MARCO AURÉLIO ELMER LOPES

**Isolamento e identificação de bactérias do trato entérico de
avestruzes e a sua aplicação na exclusão competitiva de patógenos
entéricos**

São Paulo

2007

MARCO AURÉLIO ELMER LOPES

**Isolamento e identificação de bactérias do trato entérico de
avestruzes e a sua aplicação na exclusão competitiva de patógenos
entéricos**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Patologia Experimental e Comparada da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para a obtenção do título de Mestre em Ciências

Departamento:

Patologia

Área de concentração:

Patologia Experimental e Comparada

Orientador:

Prof. Dr. Antonio José Piantino Ferreira

São Paulo

2007

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virginie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T.1888
FMVZ

Lopes, Marco Aurélio Elmer

Isolamento e identificação de bactérias do trato entérico de avestruzes e ação na exclusão competitiva de patógenos entéricos / Marco Aurélio Elmer Lopes. – São Paulo : M. A. E. Lopes, 2007.
7 8 f. : il.

Dissertação (mestrado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Patologia, 2007.

Programa de Pós-Graduação: Patologia Experimental e Comparada.
Área de concentração: Patologia Experimental e Comparada.

Orientador: Prof. Dr. Antônio José Piantino Ferreira.

1. Avestruz. 2. Exclusão competitiva. 3. Salmonella.. I. Título.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
Cidade Universitária "Armando de Salles Oliveira"
Comissão Bioética

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Isolamento e identificação de bactérias do trato entérico de avestruzes e sua ação na exclusão competitiva de patógenos entéricos", protocolo nº 249/2003, utilizando 04 avestruzes, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Antonio José Piantino Ferreira, está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da Comissão de Bioética da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e foi aprovado "ad referendum".

(We certify that the Research "Isolation and identification of ostrich enteric bacteria and its action on competitive exclusion on enteric pathogen" protocol number 249/2003, utilizing 04 ostriches, under the responsibility of Prof. Dr. Antonio José Piantino Ferreira, agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by Biotic Commission of the Faculty of Veterinary Medicine and Zootechny of University of São Paulo and was approved "ad referendum").

São Paulo, 04 de junho de 2003

Profª Drª Júlia Maria Matera
Presidente da Comissão de Bioética
FMVZ/USP

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome: LOPES, Marco Aurélio Elmer

Título: Isolamento e identificação de bactérias do trato entérico de avestruzes e a sua aplicação na exclusão competitiva de patógenos entéricos

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Patologia Experimental e Comparada da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para a obtenção do título de Mestre em Ciências

Data: ____ / ____ / ____

Banca Examinadora

Prof Dr. _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

Prof Dr. _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

Prof Dr. _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

DEDICATÓRIA

Aos meus queridos pais, Rubens e Doris

Ao amor da minha vida, Luciana

A minha irmã, Michelle

Aos meus companheiros Buddy, Heart, Léo, Snow, Diana e Flica

Aos meus amigos

A toda minha família

Aos avestruzes

AGRADECIMENTOS

Antonio, que muito mais que um orientador, sempre foi um grande amigo;

Claudete, por todo conhecimento que me passou, e por sua grande dedicação e vontade em ajudar a todos no laboratório;

Pessoal do Laboratório, Jorge, Laura, André, Lidiane, Luciana, Maurício, Antonio Carlos, Carina, Maria José, Marcos Ivo, Eliana, Amarílis, Marcelo, Liliana, Mário Sérgio, Lucila, Matheus, Fernanda;

Amigos

Pessoal das Fazendas (Lagoa, Vereda, Primave, Alto da Mata, Avestro)

RESUMO

LOPES, M. A. E. **Isolamento e identificação de bactérias do trato entérico de avestruzes e a sua aplicação na exclusão competitiva de patógenos entéricos.** [Isolation and identification of ostrich enteric bacteria and its application on competitive exclusion of enteric pathogen]. 2007. 78 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

Bactérias da microbiota entérica de avestruzes foram isoladas e fermentadas (produto experimental denominado de ECOS). Em seguida, foram utilizadas na exclusão competitiva de *Salmonella Typhimurium* em pintinhos ("*Gallus gallus*") e em avestruzes recém nascidas ("*Struthio camelus*"). Os pintinhos e as avestruzes foram desafiados por via oral com a concentração de 1×10^4 UFC/ ave e 1×10^5 UFC/ ave, respectivamente. O ECOS reduziu significativamente a excreção de *Salmonella Typhimurium* em pintinhos e avestruzes recém nascidos infectados experimentalmente. O ECOS também reduziu significativamente os casos de enterites associadas à mortalidade em avestruzes, em testes de campo. Outros aspectos observados em avestruzes tratados a campo foram a redução do tempo de absorção do saco vitelínico e o aumento do ganho de peso. O ECOS mostrou ser uma importante ferramenta na melhoria dos índices zootécnicos em estrutiocultura.

Palavras-chave: Avestruz. Exclusão competitiva. *Salmonella*.

ABSTRACT

LOPES, M. A. E. **Isolation and identification of ostrich enteric bacteria and its application on competitive exclusion of enteric pathogen.** [Isolamento e identificação de bactérias do trato entérico de avestruzes e a sua aplicação na exclusão competitiva de patógenos entéricos]. 2007. 78 f. Tese (Mestrado em Ciências) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

Bacterias of ostrich enteric microbiota were isolated and fermented (product called ECOS). Afterwards, they were used into a competitive exclusion of Salmonella Typhimurium in chicks ("*Gallus gallus*") and in ostriches chicks ("*Struthio camelus*"). The chicks and the ostriches were challenged by oral administration by 1×10^4 UFC/ chick e 1×10^5 UFC/ chick, respectively. ECOS reduced the excretion of Salmonella Typhimurium in chicks and ostriches chicks experimentaly infected. ECOS reduced, as well, cases of enteric diseases associated to ostrich mortality, in field tests. Another aspect observed in field treated ostrich, was the reduction of yolk sac absorption time and the increase of weight gain. ECOS showed to be an important tool to increase the zootechnical standards in ostrich farming.

Key words: Ostrich. Competitive exclusion. Salmonella.

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 -	Mortalidade dos animais nos primeiros 60 dias de vida na propriedade 1...	52
Gráfico 2 -	Ganho de peso médio diário (g/ dia).	53
Gráfico 3 -	Mortalidade dos animais nos primeiros 60 dias de vida na propriedade 2...	54

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 -	Contagem total do número de bactérias, unidades formadoras de colônia por ml (UFC / ml) no conteúdo fecal e raspado de mucosa do avestruz A.	44
Quadro 2 -	Contagem total do número de bactérias, unidades formadoras de colônia por ml (UFC / ml) no conteúdo fecal e raspado de mucosa do avestruz B.	45
Quadro 3 -	Bactérias isoladas do conteúdo e do raspado intestinal dos avestruzes, meios utilizados para isolamento, e material de origem da bactéria.....	46
Quadro 4 -	Susceptibilidade das bactérias aos antibióticos: ácido nalidíxico, amicacina, ampicilina, bacitracina e ceftiofur.....	55
Quadro 5 -	Susceptibilidade das bactérias aos antibióticos: ciprofloxacina, clindamicina, cloranfenicol, enrofloxacina e estreptomicina.....	56
Quadro 6 -	Susceptibilidade das bactérias aos antibióticos: fosfomicina, florfenicol, gentamicina, kanacimina, lincospectin e neomicina.	57
Quadro 7 -	Susceptibilidade das bactérias aos antibióticos: sulfonamidas, tetraciclina, trimetropim, vancomicina.....	58
Quadro 8 -	Susceptibilidade do pool de bactérias aos antibióticos: ácido nalidíxico, amicacina, ampicilina, bacitracina e ceftiofur.....	58
Quadro 9 -	Susceptibilidade do pool de bactérias aos antibióticos: ciprofloxacina, clindamicina, cloranfenicol, enrofloxacina e estreptomicina.....	59

Quadro 10 -	Susceptibilidade do pool de bactérias aos antibióticos: fosfomicina, florfenicol, gentamicina, kanamicina, lincospectin e neomicina.....	59
Quadro 11 -	Susceptibilidade do pool de bactérias aos antibióticos: sulfonamidas, tetraciclina, trimetoprim e vancomicina.	59
Quadro 12 -	Ocorrência do isolamento de gêneros e espécies bacterianas em avestruzes, “Gallus gallus”, aves silvestres e mamíferos.	66

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Taxa de infecção por Salmonella Typhimurium em pintinhos “Gallus gallus” conforme tratamento.	47
Tabela 2 -	Nível de infecção por Salmonella Typhimurium em pintinhos “Gallus gallus” conforme tratamento em log10.....	48
Tabela 3 -	Fator de infectividade e fator de proteção conforme tratamento.	48
Tabela 4 -	Contagem de Unidades Formadoras de Colônia / por grama (UFC/ g) no Tratamento 2.	49
Tabela 5 -	Porcentagem de filhotes de avestruz, “Struthio camelus” infectados com Salmonella Typhimurium conforme tratamento.	49
Tabela 6 -	Nível de infecção das aves, “Struthio camelus”, conforme tratamento em log10.	50
Tabela 7 -	Fator de infectividade e fator de proteção conforme tratamento.	50
Tabela 8 -	Contagem de Unidades Formadoras de Colônia / por grama (UFC/g) no grupo tratado com exclusão competitiva (T1), e grupo controle positivo (T2).	51
Tabela 9 -	Mortalidade dos animais nos primeiros 60 dias de vida na propriedade 1.	52
Tabela 10 -	Ganho de peso médio diário (g/ dia).	52
Tabela 11 -	Mortalidade dos animais nos primeiros 60 dias de vida na propriedade 2.....	53

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
1.1 ORIGEM	16
1.2 <i>STRUTHIO CAMELUS</i>	18
1.3 PRODUTOS	19
1.4 CRIAÇÃO	20
1.5 DOENÇAS QUE ACOMETEM OS AVESTRUZES	25
1.6 GÊNEROS BACTERIANOS	27
1.7 EXCLUSÃO COMPETITIVA	30
2 OBJETIVOS	34
3 MATERIAIS E MÉTODOS	35
3.1 OBTENÇÃO, IDENTIFICAÇÃO E ISOLAMENTO DE BACTÉRIAS PARA A EXCLUSÃO COMPETITIVA	35
3.1.1 Coleta do material	35
3.1.2 Obtenção do conteúdo e raspado intestinal	35
3.1.3 Concentração das bactérias	36
3.1.4 Contagem do número total de bactérias	36

3.1.5 Isolamento e identificação de bactérias	36
3.1.6 Obtenção de bactérias para a exclusão competitiva	37
3.1.7 Controle de Qualidade	37
3.2 DETERMINAÇÃO DA EFICÁCIA ESTIMADA DA MASSA DE BACTÉRIAS DE EXCLUSÃO COMPETITIVA EM PINTINHOS “<i>GALLUS GALLUS</i>”	38
3.2.1 Desafio com <i>Salmonella</i> Typhimurium	38
3.2.2 Reisolamento de <i>Salmonella</i> Typhimurium	38
3.2.3 Eficácia dos tratamentos	39
3.2.4 Análise estatística	39
3.3 DETERMINAÇÃO DA EFICÁCIA ESTIMADA DA MASSA DE BACTÉRIAS DE EXCLUSÃO COMPETITIVA EM FILHOTES DE AVESTRUZ (<i>STRUTHIO CAMELUS</i>)	39
3.3.1 Desafio com <i>Salmonella</i> Typhimurium	40
3.3.2 Reisolamento de <i>Salmonella</i> Typhimurium	40
3.3.3 Eficácia dos tratamentos	41
3.3.4 Análise estatística	41
3.4 DETERMINAÇÃO DA EFICÁCIA ESTIMADA DA MASSA DE BACTÉRIAS DE EXCLUSÃO COMPETITIVA EM AVESTRUZES A CAMPO	41

3.4.1 Teste a campo com filhotes de avestruzes	42
3.5 PERFIL DE SUSCEPTIBILIDADE DAS BACTÉRIAS DE EXCLUSÃO COMPETITIVA A DIFERENTES ANTIBIÓTICOS	42
3.5.1 Perfil de susceptibilidade à antibióticos	43
4 RESULTADOS	44
4.1 CONTAGEM DO NÚMERO TOTAL DE BACTÉRIAS	44
4.2 ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DE BACTÉRIAS	45
4.3 OBTENÇÃO DE BACTÉRIAS PARA A EXCLUSÃO COMPETITIVA E CONTROLE DE QUALIDADE	47
4.4 DESAFIO COM <i>SALMONELLA</i> TYPHIMURIUM E REISOLAMENTO	47
4.5 DESAFIO COM <i>SALMONELLA</i> TYPHIMURIUM E REISOLAMENTO EM FILHOTES DE AVESTRUZ	49
4.6 DETERMINAÇÃO DA EFICÁCIA ESTIMADA DA MASSA DE BACTÉRIAS DE EXCLUSÃO COMPETITIVA EM AVESTRUZES A CAMPO	51
4.7 PERFIL DE SUSCEPTIBILIDADE DAS BACTÉRIAS DE EXCLUSÃO COMPETITIVA A DIFERENTES ANTIBIÓTICOS	54
5 DISCUSSÃO	60
6 CONCLUSÕES	68
REFERÊNCIAS	69

1 INTRODUÇÃO

A criação de avestruzes iniciou no Brasil em 1995, com rápida expansão. Com isso, apareceram diversas doenças, muitas das quais com difícil diagnóstico devido a pouca informação disponível até o momento. No mundo todo, também há um déficit de informações a respeito de ratitas, e com um número crescente de animais, tornaram-se importantes pesquisas nesta área.

1.1 ORIGEM

O avestruz (*Struthio Camelus*), ou também conhecida como ave-camelo, recebeu este nome em 1758 por Linnaeus, baseado no grego e no latim, devido as suas semelhanças com o dromedário (DEEMING, 1999).

Sua existência no planeta data a mais de 20 milhões de anos, com achados arqueológicos ao redor do mar mediterrâneo e na Namíbia. Também são citados em pinturas egípcias, assim como se sabe que as plumas eram usadas por generais romanos e suas esposas com artigos decorativos (BUXADÉ, 2003). Na Roma, acreditava-se que tais plumas tinham enorme poder, assim como para os egípcios, a simetria das plumas simbolizava justiça (KREIBICH; SOMMER, 1995).

Os egípcios também utilizavam os ovos de avestruzes para aplicações medicinais (KREIBICH; SOMMER, 1995), e em 3000 A.C., cascas vazias eram usadas como copos (DEEMING, 1999).

Os avestruzes inicialmente habitavam uma faixa que seguia do mediterrâneo espanhol até leste da China, migrando depois para o continente africano, ocupando o norte, leste e sul do continente (KREIBICH; SOMMER, 1995).

Durante séculos, a demanda por plumas de avestruzes foi suprida pela caça da ave sem a tentativa de criá-la. A primeira tentativa de criação foi feita pelo imperador Barbarossa (1125 – 1190), porém sem sucesso (KREIBICH; SOMMER, 1995).

Em 1838, a África do Sul exportou as primeiras plumas de avestruz para a Europa. Com o aumento da demanda, em 1850, a população de aves sofreu grande declínio, sendo

necessário novo esforço para a domesticação do animal, sendo que as primeiras plumas obtidas de criações ocorreram em 1863 (HAYES, 2003).

Com o desenvolvimento da incubação artificial entre 1850 e 1870, a criação de avestruzes se tornou uma atividade extremamente interessante economicamente (KREIBICH; SOMMER, 1995; HAYES, 2003).

A partir desse momento, a África do Sul começou a se destacar no cenário mundial, sendo que Little Karoo, ao redor de Oudtshoorn, se tornou o grande centro da indústria do avestruz (KREIBICH; SOMMER, 1995). Este fato se mantém até os dias atuais, sendo a cooperativa Klein Karoo Landboukoöperasie (KKLK), localizada em Oudtshoorn, fundada em 1945, detém cerca de 70% do mercado mundial de plumas, carne e couro.

O setor passou por uma crise, que durou da primeira guerra mundial (1914-1918) até a segunda guerra mundial (1939-1945), devido a um efeito sócio econômico geral, com a chegada dos automóveis e seus efeitos na moda feminina, a campanha anti-pluma como uma extravagância, a superprodução de plumas, e a comercialização desorganizada (HAYES, 2003).

A recuperação ocorreu após a segunda guerra mundial. O primeiro abatedouro de avestruzes surgiu em 1963, sendo expandido em 1974, feito pela KKLK. Em 1981, um novo abatedouro foi aberto, sendo que anualmente são abatidos cerca de 300.000 avestruzes (DEEMING, 1999).

No Brasil, os primeiros animais foram importados em 1995, sendo as aves provenientes dos Estados Unidos, África do Sul e Namíbia.

Em 1997, ocorreu um incidente que paralisou momentaneamente as importações. Autoridades do Ministério da Agricultura e do Abastecimento (MAA), atual Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), detectaram a presença, no aeroporto, do vírus de Newcastle em animais importados (CARRER et al., 1999).

No final da década, surgiu a ACAB (Associação dos Criadores de Avestruz do Brasil) para o início da organização da atividade no Brasil.

A partir do ano 2000, surgiram as associações regionais, tais como a AEPE, Associação dos Empreendedores Paulistas da Estruticultura, no estado de São Paulo.

Segundo a ACAB, em 2002, o plantel brasileiro possuía cerca de 120 mil animais, e já em 2004, o país possui cerca de 175 mil avestruzes.

Apesar de não ser em grande número, se comparado com as cifras sul-africanas, já existem diversos abates ocorrendo no Brasil, gerando produtos para a divulgação da ave no país.

1.2 STRUTHIO CAMELUS

O avestruz é a maior ave existente atualmente na natureza, alcançando de 2 a 3 metros de altura, e pesando cerca de 90 a 150 kg. Sua longevidade chega a 70 anos (CARRER et al., 1999).

O avestruz está inserido no grupo das ratitas, que são aves corredoras, as quais não são capazes de voar. Há a ausência de quilha sobre o esterno, assim como não há musculatura peitoral (HUCHZERMEYER, 2000), mas apresentam grande musculatura nas pernas, o que lhe confere grande capacidade de correr, alcançando 70 Km/h (CARRER et al., 1999).

Dentre as ratitas, é o único que possui apenas dois dedos, enquanto que as demais possuem três dedos, emu (Austrália), ema (América do Sul), casuares (Austrália e Nova Guiné) e kiwis (Nova Zelândia) (HUCHZERMEYER, 2000).

É um animal com grande capacidade de adaptação, habitando desde regiões de deserto, até regiões com a presença de neve (HUCHZERMEYER, 2000; BUXADÉ, 2003).

A avestruz é composta por três raças, além da combinação delas.

A Blue Neck é derivada de populações de S.c. australis e S. c. molybdophanes (DEEMING, 1999). Sua principal característica é sua pele de coloração azulada.

A Red Neck é derivada de populações de S.c. massaicus (DEEMING, 1999). A diferenciação ocorre por sua pele ter coloração avermelhada, mesmo fora das épocas de reprodução.

A African Black é a raça mais utilizada para criações comerciais, já que são animais mais dóceis, de menor estatura, porém maior desenvolvimento de plumas e melhor rendimento de carcaça (DEEMING, 1999). A raça foi desenvolvida no início do século 20 por programa de criadores da África do Sul (DEEMING, 1999), sendo formado por S.c. australis, S.c. camelus e S.c. syriacus (CARRER et al., 1999).

O dimorfismo sexual dos avestruzes só ocorre após os 14 a 18 meses (CARRER; KORNFIELD, 1999). Os machos adquirem plumagem preta, com as pontas de asas brancas, e as fêmeas adquirem plumagem cinza. Os machos durante o período de reprodução desenvolvem coloração avermelhada no bico, ao redor dos olhos, na pele, e na perna (tarsometatarso) (KREIBICH; SOMMER, 1995).

O avestruz é uma espécie de hábitos gregários, formando grupos de diversas idades, principalmente ao redor de fontes de água, os quais podem chegar a centenas de aves (DEEMING; BUBIER, 1999). Quanto maior o grupo de animais, maior será a sensação de

segurança que o animal terá, já que grandes grupos podem identificar inimigos mais rapidamente, podendo desse modo dedicar maior tempo para a alimentação (BERENDSEN, 1995).

Os avestruzes, apesar de também se relacionar com outras espécies animais, procuram manter distância, havendo pouco contato com as diversas espécies na natureza (BERENDSEN, 1995).

1.3 PRODUTOS

Do avestruz se diz que tudo se aproveita. O que não deixa de ser verdade, sendo que os principais produtos explorados economicamente são a carne, o couro, as plumas. Os outros produtos que são aproveitados na ave são cascas de ovos inférteis (CARRER; KORNFELD, 1999), e óleo para uso em cosméticos (SALES, 1999). Na África do Sul e Estados Unidos também são exploradas as visitas de turistas nas criações, através da cobrança de ingressos e venda de produtos (KREIBICH; SOMMER, 1995b).

A carne do avestruz atualmente é uma das carnes mais valorizadas do mercado, sendo o quilo cotado de R\$ 50,00 a 80,00. Trata-se de uma carne muito apreciada principalmente por suas características como a maciez, baixos índices de gordura e colesterol, além de ser uma carne vermelha (CARRER; KORNFELD, 1999).

As aves são abatidas em torno de 12 a 14 meses, gerando cerca de 30 a 35 quilos de carne (SALES, 1999). Sua carne está concentrada principalmente na coxa e sobrecoxa, já que as ratitas são aves corredoras, e não possuem musculatura peitoral (HUCHZERMEYER, 2000).

O couro do avestruz é um de seus produtos mais valorizados. De acordo com Kreibich e Sommer (1995b), a pele do animal responde por 60 % da renda obtida na exploração de seus produtos.

Uma ave abatida rende de 1,1 a 1,5 m² de couro (CARRER; KORNFELD, 1999), e seu valor dependerá de sua qualidade, avaliada por sua espessura, tamanho, número e distribuição dos folículos, ausência de furos, de lesões, ou de manchas (SALES, 1999).

De acordo com a cooperativa Klein Karoo (KKLK), na África do Sul, cuidados na criação dos animais são muito importantes, já que lesões causadas por queimaduras de sol, escoriações desvalorizam demasiadamente o valor da peça.

A idade do animal também é muito importante, já que quanto maior a idade da ave, maior será a espessura da pele e, portanto, menor será a maciez do couro.

A área de maior valor do couro é a chamada “diamante”, aonde há maior concentração de folículos e, portanto, a área a qual se dá a classificação da peça (SALES, 1999).

As plumas dos avestruzes têm uma forma única, com grande simetria. Ao contrário das penas de aves voadoras, não possui interligações, o que garante grande maciez (SALES, 1999).

O Brasil é o maior importador mundial de plumas, chegando a 10 a 15 toneladas por ano. As plumas são usadas principalmente nas festas de carnaval, além de terem utilidade em outras festas, indústria automobilística e de informática (CARRER; KORNFIELD, 1999).

O animal tem 4 fases distintas de plumagem: plumagem do nascimento, plumagem de filhote, plumagem de adolescente e plumagem de adulto (KREIBICH; SOMMER, 1995).

Na África do Sul, país aonde há historicamente uma grande exploração do mercado de plumas, as plumas são retiradas a cada 8 meses, o chamado “sistema de 8 meses” (SALES, 1999). As plumas também são retiradas, neste caso por completo, no abate dos animais. São obtidas em torno de 2 Kg de plumas por animal (KREIBICH; SOMMER, 1995b).

Posteriormente à retirada das plumas, seja de animais vivos ou de animais abatidos, as plumas sofrem um processo de seleção baseado nas características comercialmente importantes, e classificadas em classes de 1 a 5. As características são o tamanho, forma, densidade, força, maciez, qualidade, lustre, aparência, ausência de falhas e defeitos (SALES, 1999).

1.4 CRIAÇÃO

O setor de reprodução é o local onde se começa o início da produção de avestruzes, pois será deste local que sairão os ovos e, portanto, o desempenho deste setor será fundamental para o sucesso da criação.

O sucesso da criação pode ser mensurado por alguns fatores, tais como, número de ovos postos, taxa de fertilidade, taxa de nascimento, e sobrevivência dos filhotes (KREIBICH; SOMMER, 1995c).

Os reprodutores, que são animais adultos, com mais de 20 meses de idade, permanecem no local mais tranquilo da propriedade para que nenhum fator perturbe os animais durante sua fase de reprodução.

É importante citar que diversos fatores influenciam para o início do período de reprodução, entre eles, a nutrição, o fotoperíodo, o clima, a saúde dos animais (KORNFELD; CELEGHINI, 1999).

A nutrição talvez seja o principal fator para a reprodução, já que como a maioria das espécies, animais com alimentação deficiente não procuram se procriar (KREIBICH; SOMMER, 1995d). Também é notado que machos com excesso de peso têm sua capacidade de fertilização diminuída, assim como deficiências de vitaminas e minerais, incluindo vitamina A, vitamina E, e selênio (SOLEY; GROENEWALD, 1999). Além das deficiências, diversos autores, entre eles, Huchzermeyer (2000), cita que o excesso de cálcio na alimentação prejudica a produção de espermatozoides.

O fotoperíodo influi na época em que os animais são estimulados à reprodução. No Brasil sua fase de reprodução está situada nos meses de junho a fevereiro, com algumas exceções. Nos países do hemisfério norte, o período de reprodução se dá entre fevereiro e setembro (CARBAJO, 2003).

Os animais são dispostos de acordo com o sistema de criação adotado. O sistema de casais ou trios (duas fêmeas / um macho) tem a vantagem de maior controle do plantel, com a desvantagem do maior gasto com instalações. Já o sistema de colônias, com diversos machos e diversas fêmeas, há um menor gasto com instalações, porém há menor controle e maior incidência de acidentes e brigas (KORNFELD; CARRER, 1999).

O manejo no setor de reprodução se baseia na alimentação dos animais, recolhimento dos ovos, e observação dos reprodutores. Sua alimentação é feita duas vezes ao dia com o uso de ração específica para avestruzes em fase de reprodução, além do oferecimento de gramíneas e silagem no cocho. As gramíneas mais utilizadas são capim colonião (*Panicum maximum* Jacq.), capim gordura (*Melinis minutiflora* Pal. De Beauv.), capim elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.), entre outros, de acordo a região da criação.

O recolhimento dos ovos é feito retirando os ovos dos ninhos. Após o recolhimento dos ovos, os mesmos são levados ao incubatório para que sejam feitos a desinfecção e o armazenamento.

A incubação é um processo delicado, já que o ovo se trata de um organismo vivo, o qual necessita de muitos cuidados para sua manutenção. No processo de incubação artificial, o

embrião de um ovo fecundado se desenvolve para o nascimento do filhote de avestruz. O processo de incubação artificial dura, ao todo, 42 dias.

Os ovos ao chegarem dos piquetes de reprodução, de são recolhidos, passam por um processo de higienização, e ao juntar a quantidade do dia são fumigados para entrar na sala de armazenagem. A fumigação é realizada com o aquecimento de paraformaldeído, na dosagem de 5 a 7 g/m³ (KORNFELD et al., 2001).

A lavagem dos ovos é condenada por alguns autores, como Kreibich e Sommer, 1995, que relatam que a lavagem reduz os microorganismos por apenas algumas horas, mas destrói a membrana de proteção (cutícula) da superfície do ovo. Com isso a carga microbiana remanescente multiplica-se muito mais rapidamente com a umidade existente agora no ovo.

A armazenagem dos ovos é realizada para que se formem lotes semanais, e com isso otimizem os trabalhos no incubatório, além de diminuir a frequência de abertura das máquinas de incubação. Tal armazenagem é feita a uma temperatura de 15 a 20° C, para se prevenir o desenvolvimento irregular dos embriões (KREIBICH; SOMMER, 1995e), e a umidade deve estar ao redor de 70% (KORNFELD et al., 2001).

Segundo Deeming e Ar (1999), o período de armazenagem ideal é de 3 a 4 dias, sendo que comercialmente um período de 1 a 7 dias é aceitável. Armazenagem por um tempo maior diminui sensivelmente a viabilidade dos ovos. Com 9 a 10 dias de armazenagem, a viabilidade diminui cerca de 60%, e com 17 dias de armazenagem diminui a zero.

A entrada de pessoas, como de objetos, deve ser limitada para que se diminua a taxa de contaminação. Também é necessária a existência de fluxo, para que as pessoas sempre andem do setor mais limpo, para o setor mais contaminado, assim como a filtragem do ar que irá entrar no incubatório (KORNFELD et al., 2001).

Na África do Sul, cerca de 13,4% das mortes embrionárias são devidas as contaminações por microorganismos do solo ou fecais, enquanto que na Austrália este índice chega a 26,5%, e no Zimbábwe a 67% (DEEMING; AR, 1999). No Brasil ainda não temos dados concretos, já que tais índices variam muitos para cada criador.

A incubação propriamente dita é feita de 36,0 a 36,5° C. Estudos na África do Sul mostraram que a 36,4° C, 50% dos filhotes nascem com 42 dias de incubação. Temperaturas mais altas, até 37° C, diminuem o tempo de incubação, enquanto que temperaturas mais baixas, até 35° C aumentam este tempo (DEEMING; AR, 1999).

A umidade em que a incubadora deverá ser regulada varia de 22 a 28%, sendo que esta variação se refere à porosidade dos ovos (KORNFELD, 2001). O ovo deve perder de 11 a

15% do seu peso durante o processo de incubação, através da eliminação de vapor de água e dióxido de carbono (KREIBICH; SOMMER, 1995).

Segundo Deeming e Ar (1999), com uma perda de 8 a 18% do peso durante o processo, a taxa de viabilidade é alta (acima de 50%), mas com perdas maiores ou menores, a mortalidade geralmente chega a 100% dos ovos.

Outro fator importante na incubação é o suprimento de oxigênio (O₂) e a retirada do dióxido de carbono (CO₂). Tal fato é muito importante já que o ovo se trata de um organismo vivo, e a falha nestes quesitos levará a uma asfixia do embrião.

Taxas maiores que 0,5 % de CO₂, geram problemas como mortalidade embrionária, assim como a queda dos 21 % de O₂ (DEEMING; AR, 1999).

Os ovos também devem ser virados a cada 3 horas, tanto na armazenagem como na incubação, para que o embrião não permaneça apenas em uma parte do ovo, aproveitando assim todos os nutrientes.

Aos 39 dias, os ovos são transferidos para o nascedouro, com uma condição ambiental muito parecida a aquela na incubadora. Os ovos são acondicionados em cestas para haja a quebra da casca, e assim o nascimento.

É importante que os filhotes permaneçam no nascedouro até que estejam secos, e na sua retirada irem para um ambiente aquecido. Dessa forma será minimizado o choque térmico para as aves.

Após os primeiros dias na maternidade do incubatório, os filhotes são levados para as instalações de cria, permanecendo em tais instalações até os três meses de idade.

Os animais permanecem durante o dia em piquetes que podem ser cimentados, gramados, ou com ambos. Para a utilização de piquetes gramados, atualmente a forrageira mais indicada é a grama forquilha (*Paspalum notatum* Flüg.), também conhecida como grama batatais, ou grama Mato Grosso, Gramão, entre outras, que tem como características formar um “colchão” de folhas, e principalmente possuir folhas grossas (PUPO, 2000).

Gramíneas de folhas finas e compridas não são indicadas já que causam impactação em filhotes, o que leva em grande parte dos casos, a perda dos mesmos (HUCHERMEYER, 2000b).

Uma leguminosa bastante utilizada em países como África do Sul e Israel é a alfafa (*Medicago sativa* L.).

Enquanto permanecem nos piquetes durante o dia, os animais devem ser estimulados a comer e beber água, já que na ausência dos pais, o tratador deverá ensinar as aves a sobreviver.

Os filhotes são alimentados com ração pré-inicial para avestruzes, além do oferecimento de pedras. Em alguns criatórios também há o oferecimento de verde picado no cocho, sendo neste caso usado principalmente a couve.

Durante a noite, os animais são levados para dormir em instalações fechadas, tais como galpões, baias ou quartos, que contam com aquecimento artificial. Durante esse período em que os animais permanecem fechados, não há o oferecimento de água e alimento.

A temperatura, sobretudo à noite, deve ser controlada, sendo que na primeira semana deve ser de 30 a 32° C, e depois diminui-se 2 a 3° C por semana (KREIBICH; SOMMER, 1995f).

As instalações em que os animais permanecem tanto durante o dia, como durante a noite devem ser limpas e desinfetadas todos os dias, para que se diminua a carga contaminante do local.

Na recria, os animais já não necessitam de tantos cuidados e atenções como no setor de cria, já que passaram pela fase mais crítica de sua vida.

Os animais permanecem nesse setor dos três meses idade, até entrarem em maturidade sexual e serem transferidos para a reprodução, ou alcançarem peso e serem abatidos.

Durante o dia são colocados em piquetes com as mesmas gramíneas usadas para os adultos, as do gênero *Brachiaria*, tais como *Brachiaria decumbens*, *Brachiaria humidicola*, *Brachiaria brizantha*, apenas tomando o cuidado de manter o pasto sempre baixo.

Sua alimentação é feita com ração inicial, e posteriormente, ração crescimento. Além da ração já se inicia uma adaptação dos animais para a alimentação com gramíneas picadas, tais como capim colonião (*Panicum maximum* Jacq.), capim gordura (*Melinis minutiflora* Pal. De Beauv.), capim elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.), entre outros, e silagem.

Alguns criadores utilizam na alimentação milho moído, principalmente para animais em fase final de engorda para o abate.

Durante a noite, os animais já não são mais recolhidos para instalações fechadas. Isso só ocorre no caso de animais recém saídos da instalação de cria em noites muito frias, ou chuvas muito fortes.

1.5 DOENÇAS BACTERIANAS QUE ACOMETEM OS AVESTRUZES

As infecções por bactérias patogênicas causam várias doenças, entre elas, as enterites são de grande importância, pois geram alta mortalidade de filhotes, e, portanto um grande prejuízo para a atividade.

O isolamento e identificação de bactérias do trato entérico podem contribuir com a criação destes animais, pois esse conhecimento poderá evitar que bactérias patogênicas colonizem o trato entérico dos avestruzes gerando enterites. Desse modo, será possível diminuir a mortalidade e proporcionar um desenvolvimento ainda maior na criação de avestruzes.

Além disso, com o conhecimento da microbiota natural dos avestruzes, assim como a susceptibilidade das bactérias dessa microbiota aos diversos antibióticos, será possível termos melhores condições de elaboração de tratamentos quando esses forem necessários.

Com a diminuição das perdas de filhotes, é possível diminuir substancialmente o custo para a produção das aves, já que com uma menor perda de filhotes, cada reprodutor será mais bem aproveitado, assim como a incubação.

O ganho de peso também é um fator que deve ser bastante estudado, para que se diminua a idade do animal abatido, o consumo de alimento, as instalações necessárias, e se aumente o peso dos animais na idade de abate.

O fato das aves não possuírem linfonodos, particularmente os mesentéricos, as deixam mais susceptíveis a infecções no trato entérico. Bactérias gram-negativas, entre as quais *Salmonella* spp., *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Clostridium perfringens* são as principais causadoras de enterites em avestruzes, gerando alta mortalidade especialmente em filhotes (HUCHERMEYER, 2000c).

A enterite causada por *Salmonella* spp., *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa* levam a desidratação, diarreia e frequentemente casos de septicemia durante ou após a doença. Assim, recomenda-se que a prevenção da enterite possa ser feita com bactérias de exclusão competitiva, já que *Salmonella* spp e *E. coli* apresentam uma multiplicidade de variantes antigênicas, sendo muito difícil à produção de vacinas (HUCHERMEYER, 2000c).

A *Salmonella* spp. tem grande importância também em saúde pública, já que dos mais de 2500 sorotipos existentes, cerca de 90 são causadores de toxinfecção alimentar (BERCHIERI JR, 2000). Com a produção industrial de carne para consumo, a contaminação das aves ocasiona um surto na população de graves consequências.

Clostridium perfringens provoca enterite necrótica em aves. É uma das bactérias mais difundidas no meio ambiente, e a enterite causada por esta é produzida pelas toxinas liberadas no trato entérico das aves, causando enterotoxemia aguda atingindo principalmente aves jovens. Os principais sinais clínicos são: severa apatia, diminuição do apetite, diarreia de coloração escurecida com manchas de sangue, levando à desidratação e escurecimento da musculatura peitoral. A evolução é rápida e a mortalidade alta (ITURRINO; ISHI, 2000).

A ocorrência de surtos de clostridiose, em filhotes de avestruz, pode gerar grande mortalidade, com taxas próximas de 100% do lote (KWON et al., 2004).

A colibacilose, infecção causada pela *E. coli*, acomete diversas espécies animais. Nas aves geralmente é secundária a outros agentes no organismo, e a manifestação dos sintomas clínicos são extra intestinais. Assim como a *Salmonella* spp., causa toxinfecção alimentar, causando gastroenterites em crianças recém-nascidas (FERREIRA; KNÖBL, 2000).

Dentro da família Enterobacteriaceae, também temos a *Escherichia fergusonii*, que causa enterite hemorrágica, com desenvolvimento de anorexia, prostração, e severa diarreia hemorrágica, e em necropsia o quadro se assemelha a quadros de salmonellose (HERRAEZ et al., 2005).

Diante de diversos agentes causadores de doenças nas aves, causando mortalidade, prejuízos de desempenho, e portanto econômico, e acima de tudo risco de toxinfecção alimentar aos consumidores, e com a introdução do Hazard Analysis Critical Control Point (HACCP), ou Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC), nas plantas frigoríficas, aumentou a preocupação pela minimização de agentes como *Salmonella* spp. e *Campylobacter* spp. das carcaças (MEAD, 2000).

Em um estudo realizado em abatedouros nos estados de Ohio e Indiana, nos Estados Unidos, foi encontrada a presença de *E. coli* O157:H7 (91%), *Salmonella* (0,7%) e *Campylobacter* (10%) nas carcaças de avestruzes abatidos (LEY et al., 2001). Na África do Sul, foram isoladas de carcaças em abatedouros, *Pseudomonas* spp., *Staphylococcus aureus*, e *Escherichia coli* (KARAMA et al., 2003).

1.6 GÊNEROS BACTERIANOS

- *Lactobacillus*

As bactérias do gênero *Lactobacillus* são bacilos gram-positivos, anaeróbias facultativas, não formadoras de esporos. Em seu crescimento comumente formam cadeias curtas (HOLT et al., 1993d). No crescimento em placa agar, geralmente as colônias são pequenas, convexas, opacas, sem pigmentação, lisas, margens regulares e brilhantes (KANDLER; WEISS, 1986).

Entre as mais de 50 espécies existentes no gênero *Lactobacillus*, diversas são encontradas no trato entérico de animais, vivendo em relação íntima, comensal, com a superfície da mucosa (MITSUOKA, 1969).

- *Propionibacterium*

O gênero *Propionibacterium* é formado por bactérias com formato irregular, bacilos pleomórficos, gram-positivos, anaeróbios facultativos e catalase positivos (HOLT et al., 1993e).

São bactérias de crescimento em anaerobiose, mas que tem certa aerotolerância. Diversas espécies já foram isoladas de queijos e outros produtos lácticos, isoladas da pele humana, mas também isoladas do trato entérico de animais (CUMMINS; JOHNSON, 1986).

- *Ruminococcus*

No gênero *Ruminococcus* temos bactérias cocos gram-positivos, em pares ou cadeias, estritamente anaeróbios, e catalase positivo. Sua temperatura ótima para crescimento é de 40°C, ocorrendo crescimento em temperaturas entre 25 e 45°C (HOLT et al., 1993c). São encontrado habitualmente no rúmen, intestino grosso e cecos dos animais, já que nestes locais há produção de H₂ pela fermentação de carboidratos, que na interação metabólica gera H₂-CO₂, permitindo a produção de acetato, CO₂ e H₂, etanol, formato, succinato e lactato (BRYANT, 1986).

- *Enterococcus*

As bactérias do gênero *Enterococcus* são bactérias de grande importância para produtos probióticos e de exclusão competitiva, sendo largamente utilizados (FERREIRA et al., 2002). São cocos gram-positivos, formam pares ou cadeias, anaeróbios facultativos, catalase negativo, e podem crescer em temperaturas entre 10 e 45°C, sendo a temperatura ótima 37°C (HOLT et al., 1993c).

São amplamente distribuídos no meio ambiente, sobretudo no trato entérico de vertebrados, sendo isolados de frango, cavalos, bois, assim como também de animais silvestres, plantas e sistema digestivo de insetos (MUNDT, 1986).

- *Bifidobacterium*

O gênero *Bifidobacterium* é formado por bactérias cocos gram-positivos, com formas irregulares, não formadoras de esporos. São arrumados em forma de “V”, mas também podem estar sozinhos, em pares, cadeias, ou em rosetas. São anaeróbias, e encontradas em trato entérico de animais de sangue quente, insetos e esgotos (HOLT et al., 1993e).

- *Escherichia*

No gênero *Escherichia* há diversas espécies, sendo sem dúvida alguma, a *E. Coli* a espécie mais importante na microbiologia veterinária. A *E. coli* é encontrada compondo o microbiota normal do trato entérico em diversas espécies animais, entre elas diversas aves, contudo pode ser patogênica (HIRSH, 2003).

São bactérias gram-negativas, anaeróbias facultativas, oxidase positiva e catalase negativa (HOLT et al., 1993). Integrantes da família *Enterobacteriaceae*, podem ser patogênicas em alguns casos, mas com grande importância para a formação da flora entérica (BRENNER, 1986).

- *Fusobacterium*

Fusobacterium, bactérias gram-negativas, anaeróbias, cocos, que podem ser ou não fusiformes, e geralmente muito pleomórficas. Não formadoras de esporos, imóveis, são

encontradas em tratos intestinais, genitais, sulcos gengivais, lesões purulentas, e podem ser confundidas com Bacteróides (HOLT et al., 1993b).

- *Bacteroides*

O gênero *Bacteroides* são bactérias gram-negativas, anaeróbias, cocos de tamanhos variados, imóveis, sendo isoladas principalmente de ambientes anaeróbios como trato entérico, cavidade oral, esgotos e lesões purulentas (HOLT et al., 1993b).

Diversas espécies de *Bacteroides* são capazes de sobreviver em ácidos biliares (HOLDEMAN et al., 1986).

- *Eubacterium*

No gênero *Eubacterium* há cocos gram-positivos, não formadores de esporos, formato e tamanho irregular, podem se arranjar sozinhos, em pares ou em cadeias, estritamente anaeróbios e com motilidade variável (HOLT et al., 1993e). São encontrados em fezes, cavidades animais, infecções, solo, e produtos de plantas (MOORE; HOLDEMAN MOORE, 1986).

- *Bacillus*

O gênero *Bacillus* é composto por bactérias gram-positivas, bastonetes formadores de esporos, aeróbios, imóveis. São comumente encontrados no solo e na água, mas podem habitar os animais. Dentre as espécies, duas bactérias são patogênicas, *B. anthracis* e *B. cereus* (BIBERSTEIN; HIRSH, 2003). As características das colônias bacterianas podem ser muito variáveis, fatores como composição do meio de cultura, temperatura, umidade, podem alterar a morfologia (CLAUS; BERKELEY, 1986).

1.7 EXCLUSÃO COMPETITIVA

Nos pintinhos recém nascidos (*Gallus gallus*), a microbiota entérica é completamente formada após 10 dias de idade, quando os pintinhos entram em contato com o meio ambiente e adquirem bactérias que colonizam o trato entérico, principalmente os cecos (MEAD, 2000).

Este fenômeno pode ocorrer também em avestruzes. Já nos animais nascidos em criatórios, vindos de ovos fumigados em uma incubadora desinfetada, e posteriormente colocados em superfícies limpas e desinfetadas na maternidade, não há oportunidade para que os avestruzes recém nascidos entrem em contato com as bactérias necessárias para o funcionamento normal de seu trato digestivo no primeiro dia de vida (HUCHZERMEYER, 2000b).

Na primeira semana de vida, a administração de 1 a 10 células de *Salmonella*, é suficiente para causar infecção em aves, enquanto em aves adultas não (NUOTIO et al., 1992). Isso mostra que na ausência de microrganismos entéricos, há uma maior possibilidade de colonização por bactérias patogênicas, quando os animais forem transferidos para o setor de creche no 2º dia de vida. Dessa forma, o uso de bactérias de exclusão competitiva permitirá a ave compor a sua flora intestinal precocemente. As bactérias de exclusão competitiva irão ocupar os sítios de ligação da mucosa, produzindo uma barreira física para as bactérias patogênicas (RANTALA; NURMI, 1973).

Nas aves, o ácido láctico permite à flora anaeróbica a produção de ácidos graxos voláteis, que são bacteriostáticos e inibem a colonização por *Salmonella* spp. (HINTON et al., 1991). Além disso, outros fatores importantes para a exclusão das bactérias patogênicas podem citar a competição por nutrientes essenciais e a produção de substâncias inibidoras.

Desde a década de 30, foi observado que distúrbios na microbiota intestinal normal eram responsáveis pela instalação de bactérias patogênicas no trato entérico das aves. Entretanto, somente na década de 70, verificou-se que as aves recém nascidas eram muito mais susceptíveis, principalmente a *Salmonella* spp, em relação às aves adultas (NURMI; RANTALA, 1973). Diante disso, diversos autores têm trabalhado em estudos para a formação da microbiota nas aves o mais precoce possível após o nascimento, e assim, impedir que haja a oportunidade da instalação de bactérias patogênicas.

Assim, a utilização de bactérias de exclusão competitiva tem sido estudada como forma de prevenção da enterite. Outra função da utilização de bactérias de exclusão

competitiva é a estabilização de uma microbiota entérica protetora, evitando a colonização por bactérias patogênicas aos humanos transmitidas por alimentos (WAGNER, 2006).

Essas bactérias para a produção da exclusão competitiva são obtidas, isoladas, e identificadas, a partir do trato entérico de aves saudáveis. As bactérias selecionadas são fermentadas, gerando um pool de bactérias não patogênicas (RANTALA; NURMI, 1973).

Relaciona-se: *Bifidobacterium* sp, *Propionibacterium* sp, *Ruminococcus* sp, *Enterococcus* sp, *Fusobacterium* sp, *Escherichia coli* não patogênica, *Eubacterium* sp, *Lactobacillus* sp, *Bacillus* sp, e *Bacteroides* sp.

Também é importante salientar que a microbiota sofre influência da alimentação, das condições sanitárias e das condições de estresse pelas quais passam os animais.

As bactérias de exclusão competitiva têm diversos modos de ação no trato entérico das aves. A primeira e mais importante é a ocupação dos espaços, formando desse modo uma barreira física, impedindo que bactérias patogênicas, posteriormente ingeridas, consigam aderir à mucosa intestinal. A segunda forma de ação é a produção de ácidos graxos voláteis que diminuem o pH no meio favorecendo a formação da microbiota intestinal.

A utilização do produto de exclusão competitiva é realizada em todas as aves em seu primeiro dia de vida, como forma de colonização intestinal, atuando de forma preventiva. Porém, também em outras situações poderá ser utilizada, como forma de recolonização da microbiota intestinal. Tais situações são principalmente aquelas onde há estresse para o animal, como transporte, quando há uma diminuição da imunidade e alteração na microbiota. Também pode ser utilizado quando há a ocorrência de diarreia.

Uma importante utilização é após os tratamentos com antibióticos, já que há também a morte de bactérias da microbiota normal, abrindo espaço para que bactérias patogênicas se estabeleçam. A prevenção realizada com produtos de exclusão competitiva também pode diminuir a utilização de antibióticos como promotores de crescimento.

A diminuição da utilização de antibióticos vem ao encontro das exigências atuais relativas a produção de alimentos de origem animal, já que a utilização nos animais pode levar ao surgimento de bactérias resistentes a antibióticos em seres humanos, consumidores de tal alimento (CASEWELL et al., 2003). A União Européia, nos últimos anos tem realizado a proibição de diversos antibióticos na alimentação animal. Isso abriu a possibilidade de novas estratégias para controle de patógenos, entre eles a utilização de aditivos alimentares probióticos seguros (KLOSE, 2006).

O custo benefício é favorável já que se trata de um manejo preventivo. Geralmente quando há infecção entérica, esse quadro leva o animal à desidratação, fraqueza e morte. O

uso da bactérias de exclusão competitiva no 1º dia de idade promove a instalação precoce da microbiota, o que impede a colonização de bactérias patogênicas. O produto irá proteger o animal da infecção, e portanto, dos gastos com medicamentos, retardo no desenvolvimento da ave, ou ainda, a morte do animal.

Além disso, para se obter resultados econômicos satisfatórios, cada vez mais os índices zootécnicos, ou seja índices de produção, se tornam importantes. Com o uso de produtos que favorecem a formação da microbiota, como a exclusão competitiva, haverá um incremento e manutenção de índices satisfatórios. No Brasil, a produção animal exige o grande uso da tecnologia de ponta, assim como a busca por qualidade e reconhecimento internacional (NETO, 2002).

O produto tem por finalidade a formação e manutenção da integridade da mucosa intestinal. Com isto, a absorção de nutrientes se mostrará normal. A conversão alimentar e ganho de peso deverão seguir os índices de linhagem / raça.

A digestão das fibras é feita pela ação bacteriana, sendo que os produtos finais dessa digestão são os ácidos voláteis, principalmente no intestino grosso (ceco e cólon). Verificou-se que os avestruzes têm uma capacidade de digestão de hemicelulose e celulose semelhante aos ruminantes (SWART et al., 1993b).

Acredita-se que, apesar da capacidade de digerir fibras aumentar com a idade, a colonização intestinal com determinadas bactérias desempenha um papel muito importante, portanto devendo ser feita o mais cedo possível, e evitando-se o uso de antibióticos (SWART et al., 1993a).

Atualmente, esses produtos são amplamente utilizados na avicultura comercial de frangos de corte e poedeiras, contanto, em outras aves de produção, ornamentais e silvestres, a utilização de bactérias de exclusão competitiva não é um hábito comum. E a importância da utilização de um produto específico para avestruzes se deve ao fato de existir muitas diferenças na microbiota entre diferentes espécies.

Em associação com bactérias de exclusão competitiva, podem ser utilizados prebióticos, que são substâncias específicas que favorecem o crescimento de bactérias benéficas da microbiota entérica. As principais substâncias utilizadas como prebióticos são os frutoligossacarídeos (FOS) e os mananoligossacarídeos (MOS), assim como uma associação deles (FERREIRA et al., 2002).

Lactobacillus, em conjunto com *Bifidobacterium* e *Enterococcus*, promovem ação probiótica, como promotores de crescimento, modulando a composição da microflora cecal e sua atividade (MOUNTZOURIS et al., 2007).

Dentre as bactérias do gênero *Enterococcus*, algumas espécies como o *E. faecium*, geram melhoras no desempenho de aves, com destaque para fatores como ganho de peso e conversão alimentar (SAMLI et al., 2007).

2 OBJETIVOS

2.1 ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DAS BACTÉRIAS

Isolar e identificar as bactérias do trato entérico de avestruzes, possibilitando o conhecimento das espécies que compõe a microbiota entérica dos avestruzes.

2.2 APLICAÇÃO DAS BACTÉRIAS COMO EXCLUSÃO COMPETITIVA

Testar a ação das bactérias na exclusão competitiva de bactérias entéricas patogênicas utilizando-se *Salmonella* Typhimurium como indicador.

Testar a campo sua efetividade na prevenção de mortalidade, e na melhoria de ganho de peso dos animais.

2.3 TESTE DE SUSCEPTIBILIDADE À ANTIBIÓTICOS

Testar a susceptibilidade das bactérias isoladas, e do produto de exclusão competitiva a diversos antibióticos. Tendo como foco que o produto de exclusão competitiva não contribua para a geração de resistência.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 OBTENÇÃO, IDENTIFICAÇÃO E ISOLAMENTO DE BACTÉRIAS PARA A EXCLUSÃO COMPETITIVA

Com o objetivo de realizar a obtenção, identificação e isolamento de bactérias do trato entérico dos avestruzes para a posterior utilização como agente de exclusão competitiva, foi realizada uma divisão do trabalho nas seguintes etapas descritas abaixo.

3.1.1 Coleta do material

Para a coleta de material foram sacrificados 2 avestruzes sadios com idade aproximada de 2 a 3 meses. Desses animais foram coletadas, de forma asséptica, fragmentos do trato entérico (intestino delgado, intestino grosso e cecos), os quais foram colocados separadamente em placas de Petri de vidro. Os fragmentos não apresentavam nenhuma lesão macroscópica.

3.1.2 Obtenção do conteúdo e raspado intestinal

Foram coletados dos animais o conteúdo entérico e cecal, e realizado raspado das mucosas entérica e cecal.

Deste conteúdo fecal, 1 ml foi colocado em 200 ml de caldo Brain Heart Infusion (BHI) Difco® contendo cisteína 0.5%, suplementado com meio 199 (Sigma Chemical Co.) em uma concentração final de 9,9 g/L, BHI C-199, para a multiplicação das bactérias.

Após a retirada do conteúdo fecal e da lavagem dos fragmentos do trato entérico com solução salina 0,85%, foi feito um raspado. O raspado também foi colocado em 200 ml de caldo BHI C-199, para a multiplicação bacteriana.

Os caldos BHI C-199, tanto o com conteúdo fecal como com o raspado do trato entérico, foram incubados à 37°C por 24 horas em aerobiose e anaerobiose. Sempre que a anaerobiose

foi necessária, esta foi conseguida usando-se uma jarra de anaerobiose (Probac) e o produtor de anaerobiose (Anaerobac – Probac). Dessa forma, foram obtidas quatro amostras por animal, conteúdo fecal em aerobiose, conteúdo fecal em anaerobiose, raspado em aerobiose e raspado em anaerobiose.

3.1.3 Concentração das bactérias

Após o período de incubação, as suspensões bacterianas foram centrifugadas e o sobrenadante desprezado. Os sedimentos foram ressuspensos em 10 ml de PBS 0.1M, pH 7.4, e acrescentado glicerol em concentração final de 30%, para que não ocorrer perdas no congelamento, em seguida congeladas à -70°C .

3.1.4 Contagem do número total de bactérias

Para a contagem das unidades formadoras de colônia, os frascos foram descongelados à temperatura ambiente e foram feitas diluições seriadas. A concentração inicial foi de 10^{-1} e a final de 10^{-13} .

Para a contagem de unidades formadoras de colônias foram utilizadas as diluições de 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-9} , 10^{-10} , 10^{-11} , 10^{-12} , 10^{-13} . Dessas diluições, 100 μl serão distribuídos com alça Drigalski estéril em agar BHI (Difco) contendo meio 199 e cultivadas por 18-24 horas em anaerobiose ou aerobiose à 37°C .

Após o período de incubação foram contados os números de colônias nas placas.

3.1.5 Isolamento e identificação de bactérias

Para o isolamento e identificação de bactérias, as sementes foram cultivadas em diferentes meios de cultivo e tensões de oxigênio. No isolamento de *Enterobacteriaceae* sp foi usado

meio seletivo, em aerobiose, exceto para *Salmonella* spp. e *E.coli* patogênica. *Bifidobacterium* sp, *Eubacterium* sp, *Fusobacterium* sp, *Ruminococcus* sp, *Propionibacterium* sp, *Enterococcus* sp e *Bacteroides* sp foram cultivadas em meios seletivos, em anaerobiose. O meio MRS foi utilizado, tanto em aerobiose como em anaerobiose, para o isolamento de *Lactobacillus* sp e *Bacillus* sp esporulados aeróbios. O isolamento de *Clostridium* sp foi realizado, em anaerobiose, no agar sangue.

As colônias indicativas de cada gênero bacteriano estudado foram selecionadas e separadas para a obtenção de cultura pura. Uma vez conseguido o isolamento em cultura pura, uma colônia foi utilizada para a realização da série bioquímica e identificação de bactérias conforme as descrições de Krieg e Holt (1986) e de Holt et al. (1993).

3.1.6 Obtenção de bactérias para a exclusão competitiva

Uma vez isoladas as espécies de bactérias de interesse, essas bactérias foram semeadas em 10 ml de caldo BHI C-199, separadamente cada uma delas, em aerobiose e anaerobiose, por 24 horas à 37° C.

Após esse crescimento inicial, as bactérias foram semeadas em conjunto em novo caldo BHI C-199, sendo desta vez apenas em anaerobiose, por 24 horas à 37° C.

Após as 24 horas de crescimento bacteriano, 70% do caldo foi centrifugado a 8000 rpm (rotações por minuto), por 30 minutos, à 4° C, sendo o sobrenadante desprezado, e o sedimento foi ressuspenso com os outros 30% de caldo.

Após a contagem de unidades formadoras de colônia (UFC / ml) as bactérias foram divididas em alíquotas de 20ml e congeladas a – 70°C até uso.

3.1.7 Controle de Qualidade

O controle de *Salmonella* spp. ou *E. coli* patogênica foi feito por métodos bacteriológicos e pela técnica da PCR (reação da polimerase em cadeia). Já o controle de *Archobacter* sp, *Lawsonia* sp, *Mycoplasma* sp., *Campylobacter* sp e *Clostridium perfringens* foi feito pela técnica da PCR (MORENO, 1999; BABADOPULOS, 2001).

3.2 DETERMINAÇÃO DA EFICÁCIA ESTIMADA DA MASSA DE BACTÉRIAS DE EXCLUSÃO COMPETITIVA EM PINTINHOS “*GALLUS GALLUS*”

Com o objetivo de determinar a eficácia da massa de bactérias de exclusão competitiva em pintinhos “*Gallus gallus*”, foi realizado um desafio com *Salmonella* Typhimurium, com posterior reisolamento, e realizada a análise da eficácia dos tratamentos, como descrito abaixo.

3.2.1 Desafio com *Salmonella* Typhimurium

Para se estimar a capacidade de ação, como agente de exclusão competitiva, foram usados pintinhos SPF de 1 dia de vida. Foram utilizados 3 grupos, sendo com 10 cada., totalizando 30 aves.

O grupo 1 não recebeu as bactérias de exclusão competitiva nem *Salmonella* Typhimurium, constituindo o controle negativo.

O grupo 2 não recebeu as bactérias de exclusão competitiva, mas recebeu aproximadamente $1,0 \times 10^4$ UFC de *Salmonella* Typhimurium (1769 NR), constituindo o controle positivo.

O grupo 3 recebeu 0.2 ml de bactérias de exclusão competitiva por via oral, assim como aproximadamente $1,0 \times 10^4$ UFC de *Salmonella* Typhimurium (1769 NR).

Tanto o produto de exclusão competitiva como *Salmonella* Typhimurium foram administrados, por via oral, com uma cânula para depositar a suspensão no ingluvío / papo.

Após 5 dias do desafio as aves foram sacrificadas para o reisolamento de *Salmonella* Typhimurium.

3.2.2 Reisolamento de *Salmonella* Typhimurium

Após o sacrifício das aves, os cecos foram removidos com pinça e tesoura estéreis, e colocados em sacos plásticos estéreis com 9 ml de água peptonada 0,1%, pH 7,0.

Para o reisolamento de *Salmonella* foi utilizado o meio XLT4 (Difco), onde foram semeados 0,1 ml de cada amostra e incubados à 37°C. O crescimento foi acompanhado por 96 horas. As colônias com características de *Salmonella* foram submetidas à série bioquímica e sorologia com anti-soro polivalente anti “O”.

3.2.3 Eficácia dos tratamentos

A eficácia dos tratamentos foi determinada, como descrito por Mead et al. (1989). O fator de infectividade (IF) foi definido como a média dos log10 das unidades formadoras de colônia de *Salmonella* spp. por grama de conteúdo cecal de todos os pintos de um grupo específico. Este valor foi obtido através do número de unidades formadoras de colônias reisoladas, por grama de material cecal. O fator de proteção (PF) foi determinado pela relação do fator de infectividade do grupo controle em relação ao grupo tratado e representará o valor entre o fator de infectividade do grupo controle e de cada grupo tratado.

3.2.4 Análise estatística

Os dados que foram obtidos foram analisados pelos testes de Kruskal-Wallis, Mann Whitney e Correlação de Spearman (SPIEGEL, 1994) e os resultados foram expressos em termos de probabilidade ($p < 0,05$).

3.3 DETERMINAÇÃO DA EFICÁCIA ESTIMADA DA MASSA DE BACTÉRIAS DE EXCLUSÃO COMPETITIVA EM FILHOTES DE AVESTRUZ (*STRUTHIO CAMELUS*)

Com o objetivo de determinar a eficácia da massa de bactérias de exclusão competitiva em filhotes de avestruz “*Struthio camelus*”, foi realizado um desafio com *Salmonella*

Typhimurium, com posterior reisolamento, e realizada a análise da eficácia dos tratamentos, como descrito abaixo.

3.3.1 Desafio com *Salmonella* Typhimurium

Para se estimar a capacidade de ação como agente de exclusão competitiva em filhotes de avestruz foram usados pintinhos de 1 dia de vida. Foram utilizados 3 grupos, sendo 1 grupo de 7 aves (grupos 1), 1 grupo de 5 aves (grupo 2) e 1 grupo com 4 aves (grupos 3), totalizando 16 aves.

O grupo 1 recebeu 0.5 ml de bactérias de exclusão competitiva por via oral, assim como aproximadamente $1,0 \times 10^5$ UFC de *Salmonella* Typhimurium (1769 NR).

O grupo 2 não recebeu as bactérias de exclusão competitiva, mas recebeu aproximadamente $1,0 \times 10^5$ UFC de *Salmonella* Typhimurium (1769 NR), constituindo o controle positivo.

O grupo 3 não recebeu as bactérias de exclusão competitiva nem *Salmonella* Typhimurium, constituindo o controle negativo.

Tanto o produto de exclusão competitiva como *Salmonella* Typhimurium foram administrados, por via oral, com uma cânula para depositar a suspensão.

Após 10 dias do desafio as aves foram sacrificadas para o reisolamento de *Salmonella* Typhimurium.

3.3.2 Reisolamento de *Salmonella* Typhimurium

Após o sacrifício das aves, os cecos foram removidos com pinça e tesoura estéreis, e colocados em sacos plásticos estéreis com 200 ml de água peptonada 0,1%, pH 7,0. Também foram coletados assepticamente o fígado e colocado em sacos plásticos estéreis com 100 ml de água peptonada 0,1%, pH 7,0.

Para o reisolamento de *Salmonella* foi utilizado o meio XLT4 (Difco), onde foram semeados 0,1 ml de cada amostra e incubados à 37°C. O crescimento foi acompanhado por 96

horas. As colônias com características de *Salmonella* foram submetidas à série bioquímica e sorologia com anti-soro polivalente anti “O”.

3.3.3 Eficácia dos tratamentos

A eficácia dos tratamentos foi determinada, como descrito por Mead et al. (1989). O fator de infectividade (IF) foi definido como a média dos log₁₀ das unidades formadoras de colônia de *Salmonella* spp. por grama de conteúdo cecal de todos os pintos de um grupo específico. Este valor foi obtido através do número de unidades formadoras de colônias reisoladas, por grama de material cecal. O fator de proteção (PF) foi determinado pela relação do fator de infectividade do grupo controle em relação ao grupo tratado e representará o valor entre o fator de infectividade do grupo controle e de cada grupo tratado.

3.3.4 Análise estatística

Os dados que foram obtidos foram analisados pelos testes de Kruskal-Wallis, Mann Whitney e Correlação de Spearman (SPIEGEL, 1994) e os resultados foram expressos em termos de probabilidade ($p < 0,05$).

3.4 DETERMINAÇÃO DA EFICÁCIA ESTIMADA DA MASSA DE BACTÉRIAS DE EXCLUSÃO COMPETITIVA EM AVESTRUZES A CAMPO

Com o objetivo de determinar a eficácia da massa de bactérias de exclusão competitiva em filhotes de avestruz “*Struthio camelus*” em condições de criação a campo, foi realizado um teste a campo em criatório comercial.

3.4.1 Teste a campo com filhotes de avestruzes

A eficácia das bactérias de exclusão competitiva foi testada em duas propriedades do estado de São Paulo, na região de Campinas.

Na primeira propriedade, foram avaliados 57 animais, nascidos durante 5 semanas, dos quais 29 animais receberam a massa de bactérias de exclusão competitiva (grupo 1), e 28 animais não receberam a massa de bactérias de exclusão competitiva, constituindo o grupo controle (grupo 2).

Na segunda propriedade foram avaliados 36 animais, nascidos durante 8 semanas, dos quais 31 animais receberam a massa de bactérias de exclusão competitiva (grupo 3), e 5 animais não receberam a massa de bactérias de exclusão competitiva, constituindo o grupo controle (grupo 4).

O produto de exclusão competitiva foi utilizado em avestruzes com idade de um dia. Os animais foram divididos em dois grupos. Nos grupos 1 e 3 foi administrado 0,5 ml das bactérias de exclusão competitiva por via oral. Nos grupos 2 e 4 não foram administradas as bactérias de exclusão competitiva.

Esses animais foram observados clinicamente até os 2 meses de idade, sendo observado seu estado de saúde, assim como a ocorrência de diarreia e mortalidade.

Os animais que eventualmente morreram durante o período de 2 meses, em que foram observados, foram submetidos a necropsia, coletando-se material para exames bacteriológicos.

Na primeira propriedade de avestruzes, onde foi realizado o teste com o produto de exclusão competitiva, os animais foram pesados no 1º dia no incubatório, e novamente pesados por volta dos 60 dias, para que fosse estimado o ganho de peso dos animais.

3.5 PERFIL DE SUSCEPTIBILIDADE DAS BACTÉRIAS DE EXCLUSÃO COMPETITIVA A DIFERENTES ANTIBIÓTICOS

Com o objetivo de determinar o perfil de susceptibilidade das bactérias de exclusão competitiva a diferentes antibióticos foram realizados os testes descritos abaixo.

3.5.1 Perfil de susceptibilidade a antibióticos

O pool de bactérias da exclusão competitiva foi semeado em meio BHI C-199, e incubado por 24 horas, à 37°C, em aerobiose e anaerobiose. Em seguida, foram reisoladas gêneros de bactérias de interesse.

Tanto com o pool de bactérias de exclusão competitiva, como com as bactérias reisoladas, foi testada a susceptibilidade a antibióticos.

Foi semeada 0,1 das bactérias de exclusão competitiva em uma placa de Mueller Hinton. Em seguida, foram colocados discos de antibióticos sobre a placa semeada, e incubadas por 24 horas, à 37°C.

Após as 24 horas, foi avaliado o tamanho do halo formado pelo antibiótico, e a susceptibilidade das bactérias aos antibióticos testados.

Foram utilizados os seguintes antibióticos: Ácido Nalidíxico, Amicacina, Ampicilina, Amoxicilina, Bacitracina, Ceftiofur, Ciprofloxacina, Cloranfenicol, Enrofloxacina, Estreptomicina, Excenel, Fosfomicina, Florfenicol, Gentamicina, Kanamicina, Lincospectin, Neomicina, Sulfonamidas, Tetraciclina, Trimetoprim.

4 RESULTADOS

Os resultados obtidos nos experimentos realizados foram descritos, sendo separados em contagem do número total de bactérias; isolamento e identificação das bactérias; obtenção de bactérias para a exclusão competitiva e controle de qualidade; desafio com *Salmonella* Typhimurium e reisolamento; desafio com *Salmonella* Typhimurium e reisolamento em filhotes de avestruz; determinação da eficácia estimada da massa de bactérias de exclusão competitiva em avestruzes a campo; perfil de susceptibilidade das bactérias de exclusão competitiva a diferentes antibióticos.

4.1 Contagem do número total de bactérias

Os dois animais mostraram ter um elevado número de bactérias, variando de $1,2 \times 10^9$ a 1×10^{11} unidades formadoras de colônias (UFC) conforme quadros 1 e 2.

Caldo BHI + 199	Placa BHI + 199	UFC
Conteúdo fecal em aerobiose	Aerobiose	1×10^{11} UFC / ml
	Anaerobiose	1×10^{10} UFC / ml
Conteúdo fecal em anaerobiose	Aerobiose	1×10^{10} UFC / ml
	Anaerobiose	1×10^{10} UFC / ml
Raspado em aerobiose	Aerobiose	$1,2 \times 10^9$ UFC / ml
	Anaerobiose	1×10^{10} UFC / ml
Raspado em anaerobiose	Aerobiose	5×10^9 UFC / ml
	Anaerobiose	2×10^9 UFC / ml

Quadro 1 - Contagem total do número de bactérias, unidades formadoras de colônia por ml (UFC / ml) no conteúdo fecal e raspado de mucosa do avestruz A - São Paulo - 2007

Caldo BHI + 199	Placa BHI + 199	UFC
Conteúdo fecal em aerobiose	aerobiose	$3,5 \times 10^9$ UFC / ml
	anaerobiose	4×10^9 UFC / ml
Conteúdo fecal em anaerobiose	aerobiose	3×10^9 UFC / ml
	anaerobiose	4×10^{10} UFC / ml
Raspado em aerobiose	aerobiose	6×10^9 UFC / ml
	anaerobiose	$3,5 \times 10^9$ UFC / ml
Raspado em anaerobiose	aerobiose	1×10^{10} UFC / ml
	anaerobiose	1×10^{10} UFC / ml

Quadro 2 - Contagem total do número de bactérias, unidades formadoras de colônia por ml (UFC / ml) no conteúdo fecal e raspado de mucosa do avestruz **B** - São Paulo - 2007

4.2 ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DAS BACTÉRIAS

As bactérias encontradas no trato entérico dos avestruzes são enumeradas no quadro 3.

A presença de *Lawsonia intracellularis* e *Clostridium perfringens* no material de raspado de intestino foi detectada pelo método de PCR (reação de polimerase em cadeia).

Meio de Cultura	Espécie isolada	Origem do Material
BHI	<i>Escherichia coli</i>	Raspado e Conteúdo
	<i>Shigella Boydii</i>	Raspado
MacConkey	<i>Escherichia coli</i>	Raspado e Conteúdo
	<i>Klebsiella oxytoca</i>	Raspado e Conteúdo
	<i>Klebsiella planticola</i>	Conteúdo
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Conteúdo
Bifidobacterium	<i>Bifidobacterium breve</i>	Raspado e Conteúdo
	<i>Bifidobacterium dentium</i>	Conteúdo
	<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	Conteúdo
Propionibacterium	<i>Propionibacterium jensenii</i>	Conteúdo
	<i>Propionibacterium acidi-propionici</i>	Raspado e Conteúdo
Eubacterium	<i>Eubacterium rectale</i>	Raspado e Conteúdo
	<i>Eubacterium contortum</i>	Raspado
	<i>Eubacterium saburreum</i>	Raspado e Conteúdo
MRS	<i>Lactobacillus plantarum</i>	Raspado e Conteúdo
	<i>Lactobacillus sp. (L. gasseri ou L. vitulinus)*</i>	Raspado
	<i>Lactobacillus fermentum</i>	Conteúdo
	<i>L. acidophilus.</i>	Conteúdo
Ruminococcus	<i>Ruminococcus obeum</i>	Raspado e Conteúdo
	<i>Ruminococcus torques</i>	Raspado
	<i>Ruminococcus callidus</i>	Raspado
Bacillus	<i>Bacillus macquariensis</i>	Conteúdo
Enterococcus	<i>Enterococcus hirae</i>	Raspado
	<i>Enterococcus faecium</i>	Conteúdo
	<i>Enterococcus gallinarum</i>	Conteúdo
	<i>Enterococcus faecalis</i>	Raspado
	<i>Enterococcus mundtii</i>	Raspado
Bacteróides	<i>Bacteroides caccae</i>	Conteúdo
	<i>Bacteriodes ovatus</i>	Raspado e Conteúdo
Fusobacterium	<i>Fusobacterium mortiferum</i>	Raspado e Conteúdo
	<i>Fusobacterium prausnitzu</i>	Raspado e Conteúdo

* Com as provas bioquímicas disponíveis não foi possível a diferenciação.

Quadro 3 - Bactérias isoladas do conteúdo e do raspado intestinal dos avestruzes, meios utilizados para isolamento e material de origem da bactéria - São Paulo - 2007

4.3 OBTENÇÃO DE BACTÉRIAS PARA A EXCLUSÃO COMPETITIVA E CONTROLE DE QUALIDADE

Após a incubação das bactérias para a obtenção da exclusão competitiva, na contagem total de bactérias obteve-se $9,02 \times 10^{10}$ UFC/ml.

No controle de qualidade não se detectou a presença de *Salmonella* spp., *E. coli* patogênica, *Archobacter* sp, *Lawsonia* sp, *Micoplasma* sp., *Campylobacter* sp e *Clostridium perfringens*.

4.4 DESAFIO COM SALMONELLA TYPHIMURIUM E REISOLAMENTO

Durante a realização do experimento, uma ave do grupo 2 (controle positivo) morreu no 4º dia. Foi coletado além do ceco, no qual foi possível o reisolamento de *Salmonella*, o fígado no qual nenhuma bactéria foi detectada, excluindo desse modo à possibilidade de septicemia.

As bactérias de exclusão competitiva foram capazes de reduzir a infecção por *Salmonella* Typhimurium, reduzindo de 60% para 0% a porcentagem de aves infectadas, tabela 1, em relação ao grupo de controle positivo.

Tabela 1 – Taxa de infecção por *Salmonella* Typhimurium em pintinhos “*Gallus gallus*” conforme tratamento - São Paulo - 2007

Tratamento	Infectados
T1 - Controle Negativo	0% (0/10)
T2 - Controle Positivo	60% (6/10)
T3 – Exclusão competitiva + <i>Salmonella</i>	0% (0/10)

O nível de infecção, para avaliação da capacidade de infecção da *Salmonella* utilizada, é mostrada na tabela 2.

Tabela 2 - Nível de infecção por *Salmonella* Typhimurium em pintinhos “*Gallus gallus*” conforme tratamento em $\log_{10}$. - São Paulo - 2007

Tratamento	Número de pintinhos Infectados <i>Salmonella</i> / g ($\log_{10}$)				
	0	1	2	3	4
T1 - Controle Negativo	10	0	0	0	0
T2 - Controle Positivo	4	0	5	1	0
T3 - Exclusão competitiva + <i>Salmonella</i>	10	0	0	0	0

O fator de infectividade foi de 1,3 para o grupo controle positivo, e o fator de proteção para o grupo tratado com o produto de exclusão competitiva desenvolvido foi de 13,0, equivalente a uma proteção de 100% para uma infecção com uma dose de 10^4 UFC / ave de *Salmonella* Typhimurium, tabela 3.

Tabela 3 - Fator de infectividade e fator de proteção conforme tratamento - São Paulo - 2007

Tratamento	Fator de infectividade	Fator de Proteção
T1 - Controle Negativo	$(10 \times 0) = 0 / 10$ $< 0,1$	$1,3 / 0,1 = 13$ 100%
T2 - Controle Positivo	$(4 \times 0) + (5 \times 2) + (1 \times 3) = 13 / 10$ 1,3	$1,3 / 1,3 = 1$ 40%
T3 - Exclusão competitiva + <i>Salmonella</i>	$(10 \times 0) = 10 / 10$ $< 0,1$	$1,3 / 0,1 = 13$ 100%

A contagem de UFC/g se mostrou alta no grupo controle positivo (T2). Os demais animais foram negativos na contagem de UFC/g, tabela 4.

Tabela 4 - Contagem de Unidades Formadoras de Colônia / por grama (UFC/ g) no Tratamento 2 - São Paulo - 2007

Animal	CFU/ml
1	11,68
2	1708,1
3	5,2
4	48,6
5	0
6	17,64
7	0
8	0
9	0
10	23,07

4.5 DESAFIO COM SALMONELLA TYPHIMURIUM E REISOLAMENTO EM FILHOTES DE AVESTRUZ

As bactérias de exclusão competitiva foram capazes de reduzir a infecção por *Salmonella* Typhimurium, reduzindo de 40% para 0% a porcentagem de aves infectadas, tabela 5, em relação ao grupo de controle positivo. O nível de infecção do grupo controle é demonstrado no tabela 6.

Tabela 5 - Porcentagem de filhotes de avestruz, "*Struthio camelus*" infectados com *Salmonella* Typhimurium conforme tratamento - São Paulo - 2007

Tratamento	Infectados
T1 - Exclusão competitiva + <i>Salmonella</i>	0% (0/7)
T2 - Controle Positivo	40% (2/5)
T3 - Controle Negativo	0% (0/4)

Tabela 6 - Nível de infecção das aves, “*Struthio camelus*”, conforme tratamento em log₁₀. - São Paulo - 2007

Tratamento	Número de pintinhos Infectados				
	<i>Salmonella</i> / g (log ₁₀)				
	0	1	2	3	4
T1 - Exclusão competitiva + <i>Salmonella</i>	7	0	0	0	0
T2 - Controle Positivo	3	1	1	0	0
T3 - Controle Negativo	4	0	0	0	0

O fator de infectividade foi de 0,3 para o grupo controle positivo, e o fator de proteção para o grupo tratado com o produto de exclusão competitiva desenvolvido foi de 3,0, equivalente a uma proteção de 100% para uma infecção com uma dose de 10⁵ UFC / ave de *Salmonella* Typhimurium, tabela 7.

Tabela 7 - Fator de infectividade e fator de proteção conforme tratamento - São Paulo - 2007

Tratamento	Fator de infectividade	Fator de Proteção
T1 - Exclusão competitiva + <i>Salmonella</i>	(7x0) = 0 / 7	0,3/ 0,1 = 3
	< 0,1	100%
T2 - Controle Positivo	(3x0) + (1x1) + (1x2) = 3 / 10	0,3 / 0,3 = 1
	0,3	60%
T3 - Controle Negativo	(10x0) = 10 / 10	0,3/ 0,1 = 3
	< 0,1	100%

A contagem de UFC/g se mostrou alta no grupo controle positivo (grupo 2). Os demais animais foram negativos na contagem de UFC/g, tabela 8.

Tabela 8 - Contagem de Unidades Formadoras de Colônia / por grama (UFC/g) no grupo tratado com exclusão competitiva (T1), e grupo controle positivo (T2). São Paulo, 2007

Tratamento	Animal	UFC / g
T1	1.1	0
	1.2	0
	1.3	0
	1.4	0
	1.5	0
	1.6	0
	1.7	0
T2	2.1	81,30081
	2.2	0
	2.3	3,343922
	2.4	0
	2.5	0

4.6 DETERMINAÇÃO DA EFICÁCIA ESTIMADA DA MASSA DE BACTÉRIAS DE EXCLUSÃO COMPETITIVA EM AVESTRUZES A CAMPO

Na primeira propriedade, foi observada uma sensível diminuição da mortalidade dos animais que receberam a massa de bactérias no primeiro dia de vida, diminuindo de 57,14% para 41,37% nos primeiros dois meses de vida, tabela 9 e gráfico 1.

Tabela 9 - Mortalidade dos animais nos primeiros 60 dias de vida na propriedade 1 - São Paulo - 2007

Tratamento	Mortalidade
Animais tratados com exclusão competitiva (grupo 1)	41,37%
Grupo Controle (grupo 2)	57,14%

Gráfico 1 – Mortalidade dos animais nos primeiros 60 dias de vida na propriedade 1 – São Paulo - 2007

Notou-se que os animais que receberam o produto de exclusão competitiva obtiveram em média um ganho de peso diário muito superior aos animais do grupo controle, 80,23 g/ dia contra 53,77 g/ dia, respectivamente, tabela 10 e gráfico 2.

Tabela 10 - Ganho de peso médio diário (g/ dia) - São Paulo - 2007

Tratamento	g/ dia
Animais tratados com exclusão competitiva (grupo 1)	80,23
Grupo Controle (grupo 2)	53,77

Gráfico 2 - Ganho de peso médio diário (g/dia) - São Paulo - 2007

Na segunda propriedade, apesar de mais sutil, também se notou uma sensível diminuição da mortalidade dos animais que receberam a massa de bactérias no primeiro dia de vida, diminuindo de 20% para 12,90% nos primeiros dois meses de vida, tabela 11 e gráfico 3.

Tabela 11 - Mortalidade dos animais nos primeiros 60 dias de vida na propriedade 2 - São Paulo - 2007

Tratamento	Mortalidade
Animais tratados com exclusão competitiva (grupo 3)	12,90%
Grupo Controle (grupo 4)	20,00%

Gráfico 3 - Mortalidade dos animais nos primeiros 60 dias de vida na propriedade 2. São Paulo, 2007

4.7 PERFIL DE SUSCEPTIBILIDADE DAS BACTÉRIAS DE EXCLUSÃO COMPETITIVA A DIFERENTES ANTIBIÓTICOS

Os gêneros bacterianos isolados mostraram grande susceptibilidade aos antibióticos testados, quadros 4, 5, 6 e 7. Apenas alguns gêneros apresentaram resistência a determinados antibióticos, como a bacitracina.

Gênero	Antibiótico					
	Ácido Nalidíxico	Amicacina	Ampicilina	Amoxicilina	Bacitracina	Ceftiofur
<i>Escherichia coli</i>	S	S	S	S	R	S
<i>Bifidobacterium</i> sp.	S	S	S	I	R	I
<i>Propionibacterium</i> sp.	S	S	S	S	R	S
<i>Eubacterium</i> sp.	S	S	S	S	R	S
<i>Lactobacillus</i> sp.	S	S	S	S	R	S
<i>Ruminococcus</i> sp.	I	S	S	S	S	S
<i>Bacillus</i> sp.	R	S	S	S	S	R
<i>Enterococcus</i> sp.	S	S	S	S	S	S
<i>Fusobacterium</i> sp.	S	S	S	S	R	S
<i>Bacteroides</i> sp.	S	S	S	S	R	S

S – Susceptível, I – Susceptibilidade Intermediária, R – Resistente.

Quadro 4 - Susceptibilidade das bactérias aos antibióticos: ácido nalidíxico, amicacina, ampicilina, bacitracina e ceftiofur - São Paulo - 2007

Gênero	Antibiótico				
	Ciprofloxacina	Clindamicina	Cloranfenicol	Enrofloxacin	Estreptomicina
	a				
<i>Escherichia coli</i>	S	R	S	S	S
<i>Bifidobacterium</i> sp.	S	R	S	S	S
<i>Propionibacterium</i> sp.	S	R	S	S	S
<i>Eubacterium</i> sp.	S	I	S	S	I
<i>Lactobacillus</i> sp.	S	R	S	S	S
<i>Ruminococcus</i> sp.	S	R	S	S	R
<i>Bacillus</i> sp.	S	R	R	S	R
<i>Enterococcus</i> sp.	S	R	S	S	S
<i>Fusobacterium</i> sp.	S	S	S	S	S
<i>Bacteroides</i> sp.	S	S	S	S	S

S – Suscetível, I – Suscetibilidade Intermediária, R – Resistente.

Quadro 5 - Suscetibilidade das bactérias aos antibióticos: ciprofloxacina, clindamicina, cloranfenicol, enrofloxacin e estreptomicina - São Paulo - 2007

Gênero	Antibiótico					
	Fosfomicina	Florfenicol	Gentamicina	Kanamicina	Lincospectin	Neomicina
<i>Escherichia coli</i>	S	S	S	S	S	S
<i>Bifidobacterium</i> sp.	S	S	S	S	S	S
<i>Propionibacterium</i> sp.	S	S	S	S	S	S
<i>Eubacterium</i> sp.	S	S	S	S	S	S
<i>Lactobacillus</i> sp.	S	S	S	S	S	S
<i>Ruminococcus</i> sp.	S	S	S	S	S	S
<i>Bacillus</i> sp.	S	R	R	R	I	I
<i>Enterococcus</i> sp.	S	S	S	S	S	S
<i>Fusobacterium</i> sp.	S	S	S	S	S	S
<i>Bacteroides</i> sp.	S	S	S	S	S	S

S – Susceptível, I – Susceptibilidade Intermediária, R – Resistente.

Quadro 6 - Susceptibilidade das bactérias aos antibióticos: fosfomicina, florfenicol, gentamicina, kanamicina, lincospectin e neomicina - São Paulo - 2007

Gênero	Antibiótico			
	Sulfonamidas	Tetraciclina	Trimetoprim	Vancomicina
<i>Escherichia coli</i>	S	I	S	R
<i>Bifidobacterium</i> sp.	R	R	S	S
<i>Propionibacterium</i> sp.	S	S	S	S
<i>Eubacterium</i> sp.	S	S	S	S
<i>Lactobacillus</i> sp.	S	S	S	S
<i>Ruminococcus</i> sp.	S	S	S	S
<i>Bacillus</i> sp.	R	R	R	S
<i>Enterococcus</i> sp.	S	S	S	S
<i>Fusobacterium</i> sp.	S	S	S	S
<i>Bacteroides</i> sp.	S	S	S	S

S – Suscetível, I – Susceptibilidade Intermediária, R – Resistente.

Quadro 7 - Susceptibilidade das bactérias aos antibióticos: sulfonamidas, tetraciclina, trimetoprim, vancomicina - São Paulo - 2007

O pool de bactérias de exclusão competitiva mostrou susceptibilidade aos seguintes antibióticos: ácido nalidíxico, amicacina, ampicilina, amoxicilina, ceftiofur, ciprofloxacina, cloranfenicol, enrofloxacin, estreptomicina, fosfomicina, florfenicol, gentamicina, kanamicina, lincospectin, neomicina, trimetoprim e vancomicina. Também apresentou susceptibilidade intermediária a clindamicina e resistência a bacitracina, sulfonamidas e tetraciclina, quadros 8, 9, 10 e 11.

	Antibiótico					
	Ácido Nalidíxico	Amicacina	Ampicilina	Amoxicilina	Bacitracina	Ceftiofur
Exclusão Competitiva	S	S	S	S	R	S

Quadro 8 - Susceptibilidade do pool de bactérias aos antibióticos: ácido nalidíxico, amicacina, ampicilina, bacitracina e ceftiofur - São Paulo – 2007

	Antibiótico				
	Ciprofloxacina	Clindamicina	Cloranfenicol	Enrofloxacin	Estreptomicina
Exclusão Competitiva	S	I	S	S	S

Quadro 9 - Susceptibilidade do pool de bactérias aos antibióticos: ciprofloxacina, clindamicina, cloranfenicol, enrofloxacin e estreptomicina - São Paulo - 2007

	Antibiótico					
	Fosfomicina	Florfenicol	Gentamicina	Kanamicina	Lincospectin	Neomicina
Exclusão Competitiva	S	S	S	S	S	S

Quadro 10 - Susceptibilidade do pool de bactérias aos antibióticos: fosfomicina, florfenicol, gentamicina, kanamicina, lincospectin e neomicina - São Paulo - 2007

	Antibiótico			
	Sulfonamidas	Tetraciclina	Trimetoprim	Vancomicina
Exclusão Competitiva	R	R	S	S

Quadro 11 - Susceptibilidade do pool de bactérias aos antibióticos: sulfonamidas, tetraciclina, trimetoprim e vancomicina - São Paulo - 2007

5 DISCUSSÃO

O trato entérico dos avestruzes por ter naturalmente elevado número de bactérias, se mostrou uma boa fonte de bactérias para a constituição de um produto de exclusão competitiva. No material coletado dos avestruzes foram obtidos valores entre $1,2 \times 10^9$ e 1×10^{11} UFC por ml, indicando grande potencial para a produção de produtos de exclusão competitiva para estes animais.

Outros autores mostraram que entre 10^8 UFC / ml (MASSA, 1997) e 10^9 UFC / ml (CORRIER, 1994) são suficientes para a obtenção de efeitos benéficos de exclusão competitiva, e no lúmen dos cecos de galinhas encontra-se até 10^{11} UFC /g (peso seco) (MEAD, 1989b).

Não houve diferença significativa na contagem total de UFC / ml, quando comparados os valores obtidos dos materiais provenientes do conteúdo entérico e do raspado de mucosa entérica. Os gêneros e espécies bacterianas isoladas também não apresentaram diferenças significativas entre conteúdo entérico e do raspado de mucosa entérica.

Em outras espécies, também já foi correlacionado a microbiota do lúmen e do epitélio entérico (MIKELSSAR et al., 1987), apesar de outros autores considerarem os dois microambientes totalmente independentes, por suas diferenças na disponibilidade de nutrientes (MIKELSSAR et al., 1987; LU; WALKER, 2001).

O isolamento das bactérias no trato entérico dos avestruzes pode ser comparado, principalmente com o frango, "*Gallus gallus*", no qual a ocorrência das bactérias se mostrou semelhante. Em aves silvestres, também pelo fato de não existirem muitos trabalhos sobre o assunto, e nos mamíferos, não podemos notar a mesma semelhança na composição da microbiota entérica, quadro 12.

Alguns dos gêneros isolados e identificados têm especial importância na utilização de bactérias como agente de exclusão competitiva, tais como a *Escherichia* sp. (MEAD, 1996; FUKATA, 1999; PATTERSON; BURKHOLDER, 2003), *Bifidobacterium* sp. (FUKATA, 1999; PATTERSON; BURKHOLDER, 2003), *Lactobacillus* sp. (MASSA, 1997; FUKATA, 1999; PATTERSON; BURKHOLDER, 2003) e *Enterococcus* sp. (MEAD, 1996; PATTERSON; BURKHOLDER, 2003). Nuotio, 1992, encontrou uma grande variedade de bactérias que são importantes para a saúde do animal, já que formam uma barreira física inibindo a multiplicação de patógenos.

Enterococcus faecalis tem função importante de promover a anaerobiose, gerando assim condição para outros microorganismos anaeróbios estritos (BARNES, 1980). *Lactobacillus acidophilus* é importante para ativação do sistema imune, com aumento de IgA no intestino (GALDEANO; PERDIGÓN, 2004).

Dentre os gêneros isolados, assim como em gêneros não isolados, ainda há diversas espécies bacterianas que podem estar presentes, mas que no presente estudo não foram isoladas. Com a dificuldade de isolamento de algumas espécies bacterianas nos avestruzes, assim como ocorre em outras espécies animais (MEAD, 1989B), existe a necessidade de estudos futuros complementares para uma elucidação mais completa da microbiota dos avestruzes. Alguns autores chegam a citar que, mesmo em galinhas, aonde há maiores estudos, cerca de 90% da microbiota entérica é composta por espécies não identificadas (LAN et al., 2002; PATTERSON; BURKHOLDER, 2003).

A grande variedade de gêneros bacterianos na composição da microbiota se dá pelas diferenças entre eles na utilização de substratos, o que dá a microbiota, e portanto ao animal maior capacidade de utilização de nutrientes provenientes da alimentação. Por outro lado a alimentação do animal influencia na composição da microbiota (MEAD, 1989b; APAJALAHTI et al., 2004). Além da alimentação, outros fatores também influenciam na composição da microbiota, como a utilização de antibióticos. Neste caso, enquanto alguns gêneros terão seu crescimento dificultado, tal situação abrirá caminho para um crescimento mais acelerado de outros (DUMONCEAUX et al., 2006). Este fato é notado não apenas em aves, mas também nos mamíferos, inclusive nos humanos (MARTEAU, 2001).

Desta forma, a composição da microbiota pode ser modulada, tanto em sua formação, como é o caso da utilização de produtos de exclusão competitiva, assim como, na utilização de antibióticos promotores de crescimento (DUMONCEAUX et al., 2006).

A microbiota, devido a sua capacidade de competir com outros grupos microbianos e de participar do processo de absorção dos nutrientes, irá refletir na capacidade do animal se proteger contra bactérias patogênicas e na capacidade de aproveitamento dos nutrientes provenientes da alimentação (APAJALAHTI et al., 2004).

As bactérias da microbiota ao realizem a colonização, realizam alguns eventos, os quais irão servir como ferramentas de proteção: competição por nutrientes essenciais, competição por sítios de ligação na mucosa, produção de substâncias antibacterianas, tais como ácidos graxos voláteis e bacteriocinas (NURMI et al., 1992) e estimulação do sistema imune (PATTERSON; BURKHOLDER, 2003), com a produção de anticorpos (HAGHIGHI, 2006).

A escolha das bactérias a serem utilizadas no produto de exclusão competitiva deve ser realizada com critério, já que a estimulação sobre o sistema imune pode variar (GALDEANO; PERDIGÓN, 2004).

Em galinhas, o tratamento profilático com o uso de exclusão competitiva mostrou uma diminuição do potencial de contaminação por *Salmonella* spp. na carcaça, durante o processo de abate, além de diminuir o período vulnerável do animal jovem a *Salmonella* spp. (HUME, 1996). Dessa forma, o conhecimento da microbiota e a utilização de produtos de exclusão competitiva podem contribuir em questões econômicas e de saúde pública (LAN et al., 2002; APAJALAHTI et al., 2004; WAGNER, 2006).

Os produtos de exclusão competitiva, por serem produtos oriundos de fontes naturais, ganham força para sua utilização, principalmente na União Européia, como alternativa ao uso de antibióticos na produção animal (KLOSE et al., 2006).

A dinâmica das espécies na população entérica é constante, até ao menos os 30 dias de vida, havendo diversas mudanças na quantidade de determinadas espécies bacterianas, conforme a idade da ave (MEAD, 1989B), com isso se torna importante que tenhamos a maior variedade possível no produto de exclusão competitiva, fornecendo microbiota completa aos animais ao longo da vida.

A microbiota também pode sofrer alterações, sendo os gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* mais susceptíveis a fatores como estresse, sofrendo reduções na população bacteriana (PATTERSON; BURKHOLDER, 2003).

Outro fato que atesta a importância da grande variedade de espécies presentes em um produto de exclusão competitiva, é que as bactérias além de utilizarem substratos diferentes de maneiras diferentes, possuem a adesão ao epitélio de maneira diferente (APAJALAHTI et al., 2004). Assim, uma maior variedade de bactérias protege o epitélio do trato entérico de maneira mais eficiente.

Muitas das bactérias enteropatogênicas realizam a invasão das células da mucosa, necessitando, portanto, da adesão para expressar sua patogenicidade (LU; WALKER, 2001). Com isso, ao se impedir o contato destas bactérias com a mucosa entérica é quebrada sua cadeia patogênica.

Além da presença de bactérias anaeróbicas, a presença de bactérias aeróbicas é fundamental para o sucesso da colonização entérica, já que as bactérias anaeróbicas facultativas são importantes e necessárias para a redução dos níveis de oxigênio, gerando um ambiente de anaerobiose, e portanto permitindo a colonização por parte das anaeróbias estritas (ANDREATTI FILHO et al., 2003).

A formação da microbiota ainda pode favorecer a posterior adesão de *Lactobacillus*, ainda que por mecanismos desconhecidos, na mucosa entérica (OUWEHAND et al., 1999).

A contagem total de bactérias, de $9,02 \times 10^{10}$ UFC/ml, após a incubação das bactérias para a obtenção da exclusão competitiva, é um número de bactérias suficiente para a ação como produto de exclusão competitiva (MEAD, 1989; CORRIER, 1994), capaz de gerar formação de microbiota, e portanto, gerar o efeito protetor necessário.

O meio de BHI contendo meio 199 mostrou-se um excelente meio para o cultivo de bactérias, permitindo um amplo crescimento das mesmas, sendo assim meio adequado para cultivo de caldo com diversas espécies de bactérias, como produtos de exclusão competitiva.

Para o desafio com *Salmonella* Typhimurium foi importante a utilização tanto de pintinhos “*Gallus gallus*” como pintinhos de avestruz “*Struthio camelus*”, já o este método de avaliação foi padronizado em pintinhos “*Gallus gallus*”, servindo portanto de parâmetro para comparação. Os pintinhos de avestruz se mostraram menos susceptíveis à infecção por *Salmonella*, mas tal fato não impediu a realização do experimento.

O nível de infecção, tanto no experimento no qual foram utilizados pintinhos “*Gallus gallus*”, quanto no experimento em que foram utilizados pintinhos de avestruz “*Struthio camelus*”, com fator de infectividade de 1,3 e 0,3, respectivamente, no grupo controle foi satisfatório, levando a conclusão que as aves foram realmente desafiadas. Isso foi comprovado pela alta contagem de UFC/g no grupo controle positivo de ambos (MEAD, 1989).

O produto de exclusão competitiva desenvolvido se mostrou eficaz, já que o fator de proteção o fator de proteção para o grupo tratado com o produto de exclusão competitiva desenvolvido foi de 13,0, em pintinhos “*Gallus gallus*”, e 3,0, em pintinhos “*Struthio camelus*”, equivalente a uma proteção de 100% para uma infecção com uma dose de 10^4 e 10^5 de *Salmonella* Typhimurium, respectivamente, sendo considerado um resultado muito bom quando comparado ao trabalho de Andreatti Filho (2003).

A combinação de bactérias anaeróbias estritas e anaeróbias facultativas comprovou ser uma boa opção para produtos de exclusão competitiva tanto para os pintinhos “*Gallus gallus*”, como já comprovado por outros autores (ANDREATTI FILHO et al., 2003), como pintinhos de avestruz “*Struthio camelus*”.

Nos pintinhos de avestruz, apesar de serem menos susceptíveis as infecções por *Salmonella* Typhimurium, tem um comportamento semelhante em relação à proteção pela exclusão competitiva.

Esta proteção conferida às aves contra *Salmonella* Typhimurium, também ocorre contra outras bactérias patogênicas, tais como *Salmonella* Gallinarum, *Salmonella* Enteritidis (NUOTIO et al., 1992; CORRIER et al., 1994; FUKATA et al., 1999; LEE et al., 2001), *Salmonella* Kedougou (MASSA et al., 1998; FERREIRA et al., 2003; REVOLLEDO et al., 2003), *Campylobacter* spp., (MEAD et al., 1996; WAGNER, 2006), *Escherichia coli* enterotoxigênica (WAGNER, 2006), *Listeria* spp (WAGNER, 2006; ZHAO et al., 2006) e *Yersinia* (NURMI et al., 1992). Deste modo, a exclusão competitiva não se trata de uma medida específica, e sim uma ferramenta importante contra diversos agentes que possam estar presentes na criação.

Uma das premissas mais importantes para a ação esperada efetiva dos produtos de exclusão competitiva, é que há rápido estabelecimento da microbiota após o nascimento, diminuindo assim o tempo que a ave passa desprotegida, e portanto mais susceptível aos agentes (WAGNER, 2006).

Um fator que pode ser considerado como ponto fraco na utilização das bactérias de exclusão competitiva, é que sua efetividade está mais ligada à prevenção da colonização, tendo pouco ou limitado efeito no tratamento de infecção já instaladas (WAGNER, 2006).

A eficácia das bactérias de exclusão competitiva também foi comprovada com os testes realizados a campo, nas duas propriedades do estado de São Paulo.

Possivelmente, o aumento de 49% no ganho de peso diário se deve ao fato de que os animais que recebem a massa de bactérias de exclusão competitiva obtêm uma microbiota funcional em um tempo menor do que os animais que não recebem a massa bacteriana.

Com os resultados tanto da propriedade 1, como da propriedade 2, podemos observar que o uso da massa de bactérias de exclusão competitiva é capaz não só de diminuir a infecção por *Salmonella* spp. em condições experimentais, como de diminuir a mortalidade e aumentar o ganho de peso de filhotes de avestruz em condições de criação a campo.

O aumento do ganho de peso é tão importante quanto a prevenção da colonização de bactérias patogênicas, já que se trata de um fator econômico muito importante na criação de avestruzes, podendo em muitos criatórios ultrapassar 60% dos custos totais. Assim, como a criação animal deve sempre ser realizada objetivado-se alta produtividade à baixos custos (FERREIRA et al., 1998), temos uma excelente ferramenta na busca de alimento com qualidade e menores custos.

Em galinhas também é observado o aumento de ganho de peso (MOUNTZOURIS et al., 2007; SAMLI et al., 2007), apesar de não estar relacionado a um aumento da conversão alimentar (WAGNER, 2006).

Os gêneros bacterianos isolados mostraram grande susceptibilidade aos antibióticos testados. Apenas alguns gêneros apresentaram resistência a determinados antibióticos, como a bacitracina.

O pool de bactérias de exclusão competitiva mostrou susceptibilidade aos seguintes antibióticos: ácido nalidíxico, amicacina, ampicilina, amoxicilina, ceftiofur, ciprofloxacina, cloranfenicol, enrofloxacina, estreptomina, fosfomicina, florfenicol, gentamicina, kanamicina, lincospectin, neomicina, trimetoprim e vancomicina. Também apresentaram susceptibilidade intermediária à clindamicina e resistência à bacitracina, sulfonamidas e tetraciclina.

Os resultados apresentados pelas bactérias de exclusão competitiva se mostraram muito bons, visto que outros trabalhos demonstraram maiores taxas de resistência aos antibióticos em outros produtos de exclusão competitiva (WAGNER; CERNIGLIA, 2005).

O controle de patógenos causadores de enfermidades de origem alimentar tem apresentado grande resistência aos antibióticos, dificultando seu controle na população de animais e nos humanos. Com isso, a utilização de probióticos tem aparecido como uma ferramenta importante (PATTERSON; BURKHOLDER, 2003; APAJALAHTI et al., 2004), principalmente após as sucessivas proibições da utilização de antibióticos na União Européia (CASEWELL et al., 2003). A susceptibilidade das bactérias aos antibióticos testados é muito importante, já que para o controle das bactérias patogênicas nos animais não devem ser introduzidas bactérias com resistência à antibióticos, e portanto, de difícil controle.

A utilização da exclusão competitiva também pode ser útil para a manutenção dos índices de desempenho semelhantes aos que são alcançados com a utilização dos antibióticos promotores de crescimento. Na Suécia, notou-se que após a proibição da utilização de alguns antibióticos, houve queda no ganho de peso dos animais, e o aumento das infecções bacterianas (CASEWELL et al., 2003).

Existem citações de trabalhos que indicam a possibilidade da transferência de bactérias com genes de resistência à antibióticos para outros animais e humanos através da utilização de alimentos de origem animal oriundos de animais tratados com bactérias de exclusão competitiva (CASEWELL et al., 2003; KLOSE et al., 2006; WAGNER, 2006).

Outro fator de vantagem que há na utilização da exclusão competitiva é a redução da utilização de antibiótico na produção animal, apesar de não haver sua total eliminação (WAGNER, 2006). Com isso, além de diminuir a possibilidade do surgimento de resistências bacterianas, há também menor possibilidade de haver resíduos na carne para consumo humano, e diminuição dos custos de produção.

	Avestruz	Frango " <i>Gallus gallus</i> "	Aves Silvestres	Mamíferos
<i>Lactobacillus</i>	X	MEAD, 1975; LAN et al., 2002; KLOSE et al., 2006; ZHU, 2003; GONG et al., 2002; FUKATA et al., 1999; LU et al., 2003	BANGERT et al., 1988	MIKELSAAR, 1987; MARTEAU, 2001
<i>L. acidophilus</i>	X	BARNES, 1972; LU et al., 2003		MIKELSAAR, 1987
<i>L. plantarum</i>	X			
<i>L. salivarius</i>		BARNES, 1972; KLOSE et al., 2006 DUMONCEAUX et al., 2006;		
<i>L. fermentum</i>	X	BARNES, 1972; LAN et al., 2002		MIKELSAAR, 1987
<i>L. crispatus</i>		LU et al, 2003, DUMONCEAUX et al., 2006		
<i>L. delbrueckii</i>		LU et al., 2003		
<i>L. reuteri</i>		LU et al, 2003; LAN et al, 2002; KLOSE et al., 2006		
<i>L. aviarius</i>		LU et al., 2003, DUMONCEAUX et al., 2006		
<i>L. gallinarum</i>		DUMONCEAUX et al., 2006		
<i>L. buchneri</i>		DUMONCEAUX et al., 2006		
<i>L. vaginalis</i>		DUMONCEAUX et al., 2006		
<i>L. johnsonii</i>		DUMONCEAUX et al., 2006; KLOSE et al., 2006		
<i>L. vitulinus</i>	X			
<i>L. gasseri</i>	X			
<i>L. oris</i>		LAN et al., 2002		
<i>Bifidobacterium</i>	X	MEAD, 1989B; KLOSE et al., 2006; ZHU, 2003; FUKATA et al., 1999		
<i>B. gallinarum</i>		MEAD, 1989;		
<i>B. breve</i>	X			
<i>B. adolescentis</i>	X			
<i>B. dentium</i>	X			
<i>Escherichia</i>	X			
<i>E. coli</i>	X	BARNES, 1972; MEAD, 1975; LU et al., 2003; GONG et al., 2002; FUKATA et al., 1999	GLUNDER, 1981	MARTEAU, 2001
<i>Fusobacterium</i>	X	MEAD, 1989; LU et al., 2003		MIKELSAAR, 1987
<i>F. mortiferum</i>	X			
<i>F. prausnitzu</i>	X	GONG et al., 2002		
<i>Ruminococcus</i>	X	LU et al., 2003; GONG et al., 2002		MARTEAU, 2001
<i>R. obeum</i>	X			
<i>R. torques</i>	X			
<i>R. callidus</i>	X			

(continua)

(continuação)

	Avestruz	Frango "Gallus gallus"	Aves Silvestres	Mamíferos
<i>Propionibacterium</i>	X			
<i>P. jensenii</i>	X			
<i>P. acido-propionici</i>	X			
<i>Bacteróides</i>	X	LU et al., 2003; LAN et al., 2002; MEAD, 1989B; FUKATA et al., 1999		MARTEAU, 2001
<i>B. hypermegas</i>		MEAD, 1989		
<i>B. clostridiformis</i>		BARNES, 1972		
<i>B. caccae</i>	X			
<i>B. ovatus</i>	X			
<i>Klebsiella</i>	X			
<i>K. oxytoca</i>	X			
<i>K. pneumoniae</i>	X			
<i>K. planticola</i>	X			
<i>Eubacterium</i>	X	BARNES, 1972; MEAD, 1989B; GONG et al., 2002		MARTEAU, 2001
<i>E. rectale</i>	X			
<i>E. contortum</i>	X			
<i>E. saburreum</i>	X			
<i>Enterococcus</i>	X	MEAD, 1989; LU et al., 2003; LAN et al., 2002; ZHU, 2003; GONG et al., 2002	BANGERT et al., 1988	MIKELSAAR, 1987; MARTEAU, 2001
<i>E. faecalis</i>	X	BARNES, 1972; MEAD, 1975; BARNES, 1980		
<i>E. faecium</i>	X	BARNES, 1972; LU et al., 2003; BARNES, 1980; KLOSE et al., 2006		
<i>E. avium</i>		MEAD, 1989		
<i>E. gallinarum</i>	X	MEAD, 1989		
<i>E. durans</i>		LU et al., 2003		
<i>E. cecorum</i>		DUMONCEAUX et al., 2006		
<i>E. hirae</i>	X			
<i>E. mundtii</i>	X			
<i>Lawsonia</i>	X			
<i>L. intracellularis</i>	X	MEAD, 1989		COOPER et al., 1997
<i>Bacillus</i>	X	LU et al., 2003; LAN et al., 2002	BANGERT et al., 1988	
<i>B. macquariensis</i>	X			

Quadro 12 – Ocorrência do isolamento de gêneros e espécies bacterianas em avestruzes, “Gallus gallus”, aves silvestres e mamíferos. São Paulo, 2007

6 CONCLUSÕES

- 1 - As bactérias isoladas do trato entérico são semelhantes às aquelas encontradas em frangos (*Gallus gallus*), com grande variedade de gêneros e espécies.
- 2 - As bactérias de exclusão competitiva excluem *Salmonella* Typhimurium em avestruzes, sendo eficazes na prevenção de doenças bacterianas entéricas.
- 3 - As bactérias de exclusão competitiva melhoram o desempenho zootécnico, influenciando positivamente no ganho de peso dos animais.
- 4 - As bactérias de exclusão competitiva quando utilizadas em criações comerciais são capazes de reduzir a mortalidade de avestruzes.
- 5 - As bactérias isoladas do trato entérico de avestruzes não carregam resistência às diferentes drogas antimicrobianas.

REFERÊNCIAS

- ANDREATTI FILHO, R. L.; SAMPAIO, H. M.; BARROS, M. R.; GRATÃO, P. R.; CATANEO, A. Use of cecal microflora cultured under aerobic or anaerobic conditions in the control of experimental infection of chicks with *Salmonella* Enteridis. **Veterinary Microbiology**, v. 92, p. 237-244, 2003.
- APAJALAHTI, J.; KETTUNEN, 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.
- ATLAS, R. **Handbook of microbiological media**. Florida: CRC Press, 1997. 1706 p.
- BABADOPULOS, P. **Padronização de um sistema de PCR multiplex para detecção de *Salmonella Enteritidis*, *Escherichia coli* 0157:H7, *Enterococcus faecalis* resistente a vancomicina e *Campilobacter jejuni***. 2001. 54 p. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo. , São Paulo, 2001.
- BANGERT, R. L.; CHO, B. R.; WIDDERS, P. R. A Survey of aerobic bacteria and fungi in the feces of healthy psittacine birds. **Avian Diseases**. Georgia, v. 32, p. 46-52, 1988.
- BARNES, E. M.; CLIVE, S. I.; COOPER, D. M. Manipulation of the crop and intestinal flora of the newly hatched chick. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 33, p. 2426-2433, 1980.
- BARNES, E. M.; MEAD, G. C.; BARNUM, D. A.; HARRY, E. G. The intestinal flora of chicken in the period 2 to 6 weeks of age, with particular reference to anaerobic bacteria. **British Poultry Science**, v. 13, p. 311-326, 1972.
- BERCHIERI JR., A. Salmoneloses aviárias. In: BERCHIERI JR., A.; MACARI, M. **Doenças das aves**. Campinas, FACTA, 2000. p. 185-195.
- BERENDSEN, K. D. Behaviour In: KREIBICH, A.; SOMMER, M. **Ostrich farm management**. Muster-Hiltrup, Germany, Landwirtschaftsverlag GmbH, 1995, p. 25-32.
- BIBERSTEIN, E. L.; HIRSH, D. C. O Gênero *Bacillus*. In: HIRSH, D. C.; ZEE, Y. C. **Microbiologia veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003, p. 231-234.
- BRENNER, D. J. Family I. Enterobacteriaceae. In: KRIEG, N. R.; HOLT, J. G. **Bergey's manual of sistematic bacteriology**. Baltimore: Williams & Wilkins, 1986. v. 1, p. 408-420.

- BRYANT, M. P. Genus ruminococcus. In: KRIEG, N. R.; HOLT, J. G. **Bergey's manual of sistematic bacteriology**. Baltimore: Williams & Wilkins, 1986. v. 2, p. 1093-1097.
- BUXADÉ, C. Bases estructurales – consideraciones previas. In: CARBÓ, C. B. **Producción del avestruz: aspectos claves**. Madrid, Espanha: Ediciones Mundi-Prensa, 2003. p. 27-32.
- CARBAJO, E. La reproducción – principios anatomico-fisiologicos de la reproducción. In: CARBÓ, C. B. **Producción del avestruz: aspectos claves**. Madrid, Espanha: Ediciones Mundi-Prensa, 2003. p. 155-172.
- CARRER, C. C.; KORNFELD, M. E. Importância econômica, mercado e produtos. In: CARRER, C. C.; KORNFELD, M. E. **A criação de avestruzes no Brasil**. Pirassununga, SP: Brasil Ostrich, 1999b. p. 25-51.
- CARRER, C. R. O.; SILVA, E. M. P.; KORNFELD, M. E.; CARRER, C. C. Origem, biologia e meio ambiente. In: CARRER, C. C.; KORNFELD, M. E. **A criação de avestruzes no Brasil**. Pirassununga, SP: Brasil Ostrich, 1999a. p. 5-20.
- CASEWELL, M.; FRIIS, C.; MARCO, E.; MCMULLIN, P.; PHILLIPS, I. The European ban on growth-promoting antibiotics and emerging consequences for human and animal health. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 52, p. 159-161, 2003.
- CLAUS, D.; BERKELEY, R. C. W. Genus bacillus. In: KRIEG, N. R.; HOLT, J. G. **Bergey's manual of sistematic bacteriology**. Baltimore: Williams & Wilkins, 1986. v. 2, p. 1105-1138.
- COOPER, D. M.; SWANSON, D. L.; GEBHART, C. J. Diagnosis of proliferative enteritis in frozen and formalin-fixed, paraffin-embedded tissues from a hamster, horse, deer and ostrich using a *Lawsonia intracellularis*-specific multiplex PCR assay. **Veterinary Microbiology**, v. 54, p. 47-62, 1997.
- CORRIER, D. E.; HOLLISTER, A. G.; NISBET, D. J.; SCANLAN, C. M.; BEIER, R. C.; DELOACH, J. R. Competitive exclusion of Salmonella enteridis in leghorn chicks: Comparison of treatment by crop gavage, drinking water, spray, or lyophilized alginate beads. **Avian Diseases**, v. 38, p. 297-303, 1994.
- CUMMINS, C. S.; JOHNSON, J. L. Genus I. propionibacterium. In: KRIEG, N. R.; HOLT, J. G. **Bergey's manual of sistematic bacteriology**, Baltimore: Williams & Wilkins, 1986. v. 2, p. 1346-1353.
- DEEMING, D. C. Introduction. In: DEEMING, D. C. **The ostrich: biology, production and health**. Manchester, UK: CABI Publishing, 1999. p. 1-12.

DEEMING, D. C.; AR, A. Factors affecting the success of commercial incubation. In: DEEMING, D. C. **The Ostrich: biology, production and health**. Manchester, UK: CABI Publishing, 1999. p. 159-190.

DEEMING, D. C.; BUBIER, N. E. Behaviour in natural and captive environments. In: DEEMING, D. C. **The Ostrich: biology, production and health**. Manchester, UK: CABI Publishing, 1999. p. 83-104.

DIFCO LABORATORIES. **Manual difco, medios de cultivo, deshidratados y reactivos para microbiología**. 10. ed. Madrid, Espanha: Letras, 1984.

DUMONCEAUX, T. J.; HILL, J. E.; HEMMINGSEN, S. M.; VAN KESSEL, A. G. Characterization of intestinal microbiota and response to dietary virginiamycin supplementation in broiler chicken. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 72, n. 4, p. 2815-2823, 2006.

FERREIRA, A. J. P.; FERREIRA, C. A.; KNOBL, T.; MORENO, A. M.; BACARRO, M. R.; CHEN, M.; ROBACH, M.; MEAD, G. C. Comparison of Three Commercial Competitive Exclusion Products for Controlling *Salmonella* Colonization of Broilers in Brazil. **Journal of Food Protection**, v. 66, n. 3, p. 490-492, 2003.

FERREIRA, A. J. P.; FERREIRA, C. A.; PETRELLA NETO, R.; OLIVEIRA, D. R.; NURMBERGER JÚNIOR, R.; LOPES, V. C. B. A. Probiotics: benefits and efficiency in poultry production. **Arquivo do Instituto Biológico**, v. 65, n. 2, p. 139-149, 1998.

FERREIRA, A. J. P.; KNÖBL, T. Colibacilose aviária. In: BERCHIERI JR., A.; MACARI, M. **Doenças das aves**. Campinas: FACTA, 2000. p. 197-204.

FERREIRA, A. J. P.; PIZARRO, L. D. C. R.; LEME, I. L. Probióticos e prebióticos. In: SPINOSA, H. S.; GÓRNIK, S. L.; BERNARDI, M. M. **Farmacologia aplicada à medicina veterinária**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. p. 574-578.

FERREIRA, A. W.; AVILA, S. L. M. **Diagnóstico laboratorial das principais doenças infecciosas e auto-imunes**, 2. ed., Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 2001.

FUKATA, T.; SASAI, K.; MIYAMOTO, T.; BABA, E. Inhibitory effects of competitive exclusion and fructooligosaccharide, singly and in combination, on *Salmonella* colonization of chicks. **Journal of Food Protection**, v. 62, n. 3, p. 229-233, 1999.

GALDEANO, C. M.; PERDIGÓN, G. Role of viability of probiotic strains in their persistence in the gut and in mucosal immune stimulation. **Journal of Applied Microbiology**. Doi:10.1111/j.1365-2672, 2004.

GLÜNDER, G. Occurrence of *Enterobacteriaceae* in feces of granivorous passeriform birds. **Avian Diseases**, Georgia, v. 25, n. 1, p. 195-198, 1981.

GONG, J.; FOSTER, R. J.; YU, H.; CHAMBERS, J. R.; SABOUR, P. M.; WHEATCROFT, R.; CHEN, S. Diversity and phylogenetic analysis of bacteria in the mucosa of chicken ceca and comparison with bacteria in the cecal lumen. **FEMS Microbiology Letters**, v. 208, p. 1-7, 2002.

HAGHIGHI, H. R.; GONG, J.; GYLES, C. L.; HAYES, M. A.; ZHOU, H.; SANEI, B.; CHAMBERS, J. R.; SHARIF, S. Probiotics stimulate production of natural antibodies in chickens. **Clinical and Vaccine Immunology**, v.13, n. 9, p. 975-980, 2006.

HAYES, J. Bases estructurales – El avestruz en Sudáfrica y en países terceros. In: CARBÓ, C. B. **Producción del avestruz: aspectos claves**. Madri, Espanha: Ediciones Mundi-Prensa, 2003. p. 33-52.

HERRAEZ, P.; RODRIGUEZ, A. F.; ESPINOSA DE LOS MONTEROS, A.; ACOSTA, A. B.; JABER, J. R.; CASTELLANO, J.; CASTROA, A. Fibrino-necrotic typhilitis caused by *Escherichia fergusonii* in ostriches (*Struthio camelus*). **Avian Diseases**, v. 49, n. 1, p. 167-169, 2005.

HINTON A.; CORRIER D. E.; SPATES G. E.; NORMAN J. O.; ZIPRIN R. L.; BEIER R. C.; DELOACH J. R. Biological control of *Salmonella typhimurium* in young chickens. **Avian Diseases**, v. 34, p. 626-633, 1990.

HIRSH, D. C. *Escherichia*. In: HIRSH, D. C.; ZEE, Y. C. **Microbiologia veterinária**. Rio de Janeiro; Guanabara Koogan, 2003. p. 63-68.

HOLDEMAN, L. V.; KELLEY, R. W.; MOORE, W. E. Genus I. bacteroides. In: KRIEG, N. R.; HOLT, J. G. **Bergey's manual of sistematic bacteriology**. Baltimore: Williams & Wilkins, 1986. v. 1, p. 604-631.

HOLT, J. G.; KRIEG, N. R.; SNEATH, P. H. A.; STALEY, J. T.; WILLIAMS, S. T. Group 5 Facultatively anaerobic gram-negative rods. HOLT, J. G.; KRIEG, N. R.; SNEATH, P. H. A.; STALEY, J. T.; WILLIAMS, S. T. **Bergey's manual of determinative bacteriology**. 9. ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1993a. p. 175-290.

HOLT, J. G.; KRIEG, N. R.; SNEATH, P. H. A.; STALEY, J. T.; WILLIAMS, S. T. Group 6 gram-negative, anaerobic, straight, curved, and helical bacteria. HOLT, J. G.; KRIEG, N. R.; SNEATH, P. H. A.; STALEY, J. T.; WILLIAMS, S. T. **Bergey's manual of determinative bacteriology**. 9. ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1993b. p. 291-334.

HOLT, J. G.; KRIEG, N. R.; SNEATH, P. H. A.; STALEY, J. T.; WILLIAMS, S. T. Group 17 gram-positive cocci. HOLT, J. G.; KRIEG, N. R.; SNEATH, P. H. A.; STALEY, J. T.; WILLIAMS, S. T. **Bergey's manual of determinative bacteriology**. 9. ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1993c. p. 527-558.

HOLT, J. G.; KRIEG, N. R.; SNEATH, P. H. A.; STALEY, J. T.; WILLIAMS, S. T. Group 19 regular, nonsporing gram-positive rods. HOLT, J. G.; KRIEG, N. R.; SNEATH, P. H. A.; STALEY, J. T.; WILLIAMS, S. T. **Bergey's manual of determinative bacteriology**. 9. ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1993d. p. 565-570.

HOLT, J. G.; KRIEG, N. R.; SNEATH, P. H. A.; STALEY, J. T.; WILLIAMS, S. T. Group 20 irregular, nonsporing gram-positive rods. HOLT, J. G.; KRIEG, N. R.; SNEATH, P. H. A.; STALEY, J. T.; WILLIAMS, S. T. **Bergey's manual of determinative bacteriology**. 9. ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1993e. p. 571-596.

HUCHZERMEYER, F. W. Aspectos importantes da criação de avestruzes. In: HUCHZERMEYER, F. W. **Doenças de avestruzes e outras ratitas**. Jaboticabal: Funep, 2000b. p. 74-138.

HUCHZERMEYER, F. W. Doenças dos filhotes. In: HUCHZERMEYER, F. W. **Doenças de avestruzes e outras ratitas**. Jaboticabal: Funep, 2000c, p. 139-170.

HUCHZERMEYER, F. W. O avestruz e outras ratitas. In: HUCHZERMEYER, F. W. **Doenças de avestruzes e outras ratitas**. Jaboticabal: Funep, 2000a. p. 8-73.

HUME, M. E.; CORRIER, D. E.; NISBET, D. J.; DELOACH, J. R. Reduction of Salmonete crop and cecal colonization by a characterized competitive exclusion culture in broilers during grow-out. **Journal of Food Protection**, v. 59, n. 7, p. 688-693, 1996.

ITURRINO, R. P. S.; ISHI, M. Clostridioses em aves. In: BERCHIERI JR., A.; MACARI, M. **Doenças das aves**. Campinas: FACTA, 2000. p. 239-249.

KANDLER, O.; WEISS, N. Regular, nonsporing gram-positive rods. In: KRIEG, N. R.; HOLT, J. G. **Bergey's manual of sistematic bacteriology**. Baltimore: Williams & Wilkins, 1986. v. 2, p. 1208-1234.

KARAMA, M.; DE JESUS, A. E.; VEARY, C. M. Microbial quality of ostrich carcasses produced at an export-approved South African abattoir. **Journal of Food Protection**, v. 66, n. 5, p. 878-881, 2003.

KLOSE, V.; MOHN, M.; PLAIL, R.; SCHATZMAYR, G.; LOIBNER, A. Development of a competitive exclusion product for poultry meeting the regulatory requirements for

registration in the European Union. **Molecular Nutrition Food Research**, v. 50, p. 563-571, 2006.

KORNFELD, M. E.; CARRER, C. C. Instalações e manejo. In: CARRER, C. C.; KORNFELD, M. E. **A criação de avestruzes no Brasil**, Pirassununga, SP: Brasil Ostrich, 1999. p. 81-106.

KORNFELD, M. E.; CELEGHINI, E. C. C. Reprodução. In: CARRER, C. C.; KORNFELD, M. E. **A criação de avestruzes no Brasil**, Pirassununga, SP: Brasil Ostrich, 1999. p. 169-183.

KORNFELD, M. E.; ELMÔR, R. A.; CARRER, C. C. Incubação de ovos de avestruzes. In: KORNFELD, M. E.; ELMÔR, R. A.; CARRER, C. C. **Avestruzes no Brasil: incubação e criação de filhotes**, Pirassununga, SP: Brasil Ostrich, 2001. p. 13-55.

KREIBICH, A.; SOMMER, M. Basic data. In: KREIBICH, A.; SOMMER, M. **Ostrich farm management**. Muster-Hiltrup, Germany: Landwirtschaftsverlag GmbH, 1995. p. 11-24.

KREIBICH, A.; SOMMER, M. Chick rearing. In: KREIBICH, A.; SOMMER, M. **Ostrich farm management**. Muster-Hiltrup, Germany: Landwirtschaftsverlag GmbH, 1995f. p. 117-121.

KREIBICH, A.; SOMMER, M. Feeding. In: KREIBICH, A.; SOMMER, M. **Ostrich farm management**. Muster-Hiltrup, Germany, Landwirtschaftsverlag GmbH, 1995d, p. 50-70.

KREIBICH, A.; SOMMER, M. Products In: KREIBICH, A.; SOMMER, M. **Ostrich farm management**. Muster-Hiltrup, Germany: Landwirtschaftsverlag GmbH, 1995b, p. 33-35.

KREIBICH, A.; SOMMER, M. Reproduction. In: KREIBICH, A.; SOMMER, M. **Ostrich farm management**. Muster-Hiltrup, Germany: Landwirtschaftsverlag GmbH, 1995e. p. 93-116.

KREIBICH, A.; SOMMER, M. The economics of ostrich management. In: KREIBICH, A.; SOMMER, M. **Ostrich farm management**. Muster-Hiltrup, Germany: Landwirtschaftsverlag GmbH, 1995c. p. 36-49.

KWON, Y. K.; LEE, Y. J.; MO, I. P. An outbreak of necrotic enteritis in the ostrich farm in Korea. **Avian Pathology**, v. 66, n. 12, p. 1613-1615, 2004.

LAN, P. T. N.; HAYASHI, H.; SAKAMOTO, M.; BENNO, Y. Philogenetic analysis of cecal microbiota in chicken by use of 16S rDNA clone libraries. **Microbiology immunology**, v. 46, n. 6, p. 371-382, 2002.

LEE, Y. J.; KANG, M. S.; WOO, Y. K.; MO, I. P.; TAK, R. B. Competitive exclusion against *Salmonella* gallinarum of *Salmonella* enteritidis infected chickens. **Journal of veterinary science**, v. 2, n. 1, p. 33-36, 2001.

LEY, E. C.; MORISHITA, T. Y.; BRISKER, T.; HARR, B. S. Prevalence of *Salmonella*, *Campylobacter*, and *Escherichia coli* on ostrich carcasses and the susceptibility of ostrich-origin *E. Coli* isolates to various antibiotics. **Avian diseases**, v. 45, n. 3, p. 696-700, 2001.

LU, J.; UMELALIM, I.; HARMON, B.; HOFACRE, C.; MAURER, J. J.; LEE, M. Diversity and succession of intestinal bacterial community of the maturing broiler chicken. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 69, n. 11, p. 6816-6824, 2003.

LU, L.; WALKER, W. A. Pathologic and physiologic interactions of bacteria with the gastrointestinal. **American Journal Clinical Nutrition**, v. 73, p. 1124S-30S, 2001, supplement.

MARTEAU, P.; POCHART, P.; DORE, J.; BERA-MAILLET, C.; BERNALIER, A.; CORTIER, G. Comparative study of bacterial groups within the human cecal and fecal microbiota. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 67, n. 10, p. 4939-4942, 2001.

MASSA, S.; SARRA, P. G.; CANGANELLA, F.; TROVATELLI, D. Protection of young chicks against *Salmonella* kedougou by administration of intestinal microflora. **International Journal of Food Microbiology**, v. 40, p. 123-126, 1998.

MEAD, G. C. Microbes of avian caecum: types present and substrates utilised. **Journal of Experimental Zoology Supplement**, v. 3, p. 48-54, 1989b.

MEAD, G. C. Prospects for competitive exclusion treatment to control *Salmonellas* and other foodborne pathogens in poultry. **Veterinary Journal**, v. 159, p. 111-123, 2000.

MEAD, G. C.; BARROW, P. A.; HINTON, M. H.; HUMBERT, F.; IMPEY, C. S.; LAHELLEC, C.; MULDER, R. W. A. W.; STAVRIC, S.; STREN, N. J. Recommended assay for treatment of chicks to prevent *Salmonella* colonization by competitive exclusion. **Journal of Food Protection**, v. 52, n. 7, p. 500-502, 1989a.

MEAD, G. C.; ADAMS, B. W. Some observations on the caecal microflora of the chick during the first two weeks of life. **British Poultry Science**, v. 16, p. 169-176, 1975.

MEAD, G. C.; SCOTT, M. J.; HUMPHREY, T. J.; McALPINE, K. Observations on the control of *Campylobacter jejuni* infection of poultry by 'competitive exclusion'. **Avian Pathology**, v. 25, p. 69-79, 1996.

METHNER, U.; BARROW, P. A.; BERNDT, A.; STEINBACH, G. Combination of vaccination and competitive exclusion to prevent *Salmonella* colonization in chickens: experimental studies. **International Journal of Food Microbiology**, v. 49, p. 35-42, 1999.

MIKELSAAR, M.; TÜRİ, M.; LENCNER, H.; KOLTS, R.; KIRCH, R.; LENCNER, A. Interrelations between Mucosal and Luminal Microbiota of Gastrointestine. **Die Nahrung**, v. 31, p. 449-456, 1987.

MITSUOKA, T. Comparative studies on *Lactobacillus* from feces of man, swine and chicken. **Zentralbl Bakteriologie**, v. 210, p. 32-51, 1969.

MOORE, W. E. C.; HOLDEMAN MOORE, L. V. Genus *Eubacterium*. In: KRIEG, N. R.; HOLT, J. G. **Bergey's manual of systematic bacteriology**. Baltimore: Williams & Wilkins, 1986. v. 2, p. 1353-1373.

MORENO, A. M. **Enterite proliferativa suína: aspectos anatomopatológicos e epidemiológicos**. 1999. 75p. Dissertação (mestrado) –Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1999.

MOUNTZOURIS, K. C.; TSIRTSIKOS, P.; KALAMARA, E.; NITSCH, S.; SCHATZMAYR, G.; FEGEROS, K. Evaluation of the efficacy of a probiotic containing *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus*, and *Pediococcus* strains in promoting broiler performance and modulating cecal microflora composition and metabolic activities. **Poultry Science**, v. 86, p. 309-317, 2007.

MUNDT, J. O. *Enterococci*. In: KRIEG, N. R.; HOLT, J. G. **Bergey's manual of systematic bacteriology**, Baltimore: Williams & Wilkins, 1986. v. 2, p. 1063-1065.

NETO, J. P. Considerações gerais sobre o uso de promotores de crescimento. In: SPINOSA, H. S.; GÓRNIK, S. L.; BERNARDI, M. M. **Farmacologia aplicada à medicina veterinária**, 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. p. 523-527.

NUOTIO, I.; SCHNEITZ, C.; HALONEN, U.; NURMI, E. Use of competitive exclusion to protect newly-hatched chicks against intestinal colonization and invasion by *Salmonella* Enteridis PT4. **British Poultry Science**, v. 33, p. 775-779, 1992.

NURMI, E.; NUOTIO, L.; SCHNEITZ, C. The Competitive exclusion concept: development and future. **International Journal of Food Microbiology**, v. 15, p. 227-240, 1992.

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

OUWEHAND, A. C.; NIEMI, P.; SALMINEN, S. J. The normal faecal microflora does not affect the adhesion of probiotic bacteria in vitro. **FEMS Microbiology Letters**, v. 177, p. 35-38, 1999.

PATTERSON, J. A.; BURKHOLDER, K. M. Application of prebiotics and probiotics in poultry production. **Poultry Science**, v. 82, p. 627-631, 2003.

RANTALA, M.; NURMI, E. Prevention of the growth of *Salmonella infantis* in chicks by the flora of alimentary tract of chickens. **British Poultry Science**, v. 14, p. 627-630, 1973.

REVOLLEDO PIZARRO, L. **Estudo comparativo da eficiência de culturas bacterianas experimentais de exclusão competitiva para a prevenção por salmonella paratifóide em frangos de corte**. 2001. 74 p. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2001.

REVOLLEDO, L.; FERREIRA, C. S. A.; FERREIRA, A. J. P. Comparison of experimental competitive exclusion cultures for controlling *Salmonella* colonization in broiler chicks. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 34, p. 354-358, 2003.

SALES, J. Slaughter and products. In: DEEMING, D. C. **The ostrich: biology, production and health**. Manchester, UK: CABI Publishing, 1999. p. 231-274.

SAMLI, H. E.; SENKOYLU, N.; KOC, F.; KANTER, M.; AGMA, A. Effects of enterococcus faecium and dried whey on broiler performance, gut histomorphology and intestinal microbiota. **Arch Animal Nutrition**, v. 61, n. 1, p. 42-49, 2007.

SOLEY, J. T.; GROENEWALD, H. B. Reproduction. In: DEEMING, D. C. **The Ostrich: biology, production and health**. Manchester, UK: CABI Publishing, 1999. p. 129-158.

SPIEGEL, M. **Estatística**. São Paulo: Makron Books do Brasil Editora LTDA., 1994. 643 p.

SWART, D.; MACKIE R. I.; HAYES J. R. Influence of live mass, rate of passage and site of digestion on energy metabolism and fibre digestion in the ostrich (*Struthio camelus var. domesticus*). **South African Journal of Animal Science**, v. 23, p. 119-126, 1993a.

SWART, D.; MACKIE, R. I.; HAYES, J. R. Fermentative digestion in the ostrich (*Struthio camelus var. domesticus*), a large avian species that utilizes cellulose. **South African Journal of Animal Science**, v. 23, p. 127-135, 1993b.

WAGNER, R. D. Efficacy and food safety considerations of poultry competitive exclusion products. **Molecular Nutrition Food Research**, v. 50, p. 1061-1071, 2006.

WAGNER, R. D.; CERNIGLIA, C. E. Antimicrobial susceptibility patterns of competitive exclusion bacteria applied to newly hatched chickens. **International Journal of Food Microbiology**, v. 102, p. 349-353, 2005.

ZHAO, T.; PODTBURG, T. C.; ZHAO, P.; SCHIMIDT, B. E.; BAKER, D. A.; CORDS, B.; DOYLE, M. P. Control of *Listeria* spp. by competitive exclusion bacteria in floor drains of poultry processing plant. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 72, n. 5, p. 3314-3320, 2006.

ZHU, X. Y.; JOERGER, R. D. Composition of microbiota in content and mucus from cecae of broiler chickens as measured by fluorescent in situ hybridization with group-specific, 16S rRNA-targeted oligonucleotide probes. **Poultry Science**, v. 82, n. 8, p. 1242-1249, 2003.