RODRIGO DO PRADO PULICI

**AVALIAÇÃO DA RESPOSTA DO USO DA EXCLUSÃO
COMPETITIVA (CE) EM DESEMPENHO E IMUNIDADE EM
FRANGOS DE CORTE**

Pirassununga
2008

RODRIGO DO PRADO PULICI

**Avaliação da resposta do uso da exclusão competitiva (ce) em desempenho e imunidade
em frangos de corte**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Produção Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária

Departamento:

Nutrição e Produção Animal

Área de Concentração:

Nutrição e Produção Animal

Orientador:

Prof. Dr. Ricardo de Albuquerque

Pirassununga
2008

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.1988
FMVZ

Pulici, Rodrigo do Prado

Avaliação da resposta do uso da exclusão competitiva (ce) em desempenho e imunidade em frangos de corte / Rodrigo do Prado Pulici.
– Pirassununga : R. P. Pulici, 2008.
53 f. : il.

Dissertação (mestrado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Reprodução e Produção Animal.

Programa de Pós-Graduação: Reprodução e Produção Animal.
Área de concentração: Reprodução e Produção Animal.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo de Albuquerque.

1. Exclusão Competitiva. 2. *Salmoneloses*. 3. Doença de Newcastle.
4. Desempenho. I. Título.

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome: Pulici, Rodrigo do Prado

Título: Avaliação da resposta do uso da exclusão competitiva (ce) em desempenho e imunidade em frangos de corte

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Nutrição e Produção Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária

Aprovado em: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

*A Deus, o Grande Arquiteto do Universo,
à minha esposa e filha
e à toda minha família.
DEDICO ESTE*

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Ricardo de Albuquerque pela amizade, dedicação e orientação; poucos homens no mundo têm caráter como desta pessoa.

Ao Departamento de Nutrição e Produção Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo pela oportunidade e a todos os professores que fizeram parte deste caminho.

Ao Prof. Dr. Alexander Spers, e seu filho, o Prof. Dr. Rodolfo Spers, por me “ingressarem” na vida acadêmica após a minha graduação.

A Prof. Dra. Maria de Fátima Martins, pelo carinho, apoio e dedicação, não só ao meu trabalho como à minha formação.

Ao Prof. Dr. Ângelo Berchieri Junior, incentivador e entusiasta da Exclusão Competitiva.

Aos funcionários, China, Edinho e Pedro, pela responsabilidade e trabalhos durante a condução do experimento.

À minha família, em especial, minha esposa Patrícia, pelas várias palavras de incentivos, apoio, e à minha filha Isadora, pelos momentos de ausência; e a toda minha família.

Aos meus pais Carlos e Teresinha pela vida e pela longa caminhada até hoje junto de mim.

À minha irmã Sofia pelo trabalho de formatação e ensinamentos com estes tantas vezes.

A todos os colegas do curso de Pós-Graduação, em especial, Aryana, Estela, Rafael, Vinícius e Pascoal. Agradeço a todos pelo apoio na elaboração e condução deste trabalho; sem vocês não seria possível a adequada execução deste.

Aos colegas da empresa onde trabalho pelo esforço quando da minha ausência nos momentos de estudo, em especial Bruno e Silvia pelo auxílio nas coletas de dados e inoculação.

Aos pesquisadores, Dr. Guilherme de Castro, Eliana e Ana Lúcia, do Instituto Biológico, Centro Avançado de Pesquisa Tecnológica do Agronegócio Avícola de Descalvado, pela realização das análises sorológicas vacinais contra a doença de Newcastle.

Às empresas Fort Dodge, Elanco e Imuvet pelo fornecimento dos produtos testados, bem como à Tortuga que forneceu os suplementos vitamínico-minerais utilizados.

A todos aqueles de alguma forma se envolveram com este trabalho, meus sinceros agradecimentos e reconhecimento.

Um agradecimento especial a Deus, que trilhou meu caminho e esteve comigo em todas as adversidades da minha vida pessoal, profissional e acadêmica.

*“Não me interessa nenhuma religião cujos princípios não melhoram nem levam em
consideração as condições dos animais”
(Abraham Lincoln)*

*“Se você foi bem sucedido, pergunte a si mesmo porque, e tente repetir a ação. Se você
fracassou, pergunte a si mesmo porque, e aprenda com a experiência.”
(Dale Carnegie)*

RESUMO

PULICI, R. P. **Avaliação da resposta do uso da exclusão competitiva (ce) em desempenho e imunidade em frangos de corte.** [Evaluation of a competitive exclusion of performance and immunity for broilers]. 2008. 53 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2008.

O uso de antibióticos promotores de crescimento de forma indiscriminada vem causando enorme preocupação a cada ano por causa de uma possível resistência cruzada. Essa é uma das razões pela quais pesquisas vêm sendo desenvolvidas para substituição destes agentes por produtos naturais e/ou alternativos. Desde 1973 o Conceito de Exclusão Competitiva (CE) vem sendo estudado e usado na avicultura mundial. Com esse objetivo, inúmeras pesquisas relacionadas com produtos de Exclusão Competitiva vêm demonstrando, ao passar dos anos, não só a eficiência desse método no controle de patógenos indesejáveis como *Salmonella spp*, como também sua eficácia em desempenho zootécnico. Dessa forma, o presente estudo teve como objetivo verificar a influência de um produto de Exclusão Competitiva sobre os índices zootécnicos e parâmetros de imunidade de frangos de corte, tendo um antibiótico e um controle para comparação. A revisão bibliográfica também apresenta pesquisas sobre o controle de *Salmonella spp* com o uso da CE. Foram utilizados 420 pintos de corte, criados até 42 dias de idade em gaiolas. O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, com 3 tratamentos: Dieta basal (DB) com Antibiótico; DB com produto de Exclusão Competitiva, e DB sem Antibiótico (controle); sendo 20 repetições/tratamento. Quanto ao desempenho zootécnico e, considerando-se o período total de criação, o produto de Exclusão Competitiva testado demonstrou efeito benéfico para os valores de ganho médio de peso (GMP) e peso final (PF), que foram melhores ou similares comparados ao antibiótico principalmente até a fase final de criação. Já os resultados de conversão alimentar e mortalidade mostraram-se melhores com o uso da CE quando foram comparados com os demais tratamentos. Com relação à imunidade, a Exclusão Competitiva não apresentou efeito sobre o parâmetro avaliado neste trabalho. Diante dos resultados aqui obtidos, conclui-se que os ensaios com aditivos alternativos devem continuar, já que houve evidências de seus possíveis efeitos benéficos na produção animal.

Palavras-chave: Exclusão Competitiva. *Salmoneloses*. Doença de Newcastle. Desempenho.

ABSTRACT

PULICI, R. P. **Evaluation of a competitive exclusion of performance and immunity for broilers.** [Avaliação da resposta do uso da exclusão competitiva (ce) em desempenho e imunidade em frangos de corte]. 2008. 53 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2008.

The use of growth-promoting antibiotics inappropriately has been addressing concerns every year for possible cross-resistance. This is one of the reasons why studies have been carried through to replace such agents by natural and/or alternative products. Since 1973, the concept of Competitive Exclusion (CE) has been studied and used in poultry raising worldwide. Aiming at reaching the said objective, several studies on Competitive Exclusion products have been showing, over the years, not only how effective the method is in controlling undesirable pathogens, such as *Salmonella ssp*, but also its efficacy for animal performance. Thus, the present paper aims at verifying the influence of a Competitive Exclusion product on zoological properties and immunity parameters for broilers, having one antibiotic group and one control group for comparison. In addition, the bibliography includes studies on the control of *Salmonella ssp* when CE is used. A total of 420 broilers, reared in cages for maximum 42 days of age, have been used. The study design consisted in a randomized study, with three treatment groups: Baseline diet (DB) and antibiotic; DB and Competitive Exclusion, DB without Antibiotic (control); with 20 repetitions/treatment. With regard to animal performance and, considering total breeding period, the investigational Competitive Exclusion product has showed beneficial effect on average weight gain (GMP) and final weight (PF) values, which have been found to be improved or similar to the antibiotic group, specially when used until the final breeding stage. In turn, the results for feed conversion and mortality have showed to be improved when CE was used in comparison to the other two treatments. In relation to immunity, Competitive Exclusion has not affected the immunity parameter assessed in this paper. According to the results found in this study, it can be concluded that the use of alternative additives should be further studied, as evidences of their possible beneficial effects on animal raising have been found.

Key-words: Competitive Exclusion. *Salmonellosis*. Newcastle Disease. Performance.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - <i>Salmonella</i> vista pelo microscópio	20
Figura 2 - Ciclo de infecção de <i>Salmonella typhimurium</i> em frangos.	24
Figura 3 - <i>Salmonella</i> DT104	31
Figura 4 – Vilosidades Intestinais	31
Figura 5 - Localização das nove unidades federativas brasileiras livres da doença de Newcastle	36

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Grupos de tratamentos em um estudo de CE para controle de <i>Salmonella</i>	32
Tabela 2 – Resultados do conteúdo cecal de aves tratadas com CE para controle de <i>Salmonella</i>	33
Tabela 3 - Resultados laboratoriais do estudo de atividade viral para a doença de Newcastle nos estados de MG, SP, DF, GO, MT, MS, PR, SC e RS, realizados no LARA/Campinas, 2003.	35
Tabela 4 - Composição Percentual e Análise Calculada das Rações experimentais.....	40
Tabela 5 - Enriquecimento com o suplemento vitamínico-mineral (vit.-min.) por kg de ração.....	40
Tabela 6 - Peso médio em gramas de frangos de corte aos 1, 21 e 42 dias de idade, sob os diferentes tratamentos.....	43
Tabela 7 - GMP - Ganho médio de peso g/dia em frangos de corte nos intervalos: 1-21 e 1-42 dias de idade sob diferentes tratamentos	43
Tabela 8 – CR- Consumo ração médio em gramas de frangos de corte nos intervalos de: 1-21; 1-35; 1-42 dias de idade sob diferentes tratamentos.	43
Tabela 9 – CA- Conversão Alimentar de frangos de corte em Kg nos intervalos de: 1-21 e 1-42 de idade sob diferentes tratamentos.....	43
Tabela 10 - Média do logaritmos dos anticorpos: resposta vacinal à doença de Newcastle em frangos de corte aos 14, 28 e 42 dias de idade, sob os diferentes tratamentos.....	44

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

μl	microlitro
APC	Antibiótico Promotor de Crescimento
CA	Conversão Alimentar
CE	Exclusão Competitiva
céls	células
CR	consumo de ração
CV	coeficiente de variação
DNC	Doença de NewCastle
ELISA	<i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i> - Ensaio Imuno-Enzimático
g	grama
GMP	ganho médio de peso
Ig G	imunoglobulina G
HI	inibição da hemaglutinação
kg	kilograma
ml	mililitro
M	mortalidade
n°	número
NaOH	hidróxido de sódio
O ₂	oxigênio
Ppm	Parte por milhão
PBS	<i>Phosphate Buffer Saline</i> (pH 7,2)
PF	Peso Final
SE NalSpc	<i>Salmonella enteritidis</i> resistente ao ácido nalidíxico e espectinomicina

SE	<i>Salmonella enteritidis</i>
sp	espécie
spp	espécies
UFC	unidades formadoras de colônias
Ton	Tonelada

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
2	OBJETIVOS	18
3	REVISÃO DE LITERATURA.....	19
3.1	HISTÓRICO DA UTILIZAÇÃO DE PROMOTORES DE CRESCIMENTO	19
3.2	GÊNERO <i>SALMONELLA</i>	21
3.3	DIGESTÃO DAS AVES E MICROBIOTA.....	25
3.3.1	O processo digestivo das galinhas	25
3.4	PROBIÓTICO E PRÉ-BIÓTICOS	29
3.5	EXCLUSÃO COMPETITIVA	29
3.6	DOENÇA DE NEWCASTLE	34
3.6.1	Teste ELISA	37
4	MATERIAL E MÉTODOS	38
4.1	LOCAL E PERÍODO EXPERIMENTAL	38
4.2	ANIMAIS	38
4.3	DIETA EXPERIMENTAL.....	38
4.4	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E TRATAMENTOS	39
4.5	MANEJO DAS AVES	41
4.6	PARÂMETROS AVALIADOS	41
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	43
6	CONCLUSÕES.....	47
	REFERÊNCIAS	48

1 INTRODUÇÃO

A revolução tecnológica, que gera mudanças em todas as áreas, chega à área de produção animal e gera um campo profícuo de experimentos que visam a qualidade da produção com melhores performances quantitativas. O presente trabalho gira nessa área de experimentos utilizando os melhores recursos tecnológicos para a melhoria da qualidade da produção de frangos de corte.

A avicultura industrial vem passando por transformações significativas com relação ao uso de produtos naturais e alternativos em substituição aos antibióticos promotores de crescimento (APC), levando em consideração a possível formação de resistência cruzada em seres humanos.

Para sustentar o desenvolvimento de toda a cadeia produtiva avícola, muitas pesquisas nas áreas de melhoramento genético, nutrição, sanidade e manejo têm sido realizadas e o uso de antibióticos em larga escala como promotores de crescimento na produção de frangos de corte, que visa o melhoramento do desempenho animal e a diminuição da mortalidade causada por infecções clínicas e subclínicas (FUKAYAMA, 2005).

Segundo Havenstein et al. (2003a), o frango atualmente cresce 4,6 vezes mais rápido do que a mesma ave criada em 1957. Seguramente, o uso de antibióticos em altas concentrações como promotores de crescimento tiveram um papel fundamental neste desenvolvimento.

Em 1970, na Finlândia, foram encontrados sorotipos de *Salmonella* avícolas e humanos semelhantes. Pesquisas nesse país descobriram a utilidade da flora intestinal normal de uma galinha adulta sobre sua progênie (NURMI; RANTALA, 1973). Nurmi, em 1973, foi o primeiro a aplicar o conceito de Exclusão Competitiva em aves, também conhecido como Conceito de Nurmi, que pode ser bem definido como “Estabelecer cedo, uma microflora intestinal adulta, prevenindo a colonização de enteropatógenos” (PIVNICK; NURMI, 1982). Vários estudos foram realizados com o passar dos anos comprovando que a Exclusão Competitiva (CE) é um meio eficaz de proteção individual para as aves contra as bactérias indesejáveis como a *Salmonella spp*, *E. coli*, *Clostridium spp* e outras.

Segundo Rantala (1973), através da Exclusão Competitiva, a ave fica protegida da transmissão horizontal de *Salmonella* vinda do meio ambiente e também da ração, e a transmissão vertical, que se dá pela reprodução, fica também minimizada.

Surgem questionamentos após anos sobre o uso de antibióticos como promotores de crescimento na alimentação de aves, Rutz (2001) descreveu existir, uma real preocupação sobre a adição de antibióticos nas dietas e temor do surgimento de resistência em relação a alguns antibióticos da linha humana. Da mesma forma existe o temor de que tal resistência possa fazer surgir resistência em bactérias de humanos após consumir carne de animais tratados com antibióticos.

2 OBJETIVOS

O objetivo do presente trabalho é obter mais esclarecimentos sobre o efeito da utilização da Exclusão Competitiva (CE) e seus benefícios, mensurando o controle de *Salmonella enteritidis* em frangos de corte, o desempenho zootécnico e a relação da CE com a imunidade nas aves.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 HISTÓRICO DA UTILIZAÇÃO DE PROMOTORES DE CRESCIMENTO

Segundo Rossi (2005), a década de 60 é o marco inicial da avicultura industrial no Brasil, pois a produção em maior escala trouxe a utilização de antimicrobianos com a função de prevenir enfermidades. Aos poucos estes passaram a ser utilizados como promotores de crescimento, ou seja, facilitadores da absorção de nutrientes no sistema digestivo em aves que são criadas sem contato nenhum com o ambiente natural. Esta situação fez surgir uma grande preocupação com a manutenção do *status* sanitário dos plantéis avícolas.

As aves nascem em incubatórios para reduzir ao mínimo a contaminação, mas a ausência de contato, após o seu nascimento, com a biota natural presente no ambiente, interfere no seu desenvolvimento intestinal. Segundo Pivnick e Nurmi (1982) a partir de 1980 descobriu-se que determinadas cepas bacterianas apresentavam resistência para alguns antibióticos, inclusive os promotores de crescimento. Como a resistência múltipla cruzada às drogas cresceu, o seu uso foi limitado a fins terapêuticos.

As salmoneloses são zoonoses que causam graves toxinfecções alimentares tanto nas aves quanto nos humanos. Frente aos crescentes surtos de *Salmonella* e outras enterobactérias, o sistema de produção tem sido revisto e novos compostos são testados, visando obter alternativas que apresentem menores danos que os antimicrobianos. Dessa forma, surgiram os probióticos e prebióticos – compostos à base de microorganismos vivos que atuam no intestino dos animais promovendo alterações no ambiente intestinal, auxiliando em algumas situações possíveis de infecções por bactérias patogênicas. Esses compostos podem ser positivos, pois não deixam resíduos nos produtos de origem animal, não desenvolvem resistência às drogas em aves e humanos e não causam danos ao ambiente. Dentre as zoonoses com impacto na saúde humana, a salmonelose é a de maior incidência e pode ser transmitida através dos frangos de corte (ROSSI, 2005).

As salmoneloses são zoonoses cosmopolitas multifatoriais e de difícil erradicação. A contínua adequação do sistema de biossegurança e treinamento das pessoas envolvidas no processo produtivo são vitais para que seus impactos na saúde humana e no ambiente sejam minimizados.

Segundo Bersot (2006) as Enfermidades Transmitidas por Alimentos (ETA) têm gerado muitas discussões em todo o mundo, buscando-se estratégias que permitam o seu controle e, conseqüentemente, garantam a colocação de produtos inócuos no mercado consumidor. Fatores variados causam o aumento de ETA verificado nos últimos anos em muitos países, o que dificulta o seu controle pelas autoridades de saúde pública; dentre esses fatores está à criação intensiva dos animais de produção praticada predominantemente em países desenvolvidos, mas que vem sendo implantada nos países em desenvolvimento, como forma de aumentar a produção de proteína animal.

Fonte: www.fotosearch.com.br

Figura 1 - *Salmonella* vista pelo microscópio

A *Salmonella* é um dos mais importantes causadores de ETA em inúmeros países, o que torna o seu controle ainda mais importante. Nos EUA, por exemplo, é responsável anualmente por 1,3 milhões de casos de ETA (9,7% do total) e 31% do total de mortes associadas ao consumo de alimentos (MEAD et al., 1999). Apesar de não haver um consenso, a *Salmonella* foi o agente causador de ETA mais freqüentemente isolado em 2003 nos EUA (CDC, 2005). Segundo dados publicados pelo Foodnet (2005), a *Salmonella spp.* continua a ser um dos principais agentes etiológicos das ETA (BERZOT, 2006).

No Brasil, Chile, Argentina, Peru, Uruguai, Paraguai e Equador foram relatados 406 surtos e 16.304 casos de salmonelose entre 1995 e 2001, também tendo sido considerado o patógeno de maior importância epidemiológica (FRANCO et al., 2003).

Pode-se entender a *Salmonella* como um dos mais importantes patógenos veiculados por alimentos por estar amplamente distribuída na natureza, possuir um grande número de reservatórios, apresentar sorotipos inespecíficos quanto ao hospedeiro e apresentar

cepas multiresistentes aos antimicrobianos (BERZOT, 2006). A figura 1 apresenta um exemplo de *Salmonella* e seus flagelos.

Segundo Bassan et al. (2003), nas aves, as salmonelas podem ser classificadas em quatro grupos de acordo com suas manifestações clínicas, facilitando, com este agrupamento, o entendimento epidemiológico e, com isso, o auxílio na escolha da melhor estratégia de controle. A *Salmonella enteritidis* enquadra-se no grupo III, juntamente com a *S. typhimurium*, sendo estes sorotipos os líderes de causas de toxinfecções alimentares no homem, podendo ocasionalmente ser considerados patogênicos para aves, principalmente jovens (BACK et al., 2006).

Bassan et al. (2003) afirma que há uma estreita vigilância sanitária para prevenir infecções causadas por salmonelas, mas ainda assim acontecem contaminações.

A monitoria industrial com o propósito da segurança alimentar é bastante rigorosa, mas ainda assim, essas infecções são freqüentes e as aves têm uma significativa contribuição como fonte de contaminação de salmonelas para o homem. Há necessidade de um maior controle no Brasil por ser o país que mais exporta carne de aves e pela grande exigência dos países importadores (BACK et al., 2006).

3.2 GÊNERO *SALMONELLA*

As salmoneloses aviárias são doenças provocadas por bactérias do gênero *Salmonella*. Essas bactérias infectam as aves e podem causar três enfermidades: a pulorose (*Salmonella pullorum*); o tifo aviário (*Salmonella gallinarum*) e o paratifo aviário (o agente pode ser outra *Salmonella* exceto a *S. pullorum* e a *S. gallinarum*). Há mais de 2.500 sorotipos de *Salmonella*, embora só cerca de 90 possa infectar o homem e o animal (AVÍCULTURA, 2005).

A Pulorose ou Diarréia branca bacilar é uma doença aguda e mortal que ataca os pintinhos numa percentagem superior a 90. Nas aves adultas, a doença existe no estado crônico; as aves não sentem a menor perturbação, mas, o fato de a doença estar localizada nos ovários faz com que o ovo seja o portador da enfermidade e, assim, infecte o pintinho. Os sintomas são os seguintes: nos primeiros dias, os pintinhos isolam-se, ficam com sono e apresentam diarréia; as asas estão pendentes; não comem; respiração acelerada.

Posteriormente a estes sintomas, morrem rapidamente. A partir do dia 6, a mortalidade diminui. Nessa altura, apercebe-se que a cavidade abdominal está distendida. Esses pintinhos morrem ou desenvolvem-se mal. A enfermidade é mais comum em aves jovens e a alta percentagem de pintos com colonização do TGI na primeira semana pode resultar em aves portadoras de salmonela, e, por ocasião do abate, esse agente pode ser incorporado ao produto final.

A falta de higiene na granja, a presença de pragas nos locais de criação, a contaminação dos alimentos e água oferecidos, o uso de antimicrobianos de amplo espectro como promotores de crescimento e a presença de animais portadores são aspectos que podem contribuir para maior prevalência de *Salmonella* na produção em sistema de criação avícola.

A etapa de criação, portanto, pode ser epidemiologicamente muito importante na disseminação de *Salmonella* e, conseqüentemente, dar origem a um produto contaminado (BERSOT, 2006).

Segundo Barrow (1993), as salmonelas não adaptadas às aves, salmonelas paratíficas, podem causar doença clínica, comprometendo a produção avícola e gerar perdas econômicas, além de ter importante significado para a saúde pública.

Fernandes (1995), Taunay et al. (1996) e Hofer et al. (1997) relataram aumento da freqüência de isolamento de *Salmonella enteritidis* em estudos de surtos de enfermidades veiculadas por alimentos na década de 90. Tavechio et al. (1996) isolaram esse sorovar em ovos, matrizes e ambientes avícolas no Estado de São Paulo, sugerindo a participação de produtos avícolas na veiculação de *Salmonella enteritidis* ao homem.

Muitos sorovares de *Salmonella* foram isolados de aves com ou sem apresentação de quadro clínico do paratifo aviário, sendo o mais comum *S. typhimurium*, mas outros, entre eles *S. enteritidis*, *S. agona*, *S. infantis*, *S. hadar*, *S. senftenberg* e *S. heidelberg*, também foram identificados (BERCHIERI JÚNIOR, 2000).

As *Salmonella enteritidis*, *S. typhimurium* e *S. heidelberg* podem ocasionalmente infectar os ovários, oviduto e conteúdo dos ovos, sendo transmitidas verticalmente à progênie (POPPE, 1999). A *Salmonella enteritidis* pode ser transmitida para os ovos através da infecção do oviduto resultando na contaminação da albumina e contaminação dos ovos durante sua formação (DESMIDT et al., 1997). Há também a possibilidade de os ovos se tornarem contaminados após a formação da casca pelo contato com fezes contaminadas na cloaca ou mesmo no ambiente (MCILROY et al., 1989; ROCHA, 2003). A figura 2 exemplifica Ciclo de infecção de *Salmonella typhimurium* em frangos

Mesmo os ovos incubáveis podem se contaminar por *Salmonella* após a postura, ainda nos ninhos, nos galpões de matrizes, nos caminhões e no próprio incubatório, o que caracteriza a transmissão horizontal do microrganismo. A temperatura e umidade das incubadoras e nascedouros são propícias para a proliferação de *Salmonella*.

De acordo com Cox et al. (1991), os embriões podem ser contaminados na incubadora e com maior frequência nos nascedouros, durante a bicagem dos ovos e eclosão. Os autores citam ainda a possibilidade de contaminação durante o transporte dos pintinhos para as granjas. A contaminação no incubatório pode resultar em exposição dos pintinhos recém-eclodidos às salmonelas, no momento em que as aves são mais suscetíveis à colonização do trato intestinal (BAILEY et al., 1994; BYRD et al., 1998).

Rocha (2003) analisa que a transmissão vertical como via introdutória de *Salmonella* em criações avícolas pode ser confirmada pelas análises de forros de caixa de transporte e de aves recém-nascidas ainda no incubatório ou mesmo nas granjas. A figura 2 exemplifica Ciclo de infecção de *Salmonella typhimurium* em frangos

Zancan (1998), ao avaliar a presença de *Salmonella* em forros de caixa de transporte de pintos de um dia oriundos de avós de matrizes pesadas e de poedeiras comerciais, encontrou 77,1% e 44,4% de contaminação, respectivamente. A *Salmonella heidelberg* foi o sorovar mais freqüente em amostras de pintos de avós de matrizes pesadas e a *S. enteritidis* de pintainhas poedeiras comerciais.

Cox et al. (1990) avaliaram três incubatórios e encontraram 74% de amostras de forros de caixa de transporte positivas para *Salmonella*. Cox et al. (1991) analisaram forros de caixas em seis incubatórios e encontraram 12% de amostras positivas.

Froyman et al. (1997) acompanharam 79 lotes de frangos de corte através de análises realizadas no incubatório através de *swabs* de superfície do ambiente, revelando que 55 lotes foram positivos, ou seja, 69,6% (ROCHA, 2003).

Durante muitos anos, o desenvolvimento e a implementação das estratégias de controle de doenças foram direcionadas para a eliminação do agente causador de enfermidade. Esse sistema de intervenção contribuiu para a evolução da indústria avícola até o estágio em que hoje se encontra. Para muitos, esse mecanismo de controle é falho uma vez que ignora as particularidades da flora intestinal das aves.

O sucesso de um experimento para controle da salmonela com a adição de dois ácidos (ácido fórmico e ácido propiônico) e de um mananoligossacarídeo (MOS) à dieta dos frangos é apresentado por Bassan et al. (2003).

Para auxiliar na prevenção e minimizar as infecções por bactérias patogênicas, são utilizados na dieta a adição de ácidos orgânicos (AO), pois alteram o pH, passando a ter uma ação antibacteriana, particularmente contra bactérias Gram negativas (OSTERMAN, 2005). Os ácidos orgânicos, se usados corretamente junto com medidas nutricionais, de manejo e biossegurança, podem ser uma ferramenta poderosa para manter a saúde do trato intestinal das aves, melhorando o rendimento zootécnico sem risco de resíduos na carne e ovos como os antibióticos.

Legenda: [1] Ovos altamente contaminados que não eclodem; [2] ovos moderadamente contaminados que eclodem, [4] mas os frangos não sobrevivem; [3] ovos bem pouco contaminados que eclodem, [5] sobrevivem, crescem e continuam a excretar *Salmonella*

Fonte: Instituto de Ciências Biológicas (2007, p. 3)

Figura 2 - Ciclo de infecção de *Salmonella typhimurium* em frangos

3.3 DIGESTÃO DAS AVES E MICROBIOTA

Rocha (2007) afirma que o processo digestivo nas aves é bastante complexo se formos analisar a grande variedade de espécies de aves existentes em nosso planeta. No entanto, em nosso estudo, importam as aves domésticas e em especial o gênero *Gallus* ao qual pertencem galos e galinhas domésticas. Sendo o Brasil o segundo maior exportador mundial de frangos entre os países produtores, tratar desse assunto torna-se algo bastante importante para a economia do país e para a Saúde Pública.

Inicialmente, devemos nos reportar à cavidade bucal das aves e, em especial, à apreensão dos alimentos pelo bico. Ao analisarmos o bico de uma ave já podemos ter em mente que tipo de alimento ela costuma ingerir e de que forma o faz. Uma galinha que tem seu bico curto com a valva superior um pouco mais longa do que a inferior e se alimenta tipicamente de grãos (como o milho) é por isso classificada como granívora, e as galinhas de “terreiros” ou “caipiras” podem até ser onívoras pelo fato de se alimentarem de diversos tipos de alimentos que lhes são oferecidos pelo criador (ROCHA, 2007).

3.3.1 O processo digestivo das galinhas

As galinhas, quando se alimentam de grãos apresentam “tempo bucal zero”, pois o processo é muito rápido e o alimento permanece na cavidade oral muito pouco tempo. A deglutição nesse animal é feita com a ajuda de um movimento de cabeça, jogando-a para frente, o que desloca o grão para trás e, a partir daí, o grão segue em direção ao papo por movimentos peristálticos; a forma de tomar água também é feita de modo especial, pois a galinha ingere a água com a valva inferior do bico e em seguida “olha” para cima para que a água desça por gravidade (não há ingestão como no homem). Nos livros em idioma espanhol encontramos a frase “la gallina no bebe agua si no mira al cielo” o que caracteriza bem o que acontece (ROCHA, 2007).

A cavidade oral das galinhas é muito ampla e não apresenta limites precisos pela ausência do palato mole. Outra característica é o palato duro apresentar uma fenda longitudinal (normal). Talvez tal comunicação esteja relacionada com a ventilação pulmonar

forçada para termorregulação (polipnéia térmica das aves) que é feita com o bico aberto. O processo digestivo na boca é quase inimaginável, pois, com tempo bucal zero, não deve haver digestão como no homem. De acordo com Rocha (2007) há diversos autores que não confirmam a presença de uma α -amilase (ptialina), enquanto outros dizem que sua presença é mínima e não teria ação, pois alimentos granulados e revestidos de celulose não poderiam ser digeridos por uma amilase, além de o tempo bucal ser curto. Assim, a saliva teria apenas uma função mecânica, ou seja, lubrificação da cavidade oral, umectação do alimento, lubrificação do esôfago, eliminação de substâncias diversas passadas pela corrente sangüínea e outras (ROCHA, 2007).

Inglúvio (ou papo) – O papo é um divertículo do esôfago e pode ser considerado um pré-estômago (como em ruminantes) e serve para receber o material proveniente da cavidade oral. Pode ser bem desenvolvido nas aves granívoras (como nas galinhas, no pato e no pombo), mas também pode ser rudimentar ou estar ausente em outras aves (como aves carnívoras), dependendo de sua maior ou menor função, que no caso é armazenamento de grãos ou folhas (aves folhívoras) (ROCHA, 2007).

No armazenamento de grãos pelas galinhas, os alimentos sofrem um amolecimento durante sua permanência para facilitar sua digestão posterior. Após um período variável dentro do papo, este inicia movimentos peristálticos (vagais) dirigindo os grãos para o proventrículo (estômago verdadeiro). No seu interior não existe nenhuma secreção digestiva própria, mas qualquer fenômeno bioquímico de desdobramento poderá ocorrer por conta de enzimas vindas de fora: dos alimentos ou de microrganismos ingeridos com os alimentos.

O papo dos frangos é uma dilatação do esôfago; com o formato de uma bolsa, o esôfago é um segmento relativamente longo, e o papo, ou divertículo, separa as suas porções superior e inferior. O papo é originário da distensão da parede ventral do esôfago, possuindo um revestimento que permite a sua distensão sem prejuízo da mucosa (MACARI; FURLAN; NAKAGHI, 1994). Segue-se a moela, estômago e os intestinos, delgado e grosso, assim como o ceco. No frango, os cecos são duplos, diferentemente dos mamíferos, e encontram-se na junção dos intestinos delgado e grosso, pertencendo a este último. A parede dos cecos é mais fina que as demais partes do trato intestinal.

A microbiota presente nesses dois habitats, o papo e o ceco, é diferente. Comparando a população bacteriana de diferentes partes do TGI de frangos de corte, apesar de encontrar algumas coincidências entre espécies bacterianas no papo, duodeno e íleo, Wielen et al. (2002) demonstram que cada parte do TGI tem sua comunidade bacteriana específica e pode ser considerada como um ecossistema separado. De acordo com Menten e

Pedroso (2005), as diferenças entre microbiotas do trato gastrointestinal são devidas a alterações de pH, de secreção enzimática da região, da velocidade de trânsito do bolo alimentar e até da concentração de ácidos graxos voláteis (SILVA, 2006).

O verdadeiro estômago das aves é o proventrículo e corresponde ao estômago dos carnívoros. É controlado pelo nervo vago e secreta o HCl, a pepsina, a gastrina, cuja função é pouco conhecida nas aves, e o muco. Dependendo da ave, o pH pode variar o que também pode afetar a transformação do pepsinogênio em pepsina. As pepsinas não são exatamente iguais, então cada ave pode funcionar com sua pepsina em diferentes valores de pH. Alguns trabalhos têm mostrado que o pepsinogênio do pato tem 374 aminoácidos, enquanto a pepsina tem 324. Seu pH ótimo está em torno de 4.0 e será inativo quando o pH atingir 9.6.

O trato digestivo das aves é um tubo oco e fibromuscular – do bico à cloaca – recoberto por um epitélio que, em algumas partes, está especializado para secreção, digestão e absorção. Simplificadamente o trato digestivo compreende a cavidade oral e a faringe, seguidas pelo esôfago, com o papo, o estômago mecânico (moela), o proventrículo (estômago verdadeiro), os intestinos delgado e grosso, além das glândulas anexas: o fígado e o pâncreas (SILVA, 2006).

Normalmente, o estômago está bastante desenvolvido em aves carnívoras e, rudimentar em aves granívoras. Assim, ele é pequeno no pato, pombo e galinha, e grande em albatroz e gaivotas (exemplos). Histologicamente, se diz que o proventrículo só apresenta um tipo celular (oxintico-pépticas) que seria responsável pelas secreções gástricas (HCl, pepsina e muco). O pH nas carnívoras tende a ser mais baixo do que nas granívoras. O pH das galinhas é 4.8; do faisão, 4.7; do pombo, 1.4; do pato, 3.4; do peru, 4.7.

Moela (ou ventrículo) – A moela representa o que se denominou estômago mecânico das aves pelo fato de não apresentar sucos digestivos próprios e fazer a digestão dos grãos, previamente amolecidos no papo, através da pressão exercida por seus potentes músculos. A pressão pode atingir entre 100-150 Torr (na galinha) ou 180 Torr (nos patos) e com isso comprimir os grãos, fazendo uma verdadeira “moagem” deles; para isso a moela ainda conta com a presença de “pedriscos” no seu interior, o que ajuda a trituração. Tais pedriscos penetram no aparelho digestivo quando as aves fazem a apreensão de seus alimentos e podem chegar a 10 gramas nos patos; só não se tem idéia formada se a ingestão é voluntária ou acidental. Normalmente, a ingestão só é feita por aves em regime “aberto”, ou seja, aves silvestres ou domésticas que estão soltas. Os pintainhos criados em sistema fechado não necessitam de tais pedriscos, pois sua ração (inicial) é um farelo e não necessita de trituração. A moela apresenta contrações musculares rítmicas a cada 2 ou 3 minutos e duram em média

20 a 30 segundos. O pH da moela varia de 2.0 a 3.5, mas isso não quer dizer que seja por secreções locais e sim porque o material ácido provém do proventrículo (que fica situado próximo e antes da moela). Nas aves carnívoras, a moela não necessita ser bem desenvolvida, pois sua alimentação não é feita à base de grãos (ROCHA, 2007).

Intestino delgado – O intestino delgado das aves está dividido em duodeno, íleo superior e íleo inferior. Em realidade, o íleo superior é o jejuno dos carnívoros e tal divisão parece obedecer (nas aves) a uma transição pouco nítida entre os dois segmentos. No duodeno, desembocam os canais biliares e pancreáticos. Em geral, o intestino das aves é relativamente bem mais curto do que o dos mamíferos e ainda ocorrem diferenças entre aves granívoras e carnívoras; o intestino das herbívoras e granívoras é mais longo do que o das carnívoras e, pelo que se deduz, a digestão de vegetais (celulose) é mais lenta dos que as proteínas; as vilosidades das carnívoras são mais desenvolvidas do que as das herbívoras e, com relação às glândulas anexas, há citações de que o suco pancreático só está completo cerca dos sete dias de nascidos (pintos) e a bile só preenche a vesícula biliar e só está repleta aos 28 dias após o nascimento. Outra citação sobre a bile é a presença de amilase (em galinhas) o que não foi descrito em outros animais, como os mamíferos.

Intestino grosso – Este segmento apresenta uma grande variedade entre as aves pelo fato de poder existir um único ceco, dois cecos, ceco rudimentar ou ausente, e ceco bem desenvolvido, de acordo com a espécie. Nas galinhas, pombos e patos, o ceco é duplo e bem desenvolvido, sendo que no gênero *Gallus* o ceco pode ter em média 15 cm em aves adultas. No final do intestino delgado, há uma entrada para os dois cecos e estão separados por válvulas que controlam a entrada do alimento para o ceco, bem como seu retorno para passar ao segmento posterior que é colon-reto (lembrar que o ceco é um segmento “cego” - sem saída) (ROCHA, 2007).

O colon-reto é o segmento final do intestino grosso e desemboca na cloaca, não havendo distinção para dividi-lo em dois segmentos (colon e reto) como nos mamíferos. Os cecos servem para absorção de água, digestão da fibra bruta (celulose e ainda a lignina que pode ser utilizada entre 10 e 40% do total), além da síntese de vitaminas do complexo B e vitamina K. Ao final do intestino grosso ainda encontramos a cloaca que recebe ductos deferentes (macho), oviduto (fêmea em postura), fezes, ureteres (que podem vir direto dos rins - galinha) ou a partir da bexiga (como na avestruz). Há ainda sobre a cloaca a bolsa (bursa) de Fabricio, responsável pelos chamados linfócitos B (ROCHA, 2007).

3.4 PROBIÓTICO E PRÉ-BIÓTICOS

Em 1989, o pesquisador Fuller definiu probiótico como um suplemento alimentar constituído de microorganismos vivos, que no organismo animal atuam de forma benéfica melhorando o equilíbrio da microbiota intestinal.

Um estudo de Caramuri (2001) demonstrou existir efeito positivo sobre o uso de probiótico em rações de frangos de corte. Por outro lado, outros estudos não verificaram efeito positivo com a inclusão do probiótico sobre o desempenho das aves (LODDI, 2000; LIMA et al., 2003).

Essa diversidade nos resultados pode estar relacionada a fatores externos (estresse e situação sanitária do galpão) ou à dosagem de microrganismos utilizada que deve ser adequada a cada situação (LIMA et al., 2003).

Pré-bióticos são definidos como ingredientes alimentares não digeríveis que beneficiam o animal por estimular seletivamente o crescimento e a atividade de uma ou poucas espécies de bactérias no intestino, melhorando a saúde do animal (MENTEN; LODDI, 2003). Da mesma forma, para Gibson (1995) os prebióticos são considerados aqueles ingredientes não digestíveis que estimulam o crescimento e/ou a atividade de um limitado número de MO capazes de proporcionar um ambiente intestinal saudável ao hospedeiro.

3.5 EXCLUSÃO COMPETITIVA

A Exclusão Competitiva é definida como o fornecimento de uma flora intestinal natural proveniente de uma galinha adulta saudável logo após nascimento a uma ave, para um rápido desenvolvimento dessa flora na ave que a recebeu, protegendo-a, uma vez estabelecida, pelo mecanismo de exclusão por espaço e nutrientes. Ou seja, diferentemente de um probiótico que fornece bactérias benéficas, a Exclusão Competitiva fornece a própria flora da ave, onde as células de bactérias têm características de fixação e reprodução, e manutenção de forma natural (SCHNEITZ, 2005).

Segundo Smith (2007), todos os microorganismos competem pelos recursos disponíveis. Aqueles que têm vantagens na competição prevalecem em detrimento dos menos competitivos.

Bactérias requerem condições ambientais semi-específicas para aderência, colonização e patogênese em animais. A população normal de bactérias comensais é capaz de excluir por competição os patógenos como a *Salmonella*, prevenindo a colonização entérica através de competição física e química.

A colonização entérica por patógenos frequentemente requer alguma alteração na homeostase da flora intestinal normal. Essa alteração pode ser induzida por certas condições como: stress, modificação rápida da alimentação, modificação ambiental, uso de antibióticos, altas doses de bactéria infectante e dano epitelial concorrente causado por outro patógeno (SCHNEITZ, 1998).

Os animais recém-nascidos, em especial as aves, são extremamente suscetíveis a enfermidades. Os pintinhos nascem com uma população de anticorpos limitada às doenças, pois a galinha foi imunizada antes da postura, e aos microrganismos adquiridos através do meio-ambiente. Provavelmente por isso, não há anticorpos para vários agentes que causam problemas entéricos. Entre eles relacionam-se vários sorotipos de *Salmonella* (*S. enteritidis*, *S. typhimurium*, *S. seftenberg*, *S. heidelberg* e outros), *Campylobacter jejuni*, *E. coli* O157: H7 e outros patógenos que podem infectar as aves e serem transmitidos ao homem por alimentos contaminados. Os pintinhos são desprovidos de uma população microbiana intestinal que, após o nascimento, começa a ser desenvolvida desde a cavidade bucal ao ceco. Os pintinhos são suscetíveis à colonização por *Salmonella* do grupo paratifóide (salmonelas móveis) e outros enteropatógenos nos primeiros 07 dias de vida (a figura 3 exemplifica uma *Salmonella typhimurium* fagotipo DT 104 é considerada um patógeno emergente e altamente virulento, resistente a vários antibióticos). A microbiota entérica começa a se consolidar após 10 dias de idade, podendo ser considerada totalmente formada com até 6 semanas, e nas aves adultas ela é extremamente complexa e diversificada.

O termo Exclusão Competitiva (CE), como afirmamos anteriormente, originou-se do trabalho desenvolvido por Nurmi e Rantala em 1973, que também pode ser denominado de **Conceito de Nurmi**. Esses pesquisadores observaram que as condições de produção de aves sob estrito controle sanitário privava os pintinhos recém-nascidos de entrarem em contato com os microrganismos do ambiente em que eles nasciam (reprodutoras, ninhos, cama e outros) e, por conseguinte, não adquiriam essas diferentes espécies de microrganismos. A partir desse estudo, difundiu-se por vários países o Conceito de Nurmi ou o termo Exclusão

Competitiva que é, em suma, um dos mecanismos de eliminação de patógenos entéricos na avicultura mundial.

Fonte: Smith (2007, p. 1)

Figura 3 - Salmonella DT104

Pesquisas demonstraram que a população de bactérias no intestino pode ser formada precocemente pela inoculação intencional de bactérias benéficas, ou exclusão competitiva. Essa prática de exclusão competitiva é realizada pela inoculação de cepas não-patogênicas de bactérias antes da colonização aparente por patógenos como a *Salmonella*. Por exemplo, organismos como os lactobacilos produzem substâncias ácidas, reduzindo o pH e limitando a habilidade de crescimento de bactérias não-acidofílicas.

Um estudo realizado por Estrada et al. (2002) dos efeitos de um produto de CE sobre as vilosidades intestinais em frangos de engorda desafiados com *Salmonella enteritidis* PT-13 (figura 4), realizado na universidade do México, demonstrou claramente os benefícios da CE não só no controle desse patógeno como também no crescimento e desenvolvimento prematuro ou acelerado das vilosidades intestinais aos 12 dias de idade, e estão descritos nas fotografias abaixo.

Foto 01: vilosidades intestinais do grupo não tratado com CE.

Foto 02: vilosidades intestinais do grupo tratado com CE.

Figura 4 – Vilosidades Intestinais

Vários estudos foram realizados com o passar dos anos, comprovando que a Exclusão Competitiva (CE) é um meio eficaz de proteção individual para as aves contra as bactérias indesejáveis como a *Salmonella spp*, *E. coli*, *Clostridium spp* e outras.

Dentre esses estudos, Berchieri et al. (2006)¹, realizou um experimento com pintos de corte de linhagem ROSS, usando um produto comercial de CE na dose recomendada pelo fabricante e também testou a CE com ½ (meia) dose sobre a recomendação do fabricante. Os tratamentos estão descritos na tabela 1.

As aves foram separadas em 3 grupos, os pintainhos foram alojados em caixas com 10 aves e 8 repetições cada grupo.

As aves tratadas com CE (A) receberam oralmente as culturas de 1,0 mg do produto em uma dose de 0,3 ml. No grupo (B), as aves receberam meia dose de CE (0,5 mg em 0,3 ml), como demonstra a tabela 1. Também no momento da chegada, duas aves de cada caixa foram inoculadas por via oral para a cultura com 0,1 ml da cultura de uma mutação da *Salmonella enteritidis* resistente ao ácido nalidíxico e espectinomicina (SE NalSpc), diluída em 10⁻³ em caldo LB. Essas aves foram mantidas em uma caixa separada até o dia seguinte.

Tabela 1 – Grupos de tratamentos em um estudo de CE para controle de *Salmonella*

	CE	Desafio	Inspeção
Grupo A1	Sim	Sim	5 dias após o desafio
Grupo A2	Sim	Sim	5 dias após o desafio
Grupo B1	Sim(1/2 dose)	Sim	5 dias após o desafio
Grupo B2	Sim (1/2 dose)	Sim	5 dias após o desafio
Grupo C1	Não	Sim	5 dias após o desafio
Grupo C2	Não	Sim	5 dias após o desafio

Cinco dias após o desafio, as aves foram mortas para inspeção do conteúdo cecal.

O conteúdo cecal foi diluído em 1:10 em PBS, pH 7.4. A partir disso, foram feitas novas diluições decimais até 10⁻⁶. De cada diluição, 0,1 ml foi colocado em um vidro verde brilhante contendo um caldo de ácido nalidíxico (100µg/mL) e spectinomicina

¹ Berchieri Junior, Prof. Titular da Unesp Jaboticabal; trabalho não publicado, estudo realizado para determinar a eficácia de um produto comercial de Exclusão Competitiva frente a um desafio de *Salmonella enteritidis*

(100µg/mL/ml). Placas foram incubadas a 37°C / noite e as UFC /g, foram transformadas em $\log^{10}$ para interpretação estatística.

Os resultados foram analisados por meio de análise de variância. A média foi comparada estatisticamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Os resultados são descritos na tabela 2. A CE reduziu a presença de *S. Enteritidis* no conteúdo cecal, em comparação com o grupo controle ($p < 0,01$). A CE também avaliado em meia dose recomendada (Grupo B) e os resultados foram muito favoráveis ($p < 0,01$).

Os resultados da tabela 2 são descritos em números ($\log_{10}$) de células viáveis de *S. Enteritidis* NaI/Spc no conteúdo cecal de 8 aves sacrificadas 8 dias após do desafio.

Tabela 2 – Resultados do conteúdo cecal de aves tratadas com CE para controle de *Salmonella*

Grupos	Aves							
	1	2	3	4	5	6	7	8
A1	4.47	2.0	5.04	2.0	2.0	4.6	4.69	2.0
A2	4.69	4.47	2.0	2.0	5.0	3.78	4.27	5.53
$\mu(A)$	3.66 A ± 1.38							
B ₁	7.0	2.0	6.47	2.0	2.0	6.47	2.0	2.0
B ₂	2.0	6.0	2.0	6.47	6.0	2.0	2.0	6.47
$\mu(B)$	3.93 A ± 2.27							
C ₁	8.11	6.47	6.57	6.60	7.38	7.3	6.54	6.84
C ₂	7.34	6.56	7.53	6.78	6.11	6.36	5.84	6.5
$\mu(C)$	6.80 B ± 0.58							

Devido aos modernos métodos de produção em massa, nos quais as aves são criadas em condições apropriadamente higiênicas e isoladas de aves adultas, o desenvolvimento de sua flora intestinal normal fica atrasada. Isso as deixa extremamente vulneráveis às bactérias patogênicas.

Segundo Loddi (2000), o feto no útero é estéril, mas assim que passa através da genitália feminina durante o nascimento é rapidamente contaminado por microorganismos. O recém-nascido adquire uma microflora intestinal que é característica de cada espécie. Enquanto no estado selvagem, o animal obtém a sua flora intestinal a partir do ambiente contaminado com bactérias da mãe, em um ambiente esterilizado, a exemplo da produção industrial avícola, todo o processo de formação espontânea da microflora é prejudicado. Essa flora, uma vez estável, auxilia o animal a resistir às infecções, particularmente do trato digestório.

3.6 DOENÇA DE NEWCASTLE

A doença de Newcastle (DNC) é de etiologia viral, altamente contagiosa e aguda, que ataca todas as aves.

O vírus da doença de Newcastle (VDNC) é capaz de provocar infecção no sistema digestivo, respiratório, e nervoso, com elevada morbidade e mortalidade, dependendo da virulência da amostra do vírus. A DNC é responsável por grandes perdas econômicas, incluindo a baixa produção de ovos e mortalidade das aves (BRASIL, 2003)

O período de incubação da DNC é de 2-15 dias, com média de 5-6 dias. A transmissão se dá principalmente por via aerógena, e em torno de dois dias após a exposição e antes da manifestação dos sinais clínicos já ocorre à liberação do vírus no ambiente.

As medidas sanitárias são fundamentais para o controle da DNC. O controle sanitário consiste em prevenir a introdução do vírus, por meio de medidas preventivas de biossegurança, como isolamento físico dos criatórios, distanciamento de incubatórios; abatedouros; criação de espécies diferente em locais diferentes; instalações limpas; alimentos e águas livres de contato com animais silvestres; e restrição ao máximo de visitas e movimentação de pessoas e veículos estranhos ao criatório.

No Brasil, o controle da DNC em frangos de corte se faz por meio de imunização ativa, com vacinas vivas de caráter lentogênico, sendo empregadas às cepas B₁ e LaSota.

Na DNC, a avaliação sorológica de aves doentes ou vacinadas é amplamente utilizada por ser econômica e possibilitar considerações a respeito da imunidade, sendo a reação de HI e teste ELISA, métodos rápidos para a aferição de anticorpos humorais.

Para um estudo realizado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento foram colhidos materiais de 1.583 lotes de frangos de corte, distribuídos em 130 abatedouros, de nove estados brasileiros, totalizando 23.745 soros, com idade média de 44 dias. Os resultados das atividades laboratoriais, incluindo a sorologia e a pesquisa de vírus ativo, estão resumidos na Tabela 3.

Dos materiais colhidos, 645 lotes apresentaram sorologia positiva para a doença de Newcastle e, a partir destes, foram pesquisados vírus hemaglutinantes ativos. Como resultado, foram isoladas 77 estirpes virais, que foram identificadas como parainfluenzavírus aviário tipo 1 (APMV-1). Essas estirpes foram caracterizadas através do teste IPIC e todas foram classificadas como estirpes vacinais, cujos valores variaram de 0,00 a 0,66. Das 77 amostras

virais isoladas, 32 tinham IPIC entre 0 e 0,10, sendo compatível com a estirpe viral da vacina Ulster e VG-GA; 16 amostras apresentaram IPIC entre 0,11 e 0,25, compatível com a vacina B1 e 17 amostras expressaram IPIC entre 0,26 e 0,45, compatível com as vacinas LaSota e Clone 30. Foram, ainda, isolados 12 vírus com IPIC entre 0,5 e 0,66, índices superiores aos IPICs das estirpes vacinais utilizadas no país, que demonstram a presença de outros vírus com características vacinais, sem qualquer prejuízo para a avicultura existente.

Tabela 3 - Resultados laboratoriais do estudo de atividade viral para a doença de Newcastle nos estados de MG, SP, DF, GO, MT, MS, PR, SC e RS, realizados no LARA -Campinas - 2003

Estados	No. de amostras colhidas	Sorologia para Newcastle (no. de amostras)		Isolamento Viral (No. de amostras)		
		Não reagente	Reagente	Não realizado	Negativo	Positivo
MG	206	102	104	102	93	11
SP	386	96	290	94	257	34
MS	226	192	34	184	38	4
MT	98	82	16	82	15	1
GO	108	75	33	73	35	0
DF	57	26	31	24	33	0
PR	190	108	82	105	71	15
SC	171	155	16	155	8	8
RS	141	128	13	119	18	4
TOTAL	1583	964	619	938	568	77
					645	

Fonte: Brasil, 2003

A vacinação contra a doença de Newcastle em frangos de corte não ocorre nos estados do Rio Grande do Sul, de Santa Catarina, de Mato Grosso, de Mato Grosso do Sul, de Goiás e no Distrito Federal.

Entretanto, em tais estados utiliza-se a imunização em aves com ciclo de vida longo, fato comprovado pelo mapa de venda de vacinas das empresas. No período em que ocorreu a colheita das amostras, o comércio dessas vacinas em lojas veterinárias de todas as unidades federativas amostradas indicou a vacinação, inclusive, em aves de explorações não tecnificadas e de subsistência (BRASIL, 2003).

Em Minas Gerais, São Paulo e na região norte do Paraná a vacina contra a doença de Newcastle está presente no programa vacinal de todas as categorias de aves comerciais, incluindo frangos de corte, o que justifica um maior número de amostras reagentes à sorologia para essa doença nesses estados.

Os títulos de sorologia e isolamentos virais nos estados que não utilizam a vacina contra a doença de Newcastle em frangos de corte podem ser justificados pela alta densidade de aves em algumas regiões, pela proximidade com categorias distintas de aves, além da existência de criações de aves não tecnificadas e de subsistência.

O reaproveitamento de cama pode ser observado na maioria das regiões e pode justificar a presença do vírus já na primeira semana de vida das aves, levando à estimulação do sistema imune, não podendo, entretanto, ser isolado na idade de abate das aves, como ocorreu em Goiás e no Distrito Federal (BRASIL, 2003).

Os resultados da primeira fase do projeto nos permitem concluir que:

- A avicultura industrial nas nove unidades federativas estudadas está livre da doença de Newcastle (Figura 4), conforme estabelece o Código Zoossanitário Internacional da OIE.
- A avicultura brasileira, incluindo os frangos de corte, utiliza, em algumas áreas específicas, vacina contra a doença de Newcastle, onde foram isoladas estirpes com características vacinais (BRASIL, 2003).

Fonte: Brasil, 2003.

Figura 4 - Localização das nove unidades federativas brasileiras livres da doença de Newcastle

3.6.1 Teste ELISA

O teste ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay) é uma reação sorológica que se baseia no uso de antígenos e anticorpos marcados com enzimas, na qual o complexo resultante possui atividade imunológica e enzimática. Por possuir um de seus componentes (antígeno ou anticorpo) marcado com uma enzima ligado a um suporte imunoadsorvente, o complexo formado torna-se imobilizado. Dessa forma, com a adição de um substrato cromogênico específico à enzima, ocorrerá o desenvolvimento da revelação sob a forma de cor. O teste ELISA detecta e mensura principalmente as Ig do tipo IgG, podendo detectar quantidades muito pequenas de anticorpos. É uma técnica simples, específica, sensível, rápida e automatizada, podendo ser empregada para o diagnóstico da DNC. É importante salientar que não devem ser comparados os resultados de dois métodos sorológicos distintos, por exemplo, inibição da hemaglutinação (HI) e ELISA, dado que cada método mede a formação do complexo antígeno-anticorpo de maneira distinta, existindo também variações na tomada de amostras em uma população de aves. Por essa razão, muitas vezes se acompanha níveis de títulos individuais com uma média geométrica de título (GMT) de anticorpos para a população de aves. A análise dos resultados sorológicos e sua perfeita interpretação dos títulos imunológicos permitem uma avaliação precisa e coerente do programa de vacinações (SANTOS; SILVA, 2000).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 LOCAL E PERÍODO EXPERIMENTAL

O experimento foi conduzido em Julho e Agosto de 2007, no aviário experimental do Departamento de Nutrição e Produção Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, Campus Pirassununga, Estado de São Paulo.

Empregaram-se baterias até os 20 dias com capacidade para sete aves e depois empregou-se gaiolas para a mesma quantidade.

A análise da resposta vacinal à doença de Newcastle foi realizada no Instituto Biológico, Centro Avançado de Pesquisa Tecnológica do Agronegócio Avícola de Descalvado, São Paulo.

4.2 ANIMAIS

Foram utilizados 420 pintos de um dia, machos da linhagem comercial AgRoss 308, criados até 42 dias de idade.

4.3 DIETA EXPERIMENTAL

A dieta basal preparada era isonutritiva à base de milho e farelo de soja, cuja formulação obedecia aos níveis nutricionais rotineiramente empregados na criação comercial de frangos de corte.

A ração foi diferenciada quanto aos níveis de proteína e energia em três fases de desenvolvimento, para atender as exigências nutricionais de cada intervalo de criação: inicial (1 a 21 dias), crescimento (22 a 35 dias) e final (36 a 42 dias).

4.4 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E TRATAMENTOS

As aves foram alojadas de acordo com um delineamento inteiramente casualizado e, distribuídas em 3 diferentes tratamentos: Antibiótico; Exclusão Competitiva; Controle. Havia 20 repetições (boxes) por tratamento de 7 aves cada.

O grupo controle era composto apenas da dieta basal sem qualquer aditivo promotor de crescimento.

O grupo antibiótico foi suplementado com o promotor de crescimento avilamicina 10ppm na dose 100g/ton de ração, comercializado sob o nome Surmax 100 Premix pela empresa Elanco, São Paulo-SP. O produto em pó foi adicionado à dieta de forma contínua durante toda fase de criação.

O grupo que recebeu Exclusão Competitiva tinha como princípio um “pool” de bactérias naturais, coletadas de uma galinha adulta saudável, bactérias estas multiplicadas e liofilizadas pelo laboratório Orion Corp. da Finlândia e comercializado no Brasil com o nome de Broilact® pela empresa Imuvet-Saúde Animal. O produto foi usado de forma oral no primeiro dia na dose aproximada de 1 mg do produto por ave, de acordo com a recomendação do fabricante do produto.

Todos os produtos foram utilizados conforme as recomendações dos fabricantes e, adicionados em substituição ao equivalente em peso de material inerte (caolim), ajustando-se às composições percentuais das diferentes rações experimentais.

Não foi adicionado à ração nenhum tipo de anticoccidiano, qualquer outra droga ou aditivo que não os em estudo.

Os resultados foram analisados com o auxílio do programa computacional Statistical Analysis System (SAS, INSTITUTE INCORPORATION, 2001). Obedecendo-se às premissas estatísticas citadas, os dados foram submetidos à análise de variância através do *General Linear Model* (PROC GLM). Quando observada diferença significativa entre os tratamentos ($P < 0,05$), as suas médias foram comparadas através do teste de Tukey, a um nível de significância de 5%.

Todas as variáveis respostas foram submetidas às análises descritas acima.

A tabela 4 na página a seguir apresenta a composição percentual e análise calculada das rações experimentais nas diferentes fases de criação.

Tabela 4 - Composição Percentual e Análise Calculada das Rações experimentais

Ingredientes	Ração Inicial (%)	Ração Crescimento (%)	Ração Final (%)
<i>Dieta basal</i>			
Milho	52,26	57,11	63,70
Farelo de Soja	40,13	34,00	28,00
Óleo de Soja	3,52	4,90	4,5
Sal	0,35	0,35	0,35
Calcário	1,24	1,60	1,60
Fosfato Bicálcio	1,60	1,14	0,95
Metionina	0,24	0,21	0,18
Suplemento Vit.-Min. ⁽¹⁾	0,30	0,30	0,30
<i>Aditivos</i>			
Antibiótico	0,01	0,01	0,0
<i>Inerte</i>	0,16-0,35	0,19-0,38	0,22-0,41
Total	100	100	100
<i>Análise Calculada</i>			
Energia metabolizável (Kcal/kg)	2950	3100	3150
Proteína (%)	22,5	20,0	18,0
Metionina (%)	0,35	0,32	0,30
Metionina + cistina (%)	0,71	0,65	0,60
Cálcio (%)	0,95	0,95	0,90
Fósforo disponível (%)	0,45	0,35	0,30

⁽¹⁾ Suplementação vitamínico-mineral especificada na tabela 3

Tabela 5 - Enriquecimento com o suplemento vitamínico-mineral (vit.-min.) por kg de ração

Suplemento vit.-min.	Vit. A, 10575 UI; vit. D ₃ , 2554 UI; vit. K, 1,8mg; vit. E, 14,87 mg; vit B ₁ , 2,00 mg; vit. B ₂ , 4,5 mg; vit. B ₆ , 2,50 mg; vit. B ₁₂ , 12,00 mcg; niacina 30,00 mg ; ácido fólico, 0,75 mg; pantotenato de cálcio, 11,74 mg; biotina, 0,01; ferro, 43,44 mg; zinco 43,35 mg; cobre, 8,56 mg; manganês, 56,00 mg; iodo, 0,56 mg; selênio, 0,34 mg; antioxidante, 4,20 mg
Inicial	
Suplemento vit.-min.	Vit. A, 8805,40 UI; vit.D ₃ , 2126,40 UI; vit .K, 1,50 mg; vit. E , 12,40 mg; vit. B ₁ , 1,73 MG; vit B ₂ , 3,75 mg; vit. B ₆ , 2,07 mg; vit.B ₁₂ , 10,00 mcg; niacina, 25,00 mg ; ácido Fólico, 0,62 mg ; pantotenato de cálcio , 10,00 mg; biotina, 0,08 mg; ferro 4343,60 mg; zinco, 43,53; cobre, 8,64mg; manganês, 55,95 mg; iodo, 0,56 mg; selênio, 0,34 mg; antioxidante, 4,20 mg
Crescimento	
Suplemento vit.-min.	Vit.A 7050 UI; vit D ₃ 1702,50 UI; vit. K, 1,2 mg; vit. E 8,4 MG; vit. B ₁ 1,34 mg; vit B ₂ , 3,00 mg ; vit B ₆ , 1,66 mg; vit. B ₁₂ 8,00 mcg; niacina, 20,00 mg; ácido Fólico, 0,34 mg; pantotenato de cálcio, 8,00 mg; biotina 0,045 mg; ferro 43,43 mg; zinco, 43,43 mg; cobre , 8,64 mg; manganês, 55,95 mg ; iodo, 0,56 mg; selênio, 0,34 mg; antioxidante, 4,20 mg
Final	

4.5 MANEJO DAS AVES

A ração foi fornecida *ad libitum* durante todo período de criação.

O manejo e os equipamentos utilizados foram os convencionais para a criação de frangos de corte, adequando-os às condições das gaiolas.

As aves foram pesadas no primeiro dia do experimento e alojadas nas gaiolas da bateria experimental de forma inteiramente casualizada. Sendo as temperaturas máximas e mínimas anotadas diariamente, utilizando-se termômetros de bulbo seco localizados em dois pontos distintos e extremos do galpão.

Os pintinhos chegaram às instalações já vacinados contra a Doença de Marek.

A manutenção das cortinas, bem como da limpeza e nível adequado de água e ração nos bebedouros e comedouros foram diários.

4.6 PARÂMETROS AVALIADOS

Os pesos das aves foram mensurados nos dias 1, 21 e 42 e os consumos de ração foram quantificados através de pesagens nos intervalos: 01-21 dias; 01-35 dias e 01-42 dias. As variáveis mensuradas em cada *Box* foram:

Ganho de peso médio (GMP), consumo médio de ração (CR), peso final (PF), conversão alimentar (CA) e mortalidade (M).

- Ganho de peso médio (g) – determinado pela diferença entre o peso médio inicial das aves e o peso médio final do respectivo intervalo.

- Consumo médio de ração (g) – obtido pela diferença entre o peso da ração fornecida durante o respectivo intervalo e o peso da sobra ao final deste, que é dividido pelo número de aves do *box*.

- Conversão alimentar (g/g) – obtida pela relação entre o consumo médio de ração e o ganho de peso médio no respectivo intervalo de criação.

- Mortalidade (%) – anotada diariamente. Calculada pela relação entre o número de aves que morreram durante o respectivo intervalo e o número inicial de aves, que é multiplicada por cem.

Resposta à Vacina de Newcastle - todas as aves do experimento foram vacinadas contra a Doença de Newcastle aos 14 dias de idade pela via ocular.

A vacina liofilizada era viva atenuada e continha a cepa enterotrópica VG/GA. A dose vacinal utilizada foi 0,03 ml/ave (30 ml de diluente/1000 doses vacinais/ 1000 aves), conforme as recomendações do fabricante.

Foram coletadas amostras de sangue de 20 aves de cada tratamento identificadas individualmente. A identificação permitiu a coleta das mesmas aves aos 14 (antes da vacinação), 28 e 42 dias de vida, por punção da veia ulnar.

Essas amostras foram colocadas em microtubos sem anticoagulante e, centrifugadas para obtenção do soro. Para a titulação de anticorpos contra Newcastle, as amostras séricas foram submetidas ao ensaio imunoenzimático com o kit ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay), produzido pela empresa Idexx Laboratórios. A metodologia utilizada é a descrita por Purchase et al. (1989).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Por todo o período experimental, a temperatura média do galpão variou entre 20-30°C.

Os valores médios e análise estatística de Peso Final (PF), de ganho de peso médio (GMP), consumo médio de ração (CR), conversão alimentar (CA), a titulação de anticorpos dos frangos de corte sob os diferentes tratamentos, estão apresentados na próxima página e nas tabelas 6, 7, 8, 9 e 10, respectivamente.

Tabela 6 –PF- Peso médio em gramas de frangos de corte aos 1, 21 e 42 dias de idade, sob os diferentes tratamentos

Dia	Antibiótico	CE	Controle	P	CV
1	47.70	46,40	47,38	0,09	3,82
21	897,05 ^{ab}	918,69 ^a	886,83 ^b	0,04	4,46
42	2240,67	2251,92	2193,50	0,10	4,38

Nota: Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05)

Tabela 7 - GMP - Ganho médio de peso g/dia em frangos de corte nos intervalos:1-21 e 1-42 dias de idade sob diferentes tratamentos

Dia	Antibiótico	CE	Controle	P	CV
1 aos 21	40,46 ^{ab}	41,54 ^a	40,00 ^b	0,01	3,90
1 aos 42	52,22	52,51	50,9	0,09	4,46

Nota: Letras diferentes entre si diferem estatisticamente pelo Teste de Tukey (P<0,05)

Tabela 8 – CR- Consumo ração médio em gramas de frangos de corte nos intervalos de: 1-21; 1-35; 1-42 dias de idade sob diferentes tratamentos

Dia	Antibiótico	CE	Controle	P	CV
1 aos 21	1.290 ^{ab}	1.272 ^a	1.292 ^a	0,75	7,25
1 aos 35	3.167 ^a	3.085 ^a	2.800 ^b	<0,01	6,73
1 aos 42	4.624 ^{ab}	4.578 ^b	4.827 ^a	0,03	6,70

Nota: Letras diferentes entre si diferem estatisticamente pelo Teste de Tukey (P<0,05)

Tabela 9 – CA- Conversão Alimentar de frangos de corte nos intervalos de: 1-21 e 1-42 de idade sob diferentes tratamentos

Dia	Antibiótico	CE	Controle	P	CV
1 aos 21	1,50 ^{ab}	1,46 ^b	1,55 ^a	0,06	8,04
1 aos 42	2,11 ^b	2,08 ^b	2,26 ^a	<0,01	7,36

Nota: Letras diferentes entre si diferem estatisticamente pelo Teste de Tukey (P<0,05)

Tabela 10 - Média do logarítimos dos anticorpos: resposta vacinal à doença de Newcastle em frangos de corte aos 14, 28 e 42 dias de idade, sob os diferentes tratamentos

Dia	Antibiótico	CE	Controle	P	CV
14	473,85	548,15	442,10	0,24	11,67
28	1526,45	646,15	814,45	0,13	18,45
42	1444,40 ^a	688,85 ^{ab}	526,35 ^b	0,04	37,20

Nota: Letras diferentes entre si diferem estatisticamente pelo Teste de Tukey ($P < 0,05$)

Os dados de Peso Final em gramas analisados neste estudo não apresentaram diferenças significativas no período todo como descreve a Tabela 6, apesar de o grupo tratado com Exclusão Competitiva (grupo B) ter uma diferença de aproximadamente 60 gramas de diferença a mais do que o grupo Controle e 20 gramas quando comparado com grupo Antibiotico. Só ocorreu diferença significativa ($p > 0,05$) aos 21 dias onde o grupo controle apresentou o pior ganho de peso.

Já na análise estatística da característica GMP (Tabela 7) não foi encontrada diferença significativa ($p > 0,05$) entre as médias no período todo (1 aos 42 dias) entre os tratamentos. Porém, para o intervalo entre 1 aos 21 dias, os tratamentos com antibióticos e exclusão competitiva diferirem do controle, sugerindo que tanto os antibióticos, como Exclusão Competitiva influenciam no ganho de peso das aves para os sistemas de criação.

Os resultados obtidos neste estudo se equivalem aos de Schneitz et al. (1998), que observaram ganhos de pesos similares entre tratamentos com antibióticos e exclusão competitiva. Segundo Mendes (2004), o uso de flora bacteriana (CE) pode influenciar no desempenho zootécnico.

Os valores do CR pelos frangos de corte nas fases analisadas estão apresentados na Tabela 8, demonstram, perante análise estatística desta característica, diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os valores do consumo médio de ração entre os tratamentos e os períodos; onde os consumos foram estatística e numericamente muito parecidos. Na fase inicial 1 a 21 dias o tratamento com antibióticos apresentou diferença estatística sob os outros tratamentos. Apesar de o consumo apresentar-se menor no tratamento Controle no período de 1 a 35 dias, essa diferença não foi confirmada ao final do experimento quando mensurou-se o consumo do 1º ao 42º dia. Conforme Pasternak e Shalev (1983), as taxas de crescimento afetam a eficiência alimentar, e há diferenças com relação aos diversos híbridos encontrados no mercado.

Os resultados deste experimento confirmam o trabalho de Estrada et al. (2002), os quais demonstraram que a Exclusão Competitiva provoca crescimento das vilosidades intestinais em frangos influenciando em CR e CA.

Dados de Boratto (2004) confirmam os dados deste experimento; Boratto também observou em seu trabalho que no período de 01 a 21 ocorreu maior CR no grupo que recebeu probiótico (neste caso Exclusão Competitiva) em relação ao grupo controle.

Na tentativa de explicar os efeitos nutricionais da administração da microflora de Exclusão Competitiva, um estudo em escala laboratorial foi conduzido na Finlândia. Os resultados mostraram que o produto diminuiu a viscosidade dos conteúdos do ílio e aumentou a matéria seca das fezes significativamente. A Exclusão Competitiva também melhorou o valor da energia metabolizável da ração em 1,6%, aumentou significativamente a concentração de ácido propiônico no ceco e diminuiu o ácido butírico nos conteúdos do ílio (SCHNEITZ et al., 1998).

Os valores médios da CA dos frangos de corte nas fases inicial, de crescimento e final e no período total de criação, referentes aos diferentes tratamentos a que os frangos foram submetidos, encontram-se na tabela 9.

Na análise estatística dessa característica encontrou-se diferença significativa ($p > 0,05$) entre os valores da CA em todos os tratamentos nas fases iniciais, e no período total de criação das aves. A CA dos frangos durante o período de 1 a 42 dias resultou em efeito significativo entre os tratamentos antibiótico e Exclusão competitiva quando comparados com o tratamento Controle, o que era esperado. Segundo Schneitz (2005), o uso de exclusão competitiva melhora os índices de CA.

De acordo com Correa et al. (2003), não são afetados os resultados de CA entre tratamento de antibióticos e probióticos.

Os resultados de mortalidade não foram analisados estatisticamente e apresentaram-se regularmente normais com que se é encontrado em uma criação de frangos de corte, demonstraram-se melhor para tratamento com Exclusão Competitiva (2,85%) quando comparados com tratamentos de Antibióticos (3,57%), que por sua vez foram melhores que o Controle (5,00%).

Para as titulações contra a DNC, as médias das titulações foram analisadas aos 14 dias de idade, antes da vacinação das aves, os anticorpos contra Newcastle apresentados são passivos (de origem materna) e estão descritos na tabela 10. Portanto, conforme era

esperado, os títulos entre os diferentes tratamentos ainda não diferem entre si, já que a resposta ativa não havia iniciado para que os aditivos pudessem atuar sobre ela.

Após o nascimento, ocorre a queda gradativa nos níveis de anticorpos maternos, não devendo estes ser mais observados a partir dos 28 dias de idade. Assim, os anticorpos desde então detectados são originários de resposta imune adquirida (PHILIPA, 1973).

Até os 28 dias de idade, não se observou diferença estatística entre os tratamentos. Já aos 42 dias de idade, não ocorreu diferença significativa entre os tratamentos com antibiótico e com exclusão competitiva, diferenciando apenas do controle. Entretanto, observa-se que, ainda que numericamente, as respostas para os tratamentos foram confusas, sugerindo a realização de uma nova pesquisa, até porque eram esperados títulos aproximados entre os tratamentos com antibiótico e com Exclusão Competitiva.

Um estudo realizado por Zulkifli et al. (2000) demonstrou maiores títulos de anticorpos contra a doença de Newcastle em frangos de corte que receberam probiótico em relação ao controle, sem diferir do grupo tratado com antibiótico.

6 CONCLUSÕES

Os resultados de desempenho obtidos neste estudo demonstraram que a Exclusão Competitiva (CE) pode ser uma alternativa na substituição dos promotores de crescimento. Para resposta imune, os dados não foram consistentes para realizar alguma afirmação, sugerindo uma reavaliação.

Portanto, como o conceito de Exclusão Competitiva e os produtos do gênero podem ser ferramentas importantes no combate da resistência bacteriana aos antibióticos promotores de crescimento, é recomendável a continuidade dos estudos dessa natureza. Sugere-se o uso de outros protocolos experimentais, sobre outros aspectos do sistema imune ou desempenho das aves, sendo interessante nesses ensaios a inclusão do emprego de desafios sanitários e também outros promotores de crescimento

REFERÊNCIAS

- ABREU, C. P. **Doenças de notificação obrigatória: doença de newcastle**. 2006. Disponível em: <<http://imanet.ima.mg.gov.br/comeco/abril06/1104gripeaviaria.htm>>. Acesso em: 17 out. 2007.
- ANDRADE, M. A. Excreção fecal de *Salmonella potidis* em duas linhagens de frangos de corte. **Ciência Animal Brasileira**, v. 8, n. 4, p. 757-765, out./dez. 2007. Disponível em: <<http://www.revistas.ufg.br/index.php/vet/article/viewFile/2697/2730>>. Acesso em: 13 set. 2007.
- APNEA. **As toxinfecções alimentares**. 2007. Disponível em: <<http://www.apnea.pt/As-Toxinfec-es-Alimentares-2.html>>. Acesso em: 22 ago. 2007.
- AVÍCULTURA. **Salmoneloses**. 2005. Disponível em: <http://avicultura.com.pt/index.php?option=com_content&task=category§ionid=4&id=26&Itemid=56>. Acesso em: 15 out. 2007.
- BACK, A. **Manual de doenças de aves**. Cascavel: Coluna do saber, 2002, 246 p.
- BAILEY, J. S.; COX, N. A.; BERRANG, M. E. Hatchery-acquired Salmonellae in broiler chicks. **Poultry Science**, v. 73, p. 1153-1157, 1994.
- BARROW, P.A. *Salmonella* control – past, present and future. *Avian Pathology*. v.22, p.651-669, 1993
- BASSAN et al. **Controle da Infecção por *Salmonella enteritidis* em Frangos de Corte com Ácidos Orgânicos e Mananoligossacarídeos**. Disponível em: <http://www.avisite.com.br/cet/img/070918_tabalho2.pdf>. Acesso em: 30 set. 2007.
- BELLAVER, C. **Nutrição e alimentação**. EMBRAPA. 2003. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Ave/ProducaodeFrangodeCorte/agua.html>>. Acesso em: 13 nov. 2007.
- BERCHIERI JÚNIOR, A. Salmoneloses aviárias. In: BERCHIERI JÚNIOR, A.; MACARI, M. (Ed.). **Doenças das aves**. Campinas: Facta, 2000. p. 185-195.
- BERSOT, L. S.. ***Salmonella* no Brasil**: sua importância no abate de aves. In: SIMPÓSIO DE SANIDADE AVÍCOLA DA UFSM., 5, 2006, Santa Maria-RS, Disponível em: <http://www.cnpsa.embrapa.br/down.php?tipo=publicacoes&cod_publicacao=882>. Acesso em: 20 out. 2007.
- BORATTO, A. J.; LOPES, D. C.; OLIVEIRA, R. F. M.; ALBINO, L. F. T.; SA, L. M.; OLIVEIRA, G. A. Uso de antibiótico, de probiótico e de homeopatia, inoculados ou não com *Escherichia coli*, para frangos de corte criados em conforto. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Brasil, v. 33, n. 6, p. 1477-1485, 2004.
- BRASIL. **Estudo de atividade viral para a doença de newcastle e vigilância ativa para a doença de newcastle e influenza aviária**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 2003. Disponível em:

<http://www.agricultura.gov.br/pls/portal/docs/PAGE/MAPA/MENU_LATERAL/AGRICULTURA_PECUARIA/ESTUDOS_PUBLICACOES/RELATORIO1.PDF>. Acesso em: 20 out. 2007.

BYRD, J.; CORRIER, D.E.; DELOACH, J.R.; NISBET, D.J.; STANKER, L.H.; A Horizontal transmission of *Salmonella typhimurium* in broiler chicks. *The Journal Applied of Poultry*, v. 7, p. 75-80, 1998.

CARAMORI JUNIOR, J. G. **Efeito de probióticos e prebióticos na ração de frangos de corte sobre o desempenho, rendimento de carcaça, características químicas e presença de *Salmonella* spp na carne.** 2001. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2001.

COMPÊNDIO de Produtos Veterinários – SINDAN. **Broilact®**, 2007. Disponível em: <<http://www.cpv.com.br/cpv/prodpesquisa.aspx>>. Acesso em: 18 out. 2007.

CORRÊA, G. S. S.; GOMES, A. V. C.; CORRÊA, A. B.; SALLES, A. S.; Utilização de probióticos e antibioticos como promotores de crescimento na alimentação de frangos de corte. **Revista Universidade Rural UFRRJ**, v. 22, p. 75-81, 2003.

COX, N.A.; BAILEY, J.S.; MAULDIN, J.M.; BLANKENSHIP, L.C.; WILSON, J.L.; EXTENT of *Salmonellae* contamination in breeder hatcheries. **Poultry Science**, v. 70, p. 416-418, 1991.

COX, N. A.; BERRANG, M. E.; CASON, J. A. *Salmonella* penetration of egg shells and proliferation in broiler hatching eggs – a review. **Poultry Science**, v. 79, p. 1571-1574, 2000.

DESMIDT, M.; DUCATELLE, R.; HAESEBROUCK, F. Pathogenesis of *Salmonella enteritidis* phage type four after experimental infection of young chickens. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 56, p. 99-109, 1997.

EMBRAPA. **Exigências dos frangos.** 2003. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Ave/ProducaoFrangodeCorte/Racao-tab.html#tab3>>. Acesso em: 13 nov. 2007.

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

ESTRADA, M. A. J.; CRUZ, D.A.; JIMÉNEZ, J.J.C.; MARTÍNEZ, N.L.; GUZMÁN, R.M.; **Efecto de BROILACT® sobre las vellosidades intestinales de pollos de engorda desafiados con *Salmonella enteritidis* PT-13.**, Mexico: Veterinaria Mexico UNAM, 2002.

ETERZO, E. V.; PAIVA, J. B.; PENHA, R. A. Time required to protect the intestinal tract of chicks against *Salmonella enterica* serovar *Enteritidis* using competitive exclusion. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 7, p. 119-122, 2005.

FERNANDES, S. A. *Salmonella enteritidis*: atual sorotipo no Estado de São Paulo e susceptibilidade aos agentes antimicrobianos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE

MICROBIOLOGIA, 27., 1995, São Paulo. **Anais...** São Paulo, 1995. p. 103.

FERREIRA, A. J. P. **Exclusão competitiva na avicultura**. In: SIMPÓSIO SOBRE ADITIVOS ALTERNATIVOS NA NUTRIÇÃO ANIMAL, 2000, Campinas, **Anais...** 2000. p. _____. **Anais do Simpósio sobre Aditivos Alternativos na Nutrição Animal**

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M.; DESTRO, M. T.; GELLI, D. S. Foodborne diseases in Southern South America. In: MILIOTIS, M. D.; BIER, J. W. *International handbook of foodborne pathogens*. New York: Marcel Dekker, 2003, p. 733-743.

FROYMAN, R.; STEPHAN, B.; DAY, C. Epidemiology of paratyphoid salmonellosis in a large broiler integration and the impact of the application of a normal avian gut flora at day-old. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM *SALMONELLA* AND SALMONELLOSIS, 1997, Ploufragan. **Anais...** Ploufragan, 1997. p. 12-13.

FUKAYAMA, E. H. BERTECHINI, A.G.; GERALDO, A.; REINALDO KANJI KATO, R.K.; MURGAS, L.D.S.; Extrato de orégano como aditivo em rações para frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 34, n. 6, 2005. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-35982005000700018&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 18 dez. 2007.

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

GIROTTTO, A. F.; AVILA, V. S. **Importância econômica**. EMBRAPA. 2003. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Ave/ProducaoFrangodeCorte/Autores.html#Claudio>>. Acesso em: 13 nov. 2007.

HAVENSTEIN, G. B., FERKET P. R.; GRIMES J. L.; QURESHI M. A.; NESTOR K. E.; Performance of 1966 vs. 2003 turkeys when fed representative 1966 and 2003 turkey diets. In: WORLD'S POULTRY CONGRESS, 2004, Istanbul, Turkey, **Proceedings...** 2004, p. 112.

_____. Changes in the performance of turkeys–1966–2003. In: TECHNICAL TURKEYS CONFERENCE, 27., 2004, Macclesfield, Cheshire, UK. **Proceedings...** 2004, p. 1–13.

HOFER, E.; SILVA FILHO, S. J.; REIS, E. M. F. Prevalência de sorovares de *Salmonella* isolados de aves no Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 2, p. 55-62, 1997.

INSTITUTO de Ciências Biológicas. **Salmonella**. 2007. Disponível em: <<http://www.icb.ufmg.br/biq/prodap/projetos/colicinas/colicina6.html>>. Acesso em: 23 set. 2007.

LIMA, A. C. F. ; JÚNIOR, J.M.P.; MARCOS MACARI, M.; MALHEIROS, E.B.; Efeito do uso de probiótico sobre o desempenho e atividade de enzimas digestivas de frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, n.1, p.200-207, jan./fev., 2003.

LODDI, M. M. **Probióticos, prebióticos e acidificantes orgânicos em dietas para frangos de corte**, 2003,. Tese (Doutorado em Zootecnia) Faculdade de Ciências Agrárias e

Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2003

MACHADO FILHO, L. C. P. M.; HÖTZEL, M. J. Bem estar dos suínos. In: SEMINÁRIO INTERNACIONAL DE SUINOCULTURA, 2000, Concórdia. **Anais...** Concórdia: Embrapa Suínos e Aves, 2000. p. 70-82. Disponível em: <http://www.uov.com.br/biblioteca/pdf/20/bem-_estar_dos_suinos.pdf>. Acesso em: 3 set. 2007.

MCILROY, S. G.; MCCRACKEN, R.M.; NEILL, S.D.; O'BRIEN, J.J.; Control, prevention and eradication of *Salmonella enteritidis* infection in broiler and broiler breeder flocks. The Veterinary Records, v. 22, p. 545-548, 1989.

MEAD, G. C. Recommended assay for treatment of chicks to prevent *Salmonella* colonization by 'competitive exclusion'. **Journal of Food Protection**, v. 52, p. 500–502, 1989.

MENTEN, J. F. M.; LODDI, M. M. Probióticos, prebióticos e aditivos fitogênicos na nutrição de aves. In: SIMPÓSIO SOBRE NUTRIÇÃO DE AVES E SUÍNOS, 2003, Campinas. **Anais...** Campinas: Colégio Brasileiro de Nutrição Animal CBNA, 2003, p. 107-138.

MENTEN J. F. M.; PEDROSO, A. A. Fatores que interferem na eficácia de probióticos. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2005, Santos, p. 41-52.

MURAROLLI, R. A. **Efeitos de diferentes relações dietéticas de energia metabolizável: proteína bruta e do peso inicial de pintos sobre o desempenho e o rendimento de carcaça em frangos de corte:** I machos; II fêmeas. 2007 Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/10/10135/tde-15062007-142111/>>. Acesso em: 13 nov. 2007.

NUOTIO, L.; SCHNEITZ, C.; HALONEN, U.; NURMI, E. Use of competitive exclusion to protect newly-hatched chicks against intestinal colonisation and invasion by *Salmonella Enteritidis* Pt4. **British Poultry Science**, v. 33, p. 775-779, 1992.

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

OLIVEIRA, G. H.; JUNIOR, A.B.; BARROW, P.A.; Prevention of *Salmonella* infection by contact using intestinal flora of adult birds and/or a mixture of organic acids. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.31, p. 116-120, 2000.

PALHARES, J. C. P. **Manejo ambiental**. EMBRAPA. 2003. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Ave/ProducaoFrangodeCorte/Preservacao.html>>. Acesso em: 13 nov. 2007.

PALMU, L.; CAMELIN, I. The use of competitive exclusion in broilers to reduce the level of *Salmonella* contamination on farm and at the processing plant. *Poultry Science*, v. 76, p. 1501-1505, 1997.

PASTERNAK, H.; SHALEV, B. A. Genetic-economic evaluations of traits in a broiler

enterprise: reduction of food intake due to increased growth rate. **British Poultry Science**, Abingdon, v. 24, p. 531-536, 1983.

PHAR-MECUM. **Salmonelose**. 2007. Disponível em: <http://www.phar-mecum.com.br/atual_jornal.cfm?jor_id=3453>. Acesso em: 18 set. 2007.

PHILIPS, J. M. Vaccination against Newcastle disease: an assessment of haemagglutination inhibition titres obtained from field samples. **Veterinary Record**, v. 93, n. 22, p. 577-583, 1973

PIVNICK, H.; NURMI, E. The Nurmi Concept and its role in the control of Salmonella in poultry. In: DAVIES, R. B. (Ed.). **Developments in food microbiology**. UK: Applied Science Publishers Ltd., 1982, v. 1, p. 41-70.

POPPE, C. Epidemiology of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis. In: SAEED, A. M. (Ed.). **Salmonella enterica serovar Enteritidis in humans and animals**. Ames: Iowa State University Press, 1999. p. 3-18.

RICHARDSON, K. Impacto da qualidade microbiológica da ração na Contaminação de ovos e carcaças. In: SEMINÁRIO INTERNACIONAL DE AVES E SUÍNOS, Florianópolis. 2005. Disponível em: <http://www.cnpsa.embrapa.br/down.php?tipo=publicacoes&cod_publicacao=719>. Acesso em: 18 out. 2007.

ROCHA, N. C. **Digestão nas aves**. 2007. Disponível em: <http://www.uff.br/fisiovet/Conteudos/digestao_animais.htm>. Acesso em: 13 set. 2007.

ROCHA, P.; MESQUITA, M.A.; ANDRADE A.J.; LOULY, P.R.; NASCIMENTO, M.N.; *Salmonella spp.* em forros de caixa de transporte e órgãos de pintos de um dia. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia Belo Horizonte, v. 55, n. 6, 2003. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-09352003000600004&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 17 dez. 2007.

ROSSI, A. A. **Biossegurança em frangos de corte**. 2005. Disponível em: <aspro01.npd.ufsc.br/biblioteca/asp/pbasbi2.asp?codAcervo=221222&codBib=,&codMat=,-10k>. Acesso em: 15 set. 2007.

RUTZ, F.; LIMA, G. J. M. M. O uso de antimicrobianos como promotores de crescimento no Brasil. Florianópolis: , Abraves-SC, 2001.

SANTOS, C. H. C.; SILVA, E. N. Métodos de diagnósticos laboratoriais microbiológicos e sorológicos. In: BERCHIERI JR., A.; MACARI, M. (Ed.). **Doenças das aves**. Campinas: FACTA, 2000. p. 173-182.

SCHNEITZ, C. Competitive exclusion in poultry—30 years of research. **Food Control**, v. 16, n. 8, p. 657-667, 2005. **Food Control** Volume 16, Issue 8, October 2005, Pages 657-667

SCHNEITZ, C.; RENNEYB, D. J. Effect of a commercial competitive exclusion product on the colonization of *Salmonella Infantis* in day-old pheasant chicks. **Avian Disease**, v. 47, p.

1448-51, 2003.

SCHNEITZ, C.; Kiiskinen, T.; Toivonen, V.; Nasi, M.; Effect of BROILACT on the physico-chemical conditions and nutrient digestibility in the gastrointestinal tract of broilers. **Poultry Science**, v. 77, p. 426-432, 1998.

SILVA, A. B. A. **Influência do jejum alimentar, probióticos e antibiótico na população de enterobactérias, bactérias ácido lácticas, *Bacillus* e *Salmonella* sp. em cecos e papos de frangos de corte.** 2006. Disponível em:

<<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/11/11141/tde-13122006-152229/> - 15k>. Acesso em: 20 out. 2007.

SMITH, K. Rachid, M.A.; Willingham, E.; Sturtz, R.; Almeida, C.Q.; Ferreira, F.; *SALMONELLA* DT104. Disponível em:

<<http://www.vet.uga.edu/VPP/NSEP/Brazil2002/salmonella/port/etiology.htm>>. Acesso em: 13 nov. 2007.

TAUNAY, A. E FERNANDES; A.T. TAVECHIO; B.C. NEVES; A.M.G. DIAS; K. IRINO
The role of public health laboratory in the problem of salmonellosis in São Paulo, Brazil.
Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo v. 2, p. 119-127, 1996.

TAVECHIO, A. T. FERNANDES; B.C. NEVES; A.M.G. DIAS; K. IRINO
Changing patterns of *Salmonella* serovars: increase of *Salmonella enteritidis* in São Paulo, Brazil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo* v. 5, p. 315-322, 1996.

VACINAÇÃO para evitar Newcastle é tema de mesa-redonda. 2007. Disponível em:

<http://www.avicultura2007.com.br/conteudo/imprensa_releases.asp?InCdPress=122>. XX Congresso Latinoamericano de Avicultura.

van der WIELEN, P.W.J.J.; KEUZENKAMP, D.A.; LIPMAN, L.J.A. Spatial and temporal variation of the intestinal bacterial community in commercially raised broiler chickens during growth. **Microbial Ecology**, v. 44, n. 3, p. 286-293, 2002.

ZANCAN, F. T. **Pesquisa de Salmonella em caixas de transporte de pintos de um dia de idade.** 1998. 46 p. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP, Jaboticabal, São Paulo, 1998.

ZULKIFLI, I. Growth performance and immune response of two commercial broiler strains fed diets containing *Lactobacillus cultures* and oxytetracycline under heat stress conditions. **British Poultry Science**, v. 41, p. 593-597, 2000.