. 2023.
- BOLTON, D.J. Campylobacter virulence and survival factors. **Food Microbiol**, 2015, p. 99-108. Disponível: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25790997/>. Acesso em: 30 out. 2023.
- BOWEN, J.M.; STRINGER, A.M.; GIBSON, R.J.; YEOH, A.S.J. VSL#3 probiotic treatment reduces chemotherapy-induced diarrhea and weight loss, **Cancer Biology & Therapy**, p.1445-1450. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17881902/>. Acesso em: 04 nov. 2023.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Salmonella (Salmonelose)**. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/s/salmonella>. Acesso em: 04 nov. 2023.
- COELHO-ROCHA, N.D.; DE JESUS, L.C.; BARROSO, F.A.L. SILVA, T.F. *et al.* Evaluation of Probiotic Properties of Novel Brazilian *Lactiplantibacillus plantarum* Strains. **Probiotics & Antimicro**, p.160–174, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12602-022-09978-6>. Acesso em: 15 ago. 2023.
- COMPARE, D.; SGAMATO, C.; NARDONE, O.M.; ROCCO, A. *et al.* Probiotics in Gastrointestinal Diseases: All that Glitters Is Not Gold. **Dig Dis**, p. 123-132, 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33752212/>. Acesso em: 20 out. 2023.
- DARBANDI, A., ASADI, A., MAHDIZADE ARI, M., OHADI, E., TALEBI, M., HALAJ ZADEH, M., DARB EMAMIE, A., GHANAVATI, R., KAKANJ, M. Bacteriocins: Properties

and potential use as antimicrobials. **J Clin Lab Anal.** 2022 Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34851542/> Acesso em: 03 nov. 2023.

DE JESUS, L.CL., ABURJAILE, F.F.; SOUZA, T.J.; FELICE, A.G. *et al.* Genomic Characterization of *Lactobacillus delbrueckii* Strains with Probiotics Properties. **Front Bioinform,** 2022. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fbinf.2022.912795/full>. Acesso em: 26 ago. 2023.

EVANGELISTA, A.G.; MATTÉ, E.H.C.; CORRÊA, J.A.F.; GONÇALVES, F.D.R. Bioprotective potential of lactic acid bacteria for Salmonella biocontrol in vitro. **Vet Res Commun,** 2023, p. 1357-1368. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36823482/>. Acesso em: 06 set. 2023.

FERRARI, R.G.; CUNHA-NETO, A.; MANO, S.B.; FIGUEIREDO, E.E.S. *et al.* Worldwide Epidemiology of *Salmonella* Serovars in Animal-Based Foods: a Meta-analysis. **Appl Environ Microbiol,** 2019. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31053586/>. Acesso em: 03 nov. 2023.

FRELET-BARRAND, A. *Lactococcus lactis*, an Attractive Cell Factory for the Expression of Functional Membrane Proteins. **Biomolecules,** 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35204681/>. Acesso em: 20 set. 2023.

GAO, H.; LI, X.; CHEN, X.; HAI, D. *et al.* The Functional Roles of *Lactobacillus acidophilus* in Different Physiological and Pathological Processes. **J Microbiol Biotechnol,** 2022, p. 1226-1233. 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36196014/>. Acesso em: 05 out. 2023.

GUT, A.M.; VASILJEVIC, T.; YEAGER, T.; DONKOR, O. N. Salmonella infection - prevention and treatment by antibiotics and probiotic yeasts: a review. **Microbiology,** 2018, p.1327-1344. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30136920/>. Acesso em: 18 set. 2023.

HERNÁNDEZ-GONZÁLEZ, J.C.; MARTÍNEZES-TAPIA, A.; LAZCANO-HERNÁNDEZ, G.; FÁRCIA-PÉRESZ, B.E. *et al.* Bacteriocins from Lactic Acid Bacteria. A Powerful Alternative as Antimicrobials, Probiotics, and Immunomodulators in Veterinary Medicine. **Animals,** 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33915717/>. Acesso em: 15 nov. 2023.

KATHAYAT, D.; Lokesh, D.; Ranjit, S.; Rajashekara, G. Avian Pathogenic *Escherichia coli* (APEC): An Overview of Virulence and Pathogenesis Factors, Zoonotic Potential, and Control Strategies. **Pathogens,** 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33921518/>. Acesso em: 4 out. 2023.

LI, T.; CASTAÑEDA, C.D.; MIOTTO, J.; MCDANIEL, C. *et al.* Effects of in ovo probiotic administration on the incidence of avian pathogenic *Escherichia coli* in broilers and an evaluation on its virulence and antimicrobial resistance properties. **Poult Sci,** 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33518345/>. Acesso em: 06 nov. 2023.

LI, Z.; WANG, W.; LIU, D.; GUO, Y. Effects of *Lactobacillus acidophilus* on gut microbiota composition in broilers challenged with *Clostridium perfringens*. **PLoS One**, 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29190649/>. Acesso em: 13 out. 2023.

MAILLET, R. Proven Complementary Effect of Probiotic Yeast and Bacteria. **Microbiome Times**, 2023. Disponível em: <https://www.microbiometimes.com/proven-complementary-effect-of-probiotic-yeast-and-bacteria/>. Acesso em: 07 nov. 2023.

MENDES, A. A. **Produção de frangos de corte**. 2. ed. FACTA, 2014.

NEVELING, D.P.; DICKS, L.M. Probiotics: an Antibiotic Replacement Strategy for Healthy Broilers and Productive Rearing. **Probiotics & Antimicro**, p.1–11, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12602-020-09640-z>. Acesso em: 15 ago. 2023.

PAIS, P.; ALMEIDA, V.; YILMAZ, M.; TEIXEIRA, M.C. *Saccharomyces boulardii*: What Makes It Tick as Successful Probiotic? **J Fungi**, 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32512834/>. Acesso em: 3 out. 2023.

RIBAS, C.B. **Estudo das alterações histopatológicas e ultraestruturais do intestino delgado de frangos infectados experimentalmente com *Eimeria* spp. e *Clostridium perfringens* para desenvolvimento de enterite necrótica**. 2020, 51f. Dissertação (Mestrado em Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres), Universidade de São Paulo, USP, 2020. Acesso em: 05 nov. 2023.

RIJKERS, G.; DE VOS, W.; BRUMMER, R.; MORELLI, L. *et al.* Health benefits and health claims of probiotics: Bridging science and marketing. **British Journal of Nutrition**, p.1291-1296, 2011. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21861940/>. Acesso em: 10 out. 2023.

ROTH, N.; KÄSBOHER, A.; MAYRHOFER, S.; ZITZ, U *et al.* The application of antibiotics in broiler production and the resulting antibiotic resistance in *Escherichia coli*: A global overview. **Poult Sci**, 2019, p.1791-1804. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30544256/>. Acesso em: 10 ago. 2023.

SALMAN, M.K.; ABUQWIDDER, J; MAURIELLO, G. Anti-Quorum Sensing Activity of Probiotics: The Mechanism and Role in Food and Gut Health. **Microorganisms**, 2023, Disponível em: <https://doi.org/10.3390/microorganisms11030793>. Acesso em: 10 out. 2023.

SANTOS, C. M. **Clostridioses: patogenia, prevenção e vacinas**. 2020. 32f. Monografia (Graduação em Farmácia-Bioquímica) - Universidade de São Paulo, USP, São Paulo. Disponível em: <https://repositorio.usp.br/directbitstream/18c58980-8591-4467-804b-7745be6e1dea/3061539.pdf>. Acesso em: 01 nov. 2023.

SHEN, A.; EDWARDS, A.N.; SARKER, M.R.; PAREDES-SABJA, D. Sporulation and Germination in Clostridial Pathogens. **Microbiol Spectr.**, 2019. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6927485/>. Acesso em: 10 nov. 2023.

SILVA, G.P. Em carne de frango na última década: uma revisão. **Archives of Veterinary Science**, v. 27, n. 1, 2022.

SVETOCH, E.A.; STERN, N.J. Bacteriocins to control **Campylobacter** spp. in poultry - A review. **Poultry Science**, 2010, p. 1763-1768. Disponível em: <https://doi.org/10.3382/ps.2010-00659>. Acesso em: 20 out. 2023.

THOMAS, C.M.; VERSALOVIC, J. Probiotics-host communication: Modulation of signaling pathways in the intestine. **Gut Microbes**, 2010. Disponível: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20672012/>. Acesso em: 9 nov. 2023.

THOMRONGSUEANNAKIJ, T; RUETHAI, N.; MAHAWAN, T.; BLACKALL, P.J. Molecular and phenotypic characterization of avian pathogenic *Escherichia coli* isolated from commercial broilers and native chickens. **Poultry Science**, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.101>. Acesso em: 06 nov. 2023.

ZHANG, L.; WANG, Y.; ZHANG, R; JIA, H. *et al.* Effects of three probiotics and their interactions on the growth performance of and nutrient absorption in broilers. *Peer J*, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.7717/peerj.13308>. Acesso em: 15 ago. 2023.