ARYANA DUCKUR NUNES

Influência do uso de aditivos alternativos a antimicrobianos sobre o desempenho, morfologia intestinal e imunidade de frangos de corte

Pirassununga
2008

ARYANA DUCKUR NUNES

**Influência do uso de aditivos alternativos a antimicrobianos sobre o desempenho,
morfologia intestinal e imunidade de frangos de corte**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Nutrição 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 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 Virgílio Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T.1944
FMVZ

Nunes, Aryana Duckur

Influência do uso de aditivos alternativos a antimicrobianos sobre o desempenho, morfologia intestinal e imunidade de frangos de corte / Aryana Duckur Nunes. – Pirassununga: A. D. Nunes, 2008.
111 f. : il.

Dissertação (mestrado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Nutrição e Produção Animal, 2008.

Programa de Pós-Graduação: Nutrição Animal.
Área de concentração: Nutrição Animal.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo de Albuquerque.

1. Aditivos alternativos. 2. Desempenho. 3. Frangos de corte. 4. Imunidade. 5. Morfologia intestinal. I. Título.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

Comissão Bioética

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Influência do uso de aditivos alternativos a antimicrobianos sobre o desempenho, morfologia intestinal e imunidade de frangos de corte", protocolado sob o nº895/2006, utilizando 960 (novecentos e sessenta) frangos de corte, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Ricardo de Albuquerque, 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 "Influence of the use of alternative additives instead of antimicrobials on the performance, intestinal morphology and immunity of broilers", protocol number 895/2006, utilizing 960 (nine hundred and sixty) chickens, under the responsibility of Prof. Dr. Ricardo de Albuquerque, agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by Bioethic Commission of the Faculty of Veterinary Medicine and Zootechny of University of São Paulo and was approved "ad referendum" meeting).

São Paulo, 30 de março de 2007

Prof. Dr. José Luis Bernardino Merusse
Presidente da Comissão de Bioética
FMVZ/USP

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome: NUNES, Aryana Duckur

Título: Influência do uso de aditivos alternativos a antimicrobianos sobre o desempenho, morfologia intestinal e imunidade de frangos de corte

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Nutrição 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, ao meu marido e a toda minha família.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Ricardo de Albuquerque pela dedicação e apoio durante todo processo como orientador, contribuindo intensamente para meu crescimento profissional e, pela inestimável amizade ao longo desses dois anos de convivência.

Aos funcionários, Edinho, China e Pedro por toda contribuição indispensável durante a condução do experimento.

A todos do Centro de Pesquisa em Toxicologia Veterinária (CEPTOX), em especial, a Ester e a Isis pela orientação, sugestões e disposição em colaborar sempre e, sem cujo auxílio não seria possível a adequada execução deste trabalho.

Às pesquisadoras, Ana Lúcia e Eliana, do Instituto Biológico, Centro Avançado de Pesquisa Tecnológica do Agronegócio Avícola de Descalvado, pela realização das análises sorológicas vacinais contra a doença de Newcastle.

A todos colegas do curso de Pós - Graduação, em especial, a Andréia, Bruna, Lílian, Estelinha, Rafael, Vinícius, Pascoal, Daniel, Paulo. Aos colegas de graduação, Leonardo, Maurício, Júlia. Agradeço por todo apoio na elaboração e condução deste trabalho e, acima de tudo pela amizade e agradáveis momentos convividos.

À minha família e, especialmente, ao meu marido Ednei pela tolerância, apoio e colaboração em tudo que estava a seu alcance, sempre empenhado em me auxiliar.

Ao Departamento de Nutrição e Produção Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo pela oportunidade de realizar o mestrado.

À Fundação de Amparo e Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela concessão da bolsa de mestrado e pelo apoio financeiro para a realização desta pesquisa.

As empresas Alltech, Imeve e Elanco pelo fornecimento dos produtos testados, bem como a Tortuga que forneceu os suplementos vitamínico-minerais utilizados.

Aos responsáveis pelo Laboratório de Morfofisiologia Molecular e Desenvolvimento pertencente ao Departamento de Ciências Básicas da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, por disponibilizar os equipamentos necessários à morfometria intestinal.

A todos que direta e indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho, meu sincero agradecimento e reconhecimento.

RESUMO

NUNES, A. D. **Influência do uso de aditivos alternativos a antimicrobianos sobre o desempenho, morfologia intestinal e imunidade de frangos de corte.** [Influence of the use of alternative additives instead of antimicrobials on the performance, intestinal morphology and immunity of broilers]. 2008. 111 f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2008.

Frente à preocupação da saúde pública com o uso de antimicrobianos promotores de crescimento na produção animal, intensificou-se a pesquisa de estratégias alternativas aos antimicrobianos. Algumas pesquisas relacionadas ao uso de prebióticos e probióticos como aditivos têm demonstrado que estes, além de promoverem a modulação benéfica da microbiota intestinal, resultam em efeitos imunomodulatórios que permitiriam reduzir o estresse imunológico. Dessa forma, o presente estudo teve como objetivo verificar a influência de um prebiótico e de um probiótico sobre o desempenho, morfologia intestinal e parâmetros de imunidade de frangos de corte, tendo um antibiótico e um controle para comparação. Foram utilizados 960 pintos de corte, criados até 42 dias de idade sobre cama reutilizada. O delineamento era inteiramente casualizado, com 4 tratamentos: Dieta basal (DB) com Antibiótico; DB com Prebiótico; DB com Probiótico; Controle (DB), sendo 8 repetições/tratamento. Quanto ao desempenho e, considerando-se o período total de criação, os aditivos alternativos testados não demonstraram efeito sobre o ganho de peso (GP), consumo de ração (CR) e mortalidade. Por sua vez, a conversão alimentar (CA) dos aditivos alternativos foi similar à do antibiótico, entretanto, não diferiu do controle. Com relação à imunidade, os aditivos alternativos não apresentaram efeito sobre boa parte dos parâmetros avaliados neste trabalho. Porém, para peso relativo do timo e taxa de fagocitose, o prebiótico mostrou exercer alguma influência. Além disso, ambos aditivos mostraram, ainda que apenas numericamente, uma melhor resposta vacinal contra Newcastle que os demais tratamentos aos 42 dias de idade. Por fim, não foi possível observar efeito benéfico dos aditivos alternativos testados sobre a morfologia intestinal de frangos de corte. Vale ressaltar que uma diversidade de fatores pode influenciar o efeito dos aditivos alternativos, culminando em resultados pouco conclusivos e até mesmo contraditórios. Diante deste fato e 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: Aditivos alternativos. Desempenho. Frangos de corte. Imunidade. Morfologia Intestinal.

ABSTRACT

NUNES, A. D. **Influence of the use of alternative additives instead of antimicrobials on the performance, intestinal morphology and immunity of broilers.** [Influência do uso de aditivos alternativos a antimicrobianos sobre o desempenho, morfologia intestinal e imunidade de frangos de corte]. 2008. 111 f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2008.

Due to the public health concerning with the use of antimicrobials as growth promoters in livestock, the number of researches of alternative strategies for antimicrobials has increased. Some researches about the use of prebiotics and probiotics as additives have demonstrated that those promote the beneficial modulation of the intestinal microbiota and have immunomodulatory effects which would allow decreasing of immunological stress. So, this study aimed to verify the influence of a prebiotic and of a probiotic on the performance, morphology intestinal and parameters of broilers immunity, comparing them with an antibiotic and a control group. In this experiment, 960 chicks were used and bread up to 42 days-old on litter previously used. The assignment was completely randomized, with 4 treatments: Basal diet (BS) with antibiotic, BS with prebiotic, BS with probiotic and control (only BS); with eight repetitions for each treatment. Concerning to the performance and taking into account the whole breeding period (42 days), the alternative additives groups did not present any effect on the weight gain (WG), feed intake (FI) and mortality. The feed conversion (FC) of the alternative additives groups was similar to that of the antibiotic one, but they had no significant difference from the control. Relatively to the immunity, the additives did not present any effect on the majority of the parameters evaluated in this work. However, for thymus relative weight and phagocytosis index, the prebiotic was shown to have some influence on. Moreover, both additives showed, although just numerically, a better response for vaccination against Newcastle disease than the others for 42 days-old broilers. Finally, it was not possible to observe any beneficial effects of the alternative additives on the broilers intestinal morphology. It is important to emphasize that several factors may influence the effects of those additives, which allow obtaining inconclusive, and even contradictory, results. Taking into account this fact and the results obtained in this work, one concludes that the essays with alternative additives must go on, since there have been evidences of their possible beneficial effects on animal production.

Key-words: Alternative additives. Broilers. Immunity. Intestinal Morphology. Performance.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

CAPÍTULO IV

Figura 1 -	Placa de titulação de anticorpos anti-SRBC em frangos de corte, aos 35 dias de idade, previamente imunizados contra SRBC	74
Figura 2 -	Macrófago peritoneal de frango de corte, aos 21 dias de idade, fagocitando partículas de Zymosan (indicado pela seta).....	76

CAPÍTULO V

Figura 1 -	Altura de vilo e profundidade de cripta no íleo de frango de corte, aos 42 dias de idade.....	104
------------	---	-----

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO III

Tabela 1 - Composição do DBA Probiótico Pó Oral para Aves [®] e Número de UFC por grama de ração ingerida.....	44
Tabela 2 - Composição Percentual e Análise Calculada das rações experimentais...	46
Tabela 3 - Enriquecimento com o suplemento vitamínico-mineral (vit.-min) por kg de ração.....	47
Tabela 4 - Ganho de peso médio (GP), consumo médio de ração (CR), conversão alimentar (CA) e mortalidade (M) de frangos de corte nos intervalos: 01-07; 01-14; 01-21; 01-28; 01-35; 01-42 dias de idade, sob os diferentes tratamentos.....	51

CAPÍTULO IV

Tabela 1 - Títulos médios de anticorpos: Resposta vacinal à doença de Newcastle em frangos de corte aos 14, 28 e 42 dias de idade, sob os diferentes tratamentos.....	79
Tabela 2 - Títulos médios de anticorpos anti-SRBC em frangos de corte, aos 35 dias de idade, sob os diferentes tratamentos.....	81
Tabela 3 - Valores médios das taxas de fagocitose em frangos de corte, aos 21 dias de idade, sob os diferentes tratamentos.....	82
Tabela 4 - Valores médios em <i>n</i> moles de H ₂ O ₂ em frangos de corte, aos 21 dias de idade, sob os diferentes tratamentos.....	84
Tabela 5 - Reação cutânea, em mm de aumento, após 8 (T8h – T0h) e 24 horas (T24h – T0h) da inoculação intradérmica de fitohemaglutinina em frangos de corte, aos 30 dias de idade, sob os diferentes tratamentos.....	85
Tabela 6 - Pesos médios relativos dos órgãos linfóides: baço, bursa e timo de frangos de corte, aos 40 dias de idade, sob os diferentes tratamentos.....	86

CAPÍTULO V

Tabela 1 - Morfologia intestinal: Altura de vilo (Alt. vilo); Profundidade de cripta

(Prof. cripta); Número de células caliciformes por vilo (Nº cel. cal./vilo) 105

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

μl	microlitro
μm	micrômetro
Alt.	altura
<i>B.</i>	<i>Bifidum</i>
CA	Conversão Alimentar
cal.	caliciforme
CD3	<i>Cluster of differentiation</i> – Molécula presente em todos os linfócitos T
CD4	<i>Cluster of differentiation</i> – Molécula presente em todos os linfócitos T- helper
CD8	<i>Cluster of differentiation</i> – Molécula presente em todos os linfócitos T citotóxicos
cél.	célula
CO_2	dióxido de carbono
CR	Consumo de Ração
CV	Coefficiente de Variação
DB	Dieta Basal
ELISA	<i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i> - Ensaio Imuno-Enzimático
FOS	frutoligossacarídeos
g	grama
GOS	glucoligossacarídeos
GP	ganho de peso
h	hora
H_2O_2	água oxigenada
Ig A	imunoglobulina A
Ig G	imunoglobulina G
Ig M	imunoglobulina M
Ig	imunoglobulina
IL-1	interleucina-1
IL-6	interleucina-6
kcal	kilocaloria
kg	kilograma
<i>L.</i>	<i>Lactobacillus</i>

M	molar
mg	miligrama
mcg	micrograma
m ²	metro quadrado
ml	mililitro
M	mortalidade
MOS	mananoligossacarídeos
n°	número
NaOH	hidróxido de sódio
NK	<i>natural killer</i>
n moles	nanomoles
NO	Óxido Nítrico
O ₂	oxigênio
P	Probabilidade
PBS	<i>Phosphate Buffer Saline</i> (pH 7,2)
PHA	fitohemaglutinina
PMA	<i>Phorbol Myristate Acetate</i>
ppm	parte por milhão
Prof.	profundidade
RPMI	<i>Roswell Park Memorial Institute</i>
S.	<i>Streptococcus</i>
SAS	Statistical Analysis System
<i>sp</i>	espécie
<i>spp</i>	espécies
SRBC	Sheep Red Blood Cell
T0h	tempo zero
T8h	após 8 horas
T24h	após 24 horas
TNF	Fator de Necrose Tumoral
ton	tonelada
UFC	Unidades Formadoras de Colônia
UI	Unidade Internacional
vit.	vitamina
vit.-min.	vitamínico-mineral

VG/GA	<i>Villegas Glisson /Georgia</i>
<i>Well</i>	poços

SUMÁRIO

CAPÍTULO I - INTRODUÇÃO	19
CAPÍTULO II - REVISÃO DE LITERATURA	21
1 ADITIVOS ANTIMICROBIANOS E SUAS IMPLICAÇÕES NA SAÚDE HUMANA	21
2 PREBIÓTICO E PROBIÓTICO: ALTERNATIVA AO USO DE ANTIMICROBIANOS.....	23
3 MODULAÇÃO BENÉFICA DA MICROBIOTA INTESTINAL COMO MECANISMO DE AÇÃO	25
4 EFEITO IMUNOMODULADOR DOS ADITIVOS ALTERNATIVOS	28
5 OUTROS EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO COM ADITIVOS ALTERNATIVOS	30
REFERÊNCIAS	32
CAPÍTULO III - INFLUÊNCIA DE ADITIVOS ALTERNATIVOS A ANTIMICROBIANOS SOBRE O DESEMPENHO DE FRANGOS DE CORTE	39
RESUMO	39
ABSTRACT	40
1 INTRODUÇÃO	41
2 MATERIAL E MÉTODOS	43
2.1 LOCAL E PERÍODO EXPERIMENTAL	43
2.2 ANIMAIS	43
2.3 DIETA EXPERIMENTAL	43
2.4 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E TRATAMENTOS	44
2.5 MANEJO DAS AVES	47
2.6 PARÂMETROS AVALIADOS	48
2.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA	49
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	50
4 CONCLUSÕES	55
REFERÊNCIAS	56
CAPÍTULO IV - INFLUÊNCIA DE ADITIVOS ALTERNATIVOS A ANTIMICROBIANOS SOBRE A IMUNIDADE DE FRANGOS DE CORTE....	62
RESUMO	62

ABSTRACT	63
1 INTRODUÇÃO	64
2 MATERIAL E MÉTODOS	69
2.1 LOCAL E PERÍODO EXPERIMENTAL	69
2.2 ANIMAIS	69
2.3 DIETA EXPERIMENTAL, DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E TRATAMENTOS	69
2.4 MANEJOS DAS AVES	70
2.5 PARÂMETROS AVALIADOS	71
2.5.1 IMUNIDADE HUMORAL	71
2.5.1.1 <i>Resposta à Vacina de Newcastle</i>	71
2.5.1.2 <i>Resposta à Sensibilização Prévia com Eritrócitos de Carneiro</i>	72
2.5.2 ATIVIDADE DE MACRÓFAGOS PERITONEAIS	74
2.5.2.1 <i>Fagocitose</i>	75
2.5.2.2 <i>Produção de Água Oxigenada</i>	76
2.5.3 RESPOSTA CUTÂNEA À FITOHEMAGLUTININA	77
2.5.4 PESO DOS ÓRGÃOS LINFÓIDES	77
2.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA	77
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	79
3.1 IMUNIDADE HUMORAL	79
3.1.1 RESPOSTA À VACINA DE NEWCASTLE	79
3.1.2 RESPOSTA À SENSIBILIZAÇÃO PRÉVIA COM ERITRÓCITOS DE CARNEIRO	81
3.2 ATIVIDADE DE MACRÓFAGOS PERITONEAIS	82
3.2.1 FAGOCITOSE	82
3.2.2 PRODUÇÃO DE ÁGUA OXIGENADA	83
3.3 RESPOSTA CUTÂNEA À FITOHEMAGLUTININA	84
3.4 PESO RELATIVO DOS ÓRGÃOS LINFÓIDES	86
4 CONCLUSÕES	88
REFERÊNCIAS	89
CAPÍTULO V - INFLUÊNCIA DE ADITIVOS ALTERNATIVOS A ANTIMICROBIANOS SOBRE A MORFOLOGIA INTESTINAL DE FRANGOS DE CORTE.....	96
RESUMO	96

ABSTRACT	97
1 INTRODUÇÃO	99
2 MATERIAL E MÉTODOS	101
2.1 LOCAL E PERÍODO EXPERIMENTAL	101
2.2 ANIMAIS	101
2.3 DIETA EXPERIMENTAL, DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E TRATAMENTOS	102
2.4 MANEJO DAS AVES	103
2.5 PARÂMETROS AVALIADOS	103
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	105
4 CONCLUSÕES	108
REFERÊNCIAS	109

CAPÍTULO I - INTRODUÇÃO

A avicultura de corte moderna alcançou excelentes níveis de produtividade nas últimas décadas. Este sucesso é atribuído a um conjunto de fatores, como o desenvolvimento de uma nutrição balanceada que faz uso de matérias-primas de qualidade; novas técnicas de manejo; avanço da genética e a inclusão de rigorosos programas sanitários nos plantéis.

Entretanto, a pressão por desempenho através do melhoramento genético reduziu a rusticidade dos animais. Essa menor resistência sanitária associada ao atual modelo de produção animal intensivo, cujas aves recém-nascidas não têm contato prévio com uma microbiota natural, resulta em obstáculos para a avicultura moderna.

O uso de antimicrobianos na nutrição animal, descrito desde a década de 50, parece contornar parcialmente estes obstáculos ao permitir uma produtividade mais adequada a animais criados de forma intensiva. Um grande número de antimicrobianos teve sua eficácia comprovada sobre o desempenho de animais, sob condições experimentais e de campo (SALMON; STEVENS, 1990; WAIBEL et al., 1991).

O acúmulo dessas evidências resultou na inclusão destes aditivos na ração como prática rotineira e com amplo sucesso nos atuais modelos de produção. Contudo, é crescente a preocupação da saúde pública com este uso. Preocupação esta principalmente relacionada à suposta indução de resistência cruzada de bactérias patógenas para humanos.

Assim, intensificou-se a pesquisa de estratégias alternativas aos antimicrobianos promotores de crescimento. A suplementação da nutrição animal com aditivos como prebióticos e probióticos é um exemplo de estratégia em estudo no presente trabalho.

Algumas pesquisas do uso destes aditivos têm demonstrado que ambos, além de promoverem a modulação benéfica da microbiota intestinal, resultam em efeitos imunomodulatórios que permitiriam reduzir o estresse imunológico. Conseqüentemente, a mobilização de nutrientes para atividades não relacionadas à produção seria reduzida. O resultado final é o melhor desempenho zootécnico sem aumentar significativamente os custos de produção.

Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi verificar a influência de um prebiótico e de um probiótico sobre o desempenho, morfologia intestinal e parâmetros de imunidade de frangos de corte, tendo um antibiótico e um controle para comparação.

A importância desse estudo deve-se aos resultados discordantes observados na literatura, o que ainda não permitiu consolidar a eficiência do uso dos aditivos alternativos sobre o desempenho animal. Além da escassez de estudos relacionados à imunidade das aves.

CAPÍTULO II – REVISÃO DE LITERATURA

1 ADITIVOS ANTIMICROBIANOS E SUAS IMPLICAÇÕES NA SAÚDE HUMANA

Após longo tempo de uso de antimicrobianos na nutrição animal, estes produtos passaram a ser questionados como fatores de risco para a saúde animal e humana.

A presença de resíduos na carne, ovos ou leite, causando desde reações de hipersensibilidade até propriedades cancerígenas, tornou-se uma das preocupações relacionadas à utilização destes aditivos (MENTEN, 2002).

Felizmente este risco é passível de controle através de métodos sensíveis de análise. A contaminação dos alimentos pode ser evitada com o uso criterioso de antibióticos, respeitando-se os períodos legais de retirada (MENTEN, 2002).

Entretanto, a principal preocupação, representada pela indução de resistência cruzada de bactérias patogênicas para humanos, é motivo de muita dúvida e insegurança pela impossibilidade de ser controlada.

Até o momento não foram observadas evidências diretas da ligação da suplementação antimicrobiana a processos patológicos específicos. Contudo, muitos cientistas concordam que a atividade seletiva de alguns antimicrobianos em rações poderia influenciar a proporção de bactérias resistentes no trato gastrointestinal (FULLER et al., 1960; ENGBERG et al., 2000). Por isso, intensificaram-se as pesquisas a fim de avaliar os riscos para a saúde pública.

Apesar da ausência de conclusões definitivas, autoridades de saúde pública no mundo todo vêm determinando uma redução na lista de antimicrobianos utilizados. Na Europa, a pressão dos consumidores também contribuiu para a proibição de antimicrobianos usados como promotores de crescimento (FERNANDES; MALAGUIDO; SILVA, 2003).

No Brasil, produtos utilizados no passado e atualmente proibidos como aditivos de ração incluem: tetraciclina, penicilinas, cloranfenicol, sulfonamidas sistêmicas, furazolidona, nitrofurazona e avorpacina. Os aditivos atualmente autorizados como promotores de crescimento de frangos de corte são: ácido 3-nitro, ácido arsanílico, avilamicina, colistina, flavomicina, loncomicina, tilosina, virginiamicina, bacitracina, espiramicina e enramicina (BENINI et al., 2005).

Tais proibições estão relacionadas a acontecimentos recentes que reforçam os riscos dessa prática. A crescente resistência a vancomicina em patógenos humanos, por exemplo, foi

associada ao uso de avorpacina como promotor de crescimento, devido a semelhante estrutura destas substâncias (MENTEN, 2003).

Da mesma forma, Nawas e Erickson (2001) relatou *Campylobacter* resistente a fluorquinolona associado ao consumo de frangos e, Valadas (2003) correlacionou a emergência de *Escherichia coli* O157:H7 resistente com o uso de penicilina, sulfametazina ou neomicina, em doses sub-terapêuticas na avicultura.

Situação similar é documentada em várias regiões do mundo com bactérias resistentes, como *Salmonella*, *Campylobacter*, e *E. coli* (LANGHOUT, 2005).

Porém, Macari e Furlan (2005) afirmam que a pura e a simples retirada dos antimicrobianos, como promotores de crescimento, podem causar sérios problemas na produção da proteína animal, em função da queda no desempenho.

Além disso, trabalhos recentes mostraram que o banimento pela Suécia e Dinamarca do uso de antimicrobianos como aditivos em avicultura está ocasionando um aumento do consumo dos mesmos nestes países. Agora, este consumo é na forma de medicação terapêutica destinada ao tratamento de processos infecciosos instalados, principalmente, no trato gastrointestinal das aves (ALBUQUERQUE, 2005).

Diante da perspectiva do completo banimento dos aditivos antimicrobianos, os prejuízos decorrentes desta situação têm sido avaliados. Butolo (1999) fez referência a dados de sete países europeus revelando um impacto econômico de US\$ 2,124 bilhões/ano.

No entanto, para alguns pesquisadores, as perdas na produtividade animal com a retirada dos antimicrobianos promotores de crescimento não seria tão intensa.

Rosen (1996), por exemplo, revisou resultados publicados de mais de 12.000 ensaios utilizando antibióticos e constatou que em apenas 72% dos experimentos houve respostas positivas no desempenho dos animais.

Menten e Loddi (2003) acreditam que a análise de alguns poucos trabalhos de pesquisa pode mascarar o real valor do produto em estudo. Foram observadas no Brasil, em experimentos nos últimos anos, respostas de pequena magnitude dos antibióticos nas rações de frango de corte, a maioria delas não significativas e em alguns casos até mesmo negativa.

Alguns trabalhos relatam ainda que, aves e suínos produzidos em ambientes livres de contaminações microbianas, “germ-free”, não se beneficiariam do efeito promotor de crescimento de antibióticos (MENTEN; LODDI, 2003).

De qualquer forma, estudos têm demonstrado que o uso de estratégias alternativas aos antimicrobianos promotores de crescimento pode minimizar as perdas econômicas advindas de um possível desempenho zootécnico inferior.

2 PREBIÓTICO E PROBIÓTICO: ALTERNATIVA AO USO DE ANTIMICROBIANOS

Alternativas naturais ao uso de antimicrobianos promotores de crescimento, que vêm sendo pesquisadas, incluem o uso racional de prebióticos, probióticos, ácidos orgânicos e extratos vegetais (HEINRICHS; JONES; HEINRICHS, 2003; SILVA; NÖRNBERG, 2003; GUO et al., 2004). Estes aditivos alternativos permitiriam transferir os efeitos benéficos propiciados pela natureza às criações industriais.

Segundo Dawson e Pirvulescu (1999), estas estratégias devem ser associadas a novas práticas nutricionais e de manejo e, modificariam a atividade antimicrobiana no trato gastrointestinal, prevenindo doenças, melhorando o desempenho e estimulando respostas imunológicas, sem aumentar significativamente os custos de produção.

Prebióticos são definidos como ingredientes nutricionais não digeríveis na porção proximal do trato gastrointestinal e que beneficiam o animal por estimular seletivamente o crescimento e/ou a atividade de um limitado grupo de bactérias no intestino (GIBSON; ROBERFROID, 1995).

Alguns carboidratos como oligo e polissacarídeos, peptídeos, proteínas, certos lipídeos, várias fibras e vegetais podem pertencer ao conceito de prebiótico desde que possuam características como: não ser hidrolisado e absorvido durante sua passagem pelo trato digestivo superior; ser substrato para bactérias intestinais benéficas; ser capaz de alterar a microbiota intestinal de forma favorável ao hospedeiro; induzir efeitos benéficos sistêmicos ou na luz intestinal (ANDREATTI FILHO; SILVA, 2005).

As substâncias que têm recebido mais atenção nas pesquisas como aditivos prebióticos em nutrição animal são os oligossacarídeos (BAILY et al., 1991; HUGHES et al., 2000). Principalmente, os frutoligossacarídeos (FOS), glucoligossacarídeos (GOS) e mananoligossacarídeos (MOS) (MENTEN; LODDI, 2003).

Os oligossacarídeos são carboidratos constituídos de cadeias curtas de polissacarídeos, compostos de três a dez açúcares simples ligados entre si (ANDREATTI FILHO; SILVA, 2005).

FOS são polímeros ricos em frutose, podendo ser naturais, derivados de plantas (inulina) como chicória, alcachofra, alho, dália, confrei e cereais ou sintéticos, obtidos através da polimerização da frutose (GIBSON; ROBERFROID, 1995; IJI; TIVEY, 1998). GOS e MOS são obtidos da parede celular de leveduras, constituída de proteína e carboidrato. Este

carboidrato contém os dois principais açúcares (glucose e manose) em proporções semelhantes e N-acetilglucosamina.

O MOS suplementado a dietas animais consiste de fragmentos de parede celular de *Saccharomyces cerevisiae* dotada de uma estrutura complexa de manose fosforilada, glucose e proteína (SPRING, 2000).

Ainda, segundo Spring (2000), o MOS é obtido a partir da centrifugação de células de levedura para o isolamento dos componentes de sua parede celular, os quais são lavados e submetidos ao processo "spray dried".

Por sua vez, os probióticos são definidos por Fuller (1989) como suplemento alimentar constituído de microrganismos vivos, que no organismo animal atuam de forma benéfica melhorando o equilíbrio da microbiota intestinal.

Mais tarde o conceito foi complementado por Havenaar et al. (1992), descrevendo o probiótico como cultura pura ou mista de microrganismos vivos que, fornecida ao homem ou aos animais, beneficia o hospedeiro pelo estímulo das propriedades existentes na microbiota natural.

As principais cepas bacterianas utilizadas no preparo de probióticos incluem: *Lactobacillus spp*, *Bifidobacterium sp*, *Enterococcus faecium*, *Bacillus spp* e *Eubacterium spp*, *Bacteroides* (FERREIRA et al., 2002; SIMON et al., 2001).

Contudo, ainda não é conhecida a composição microbiana ideal de um produto probiótico. Sabe-se, até o presente momento, que ela deve ser múltipla, espécie-específica e os microorganismos de sua composição devem sofrer poucas passagens em meios artificiais de cultivo. Aparentemente, um maior número de espécies bacterianas determina um probiótico mais efetivo (ANDREATTI FILHO; SILVA, 2005).

Segundo Silva (2000a), quando as bactérias são isoladas de seu habitat natural, cultivadas e/ou liofilizadas perdem algumas de suas propriedades. Por isso, os produtos com culturas não definidas ou, fezes frescas, têm melhor eficiência que aqueles com cultura definida.

Alguns pesquisadores consideram importantes pontos a serem considerados na seleção e produção de microrganismos probióticos: as bactérias devem ser capazes de serem ativadas e multiplicadas rapidamente após sua ingestão; gram-positivas e tolerantes a enzimas salivares, ácidos estomacais, sais biliares e ácidos orgânicos; capazes de aderir ao epitélio intestinal e excretar fator anti-*E. coli*; não serem patogênicas; serem estáveis, resistentes às elevadas temperaturas de processamento e capazes de produzir culturas viáveis no hospedeiro (VANBELLE, 1990; MONTES; PUGH, 1993).

3 MODULAÇÃO BENÉFICA DA MICROBIOTA INTESTINAL COMO MECANISMO DE AÇÃO

Sabe-se que o equilíbrio da microbiota intestinal reflete diretamente na integridade do estado de saúde do hospedeiro. Assim, qualquer desequilíbrio como o resultante do estresse de qualquer natureza ou do uso de antimicrobianos poderá favorecer a instalação e multiplicação de microrganismos patogênicos (SILVAa, 2000).

Embora ainda não exista uma classificação objetiva das bactérias da microbiota das aves em benéficas ou prejudiciais, em humanos alguns organismos componentes da microbiota intestinal são classificados como estritamente benéficos para o hospedeiro (GIBSON; ROBERFROID, 1995). É o caso de *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*, cujas características benéficas estendem-se desde a inibição do crescimento de bactérias prejudiciais, auxílio na digestão e/ou absorção de nutrientes, síntese de vitaminas, até o estímulo da imunidade (MENTEN; LODDI, 2003).

Os probióticos modulam beneficamente a microbiota intestinal através da competição por sítios de ligação e nutrientes, produção de substâncias antibacterianas, supressão da produção de amônia, neutralização de enterotoxinas e são capazes até mesmo de atuar sobre o metabolismo nutricional das aves (FULLER, 1989; JIN, 1997; ROLFE, 2000).

Vanbelle (1990) relata que a propriedade de competir pelos sítios epiteliais de adesão depende do número de bactérias viáveis que atingem o local a ser colonizado e do tipo de receptor específico para a bactéria.

As bactérias intestinais, benéficas ou patogênicas, nutrem-se de ingredientes que não foram total ou parcialmente degradados pelas aves. Portanto, a competição por nutrientes não ocorre entre a ave e as bactérias, mas sim entre estas últimas. A escassez de nutrientes na luz intestinal que possam ser metabolizados por patógenos é certamente fator limitante para a manutenção dos mesmos neste local (SILVAa, 2000).

As bactérias probióticas produzem ácidos graxos de cadeia curta (acético, butírico e propiônico) e lactato. O aumento da produção destes ácidos no trato gastrintestinal promove a queda do pH local, resultando na inibição do desenvolvimento de bactérias nocivas como *E. coli*, *Clostridium sp* e salmonelas, que são sensíveis a ambientes ácidos (MATHEW; SUTTON; SCHEIDT, 1993).

Outras substâncias antimicrobianas produzidas pelas bactérias probióticas incluem: bacteriocinas, nisina, acidofilina, lactalina, peróxido de hidrogênio e toxinas letais para certos patógenos (VANBELLE, 1990; JIN et al., 1997).

Tal como os antibióticos, há relatos de que probióticos reduziram a produção intestinal de amônia, que pode ser tóxica para as células epiteliais (MENTEN, 2003). Segundo Stewart e Chesson (1993), probióticos contendo *Bifidobacterium* previnem a formação de aminas tóxicas pelas bactérias intestinais.

Jin et al. (1997) citaram estudos em que os probióticos reduziram a concentração de amônia nas excretas de frangos de corte. Ainda, fizeram referência a uma possível neutralização de enterotoxinas produzidas por patógenos através da ação de substâncias produzidas por microrganismos probióticos.

A literatura também ressalta ação da microbiota benéfica sobre o metabolismo nutricional das aves, aumentando a digestão e absorção de nutrientes. Os Nutrientes sobre os quais as enzimas naturais das aves não atuam serviriam de substrato para os probióticos e, as substâncias resultantes deste processo poderiam ser absorvidas ou secundariamente metabolizadas pelas aves (SILVAa, 2000).

Jin et al. (1997) descreveram a secreção de enzimas como amilase, lipase e protease por organismos probióticos.

Ainda, os ácidos graxos voláteis de cadeia curta produzidos no intestino podem ser usados como fonte de energia para as células epiteliais (LEEDLE, 2000).

Da mesma forma que os probióticos, uma das propostas para o mecanismo de ação dos prebióticos é a modulação benéfica da microbiota intestinal (MENTEN; LODDI, 2003).

Fernandez, Hilton e Gils (2002) relatam que é grande o interesse nas propriedades específicas e seletivas de determinados carboidratos insolúveis e seus efeitos sobre a microbiota intestinal de humanos, aves e outros animais. Entre estes carboidratos destacam-se os oligossacarídeos à base de frutose, manose e galactose.

Os mananoligossacarídeos exercem efeitos indiretos sobre as populações bacterianas e a colonização intestinal por patógenos.

Alguns trabalhos demonstraram que este aditivo promove alterações na multiplicação de organismos anaeróbicos benéficos que podem inibir de forma competitiva o crescimento e a atividade de clostrídios (DAWSON; PIRVULESCU, 1999).

Os prebióticos são capazes de estimular o desenvolvimento de bactérias benéficas como *Bifidobacterium spp*, *Lactobacillus spp*, *Eubacterium spp* (FERNANDEZ; HILTON; GILS, 2002; FERNANDES; MALAGUIDO; SILVA, 2003).

Contudo, a ação dos prebióticos não se limita ao estímulo do desenvolvimento de organismos anaeróbicos benéficos. Sabe-se que os prebióticos também exercem efeitos diretos sobre a colonização do trato gastrointestinal por bactérias patogênicas.

Para que as bactérias consigam colonizar o trato intestinal e criar uma condição patológica, é necessária a aderência à superfície epitelial. Esta adesão pode ocorrer através de fímbrias ou lectinas (glicoproteínas) que reconhecem especificamente açúcares presentes na superfície dos enterócitos do hospedeiro. Portanto, caso estas estruturas bacterianas se liguem a açúcares ou oligossacarídeos dietéticos, e não à mucosa intestinal, os patógenos passarão com a digesta sendo eliminados do trato intestinal (COLLETT, 2000; CLOSE, 2001).

Alguns autores relatam que os oligossacarídeos prebióticos (principalmente a D-manose) atuam exatamente nesta etapa de colonização, ao competir com os carboidratos da superfície dos enterócitos pelas fímbrias bacterianas (SILVA, 2000a; SPRING, 2000).

Flemming et al. (2004) relatam que mananoligossacarídeos podem ser usados como substrato pelas bactérias benéficas. Atuando sobre certas substâncias parcialmente ou não digeridas pelas enzimas das aves, como os oligossacarídeos, bactérias benéficas produziram ácidos orgânicos (ANDREATTI FILHO; SILVA, 2005).

A literatura aponta outros estudos fazendo uso de FOS e MOS em que não foram encontradas diferenças significativas quanto ao total de bactérias benéficas em relação aos tratamentos controle e com adição de prebiótico. Sugere-se que esta variação esteja relacionada às diferenças nas composições das populações microbianas nas diferentes espécies animais, bem como às diferenças de estrutura química e propriedades físico-químicas dos compostos utilizados como prebióticos (SUNVOLD et al., 1995).

4 EFEITO IMUNOMODULADOR DOS ADITIVOS ALTERNATIVOS

A saúde do lote é uma preocupação constante da indústria avícola. Assim, considerando que o sucesso na produção animal depende da sanidade, deve-se buscar os melhores resultados da função imune das aves (LAAN, 1999).

O estresse imunológico, definido como exposição a um antígeno sofrido pela ave, resulta em aumento da taxa metabólica, diminuição do apetite e redirecionamento dos nutrientes para atender às necessidades energéticas da resposta imune em vez do crescimento do músculo esquelético (QURESHI, 2002).

Influências genéticas também influenciam a imunocompetência das aves. Alguns estudos sugerem que a seleção genética para intensificar características de desempenho influenciou negativamente o braço adaptativo do sistema imune, representado pela produção de anticorpos (FERKET, 1999).

Silva (2000a) relata que o trato intestinal das aves é o órgão de maior responsabilidade no desenvolvimento da imunidade geral inespecífica. Seus órgãos linfóides estão espalhados ao longo do trato intestinal e incluem: placas de Peyer, tonsilas cecais, Bursa de Fabricius. Estes tecidos captam antígenos do trato digestivo, que estimulam a ativação de macrófagos, células B precursoras de IgA e células T colaboradoras das placas de Peyer.

Em função destes fatores, tem surgido um grande interesse na melhoria imunológica através da nutrição. O uso dos chamados imunomoduladores dietéticos promove a ativação do sistema imune (QURESHI, 2002).

A ação positiva dos nutrientes imunoestimulantes sobre a produtividade animal ocorre com a diminuição do estresse imunológico, já que o sistema imune estaria previamente preparado para reagir quando exposto ao desafio. Logo, a mobilização de nutrientes para atividades não relacionadas à produção seria reduzida (FERKET, 2003).

Entretanto, Qureshi (2002) afirma a importância de alcançar um equilíbrio entre respostas de proteção e imunopatológicas ao criar estratégias imunomoduladoras. Deve-se tomar este cuidado pois uma imunomodulação dietética inadequada pode levar à "super" estimulação do sistema imune. O resultado é um estado de disfunção, gerando respostas inflamatórias e deprimindo o desempenho zootécnico do animal.

A literatura faz referência a vários tipos de probióticos e prebióticos que possuem efeitos imunomoduladores (OUWEHAND, et al., 1999; COPPOLA; TURNES, 2004; GUO et al., 2004).

Os gêneros de bactérias que estão diretamente relacionadas com o aumento da imunidade das aves são os *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*, principalmente quando relacionadas com doenças que afetam o trato intestinal (ERICKSON; HUBBARD, 2000; MENTEN; LODDI, 2003).

Estas bactérias benéficas, presentes no probiótico ou cujo desenvolvimento foi estimulado pelo prebiótico, liberam constantemente na luz intestinal substâncias imunoestimulantes presentes na sua parede celular (lipopolissacarídeos e peptidoglicanas). Estas substâncias interagem com o sistema imune através da proliferação e ativação de macrófagos, células mononucleares, neutrófilos, células endoteliais e células da musculatura lisa. Em resposta, tais células liberam mediadores químicos como: citocinas, metaloproteínas, prostaglandinas, metabólitos reativos de oxigênio e nitrogênio, além da indução de síntese de grandes quantidades de imunoglobulinas, principalmente IgA (SAVAGE; COTTER; ZAKREWSKA, 1996; ERICKSON; HUBBARD, 2000; LODDI, 2003;).

Sugere-se que os oligossacarídeos prebióticos possam atrair células imunes e outros componentes imunológicos ao trato intestinal, o que aumentaria a barreira contra antígenos na mucosa (resposta inespecífica do sistema imune) (COTTER, 1994).

De acordo com Collet (2000), determinados prebióticos específicos podem se ligar a sítios receptores de macrófagos na superfície de enterócitos ao reconhecerem açúcares específicos neste epitélio. Esta ligação desencadeia uma reação em cascata com a ativação de macrófagos e liberação de citocinas, caracterizando uma resposta imune adquirida. Os macrófagos ativados são mais eficientes para fagocitar e eliminar patógenos.

Especula-se também que os prebióticos seriam capazes de reduzir a translocação intestinal de patógenos, movimentação esta que determina infecções após atingir a corrente sanguínea (SILVA, 2000b).

Os mecanismos específicos de ação dos prebióticos e probióticos sobre o sistema imune ainda não estão bem esclarecidos (ERICKSON; HUBBARD, 2000; FERREIRA et al., 2002; MENTEN; LODDI, 2003). Muito pouco se sabe sobre os mecanismos de defesa intestinais dos probióticos nas aves (DALLOUL, 2003; FERKET, 2003).

Contudo, acredita-se que as alterações imunológicas induzidas pelos probióticos não estão limitadas à imunidade local da mucosa intestinal, há também relatos de efeitos sobre a resposta imune sistêmica (PERDIGON et al., 1991; ERICKSON; HUBBARD, 2000).

5 OUTROS EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO COM ADITIVOS ALTERNATIVOS

Alguns trabalhos relatam o efeito trófico da suplementação com prebióticos e probióticos sobre a mucosa intestinal (SAVAGE et al., 1997; LODDI, 1998; MACARI; MAIORKA, 2000; SANTIN et al., 2001; LODDI, 2003).

Tal efeito ocorre com o estímulo do desenvolvimento da mucosa intestinal, ou seja, estímulo do processo mitótico na região cripta-vilo. Conseqüentemente, aumenta o número de células e o tamanho do vilo (FURLAN; MACARI; LUQUETTI, 2004).

O processo normal de renovação celular na mucosa intestinal é decorrente de dois eventos citológicos primários associados: renovação celular (proliferação e diferenciação), resultante das divisões mitóticas sofridas por células totipotentes localizadas na cripta e ao longo dos vilos e perda de células por descamação, que ocorre naturalmente no ápice dos vilos (UNI et al., 1996).

A manutenção do número de células e da capacidade funcional do epitélio intestinal é assegurada pelo equilíbrio entre estes dois processos (perda e proliferação celular). No entanto, quando o intestino responde a algum agente estimulador, a favor de um deles, deve ocorrer uma modificação na altura dos vilos (UNI et al., 1996).

Logo, se ocorrer aumento na taxa de mitose com ausência, diminuição ou manutenção da taxa de perda celular haverá um aumento no número de células. Conseqüentemente, observa-se maior altura dos vilos e aumento na densidade de vilos e microvilos, resultando numa maior taxa de digestão e absorção (FURLAN; MACARI; LUQUETTI, 2004).

Se o vilo reduz o seu tamanho em decorrência do aumento da taxa de perda celular, ocorrerá um aumento na produção de células da cripta. Assim, observa-se o aumento da profundidade da cripta (FURLAN; MACARI; LUQUETTI, 2004).

Spring et al. (2000) sugeriram que os mananoligossacarídeos da parede celular de leveduras ao bloquearem os sítios de ligação de bactérias patogênicas, na mucosa intestinal, reduziriam os danos à mucosa. Conseqüentemente, o *turnover* das células epiteliais seria reduzido, resultando na melhor utilização dos ingredientes da dieta.

Savage et al. (1997) ao suplementarem perus com mananoligossacarídeos, não só observaram o aumento da altura do vilo bem como o aumento do número de células caliciformes.

As células caliciformes secretam o muco intestinal. O muco protege o epitélio durante a passagem de alimento, tem poder lubrificante sobre alimentos sólidos e age como barreira protetora que impede o contato de microrganismos com as células epiteliais.

A ação de bactérias e protozoários patogênicos, causadores de lesões na mucosa, é favorecida quando a camada de muco é reduzida. Essa redução ocorre durante o jejum, alterações de dieta ou uso de antibióticos (FURLAN; MACARI; LUQUETTI, 2004).

Outro efeito interessante descrito com o uso de prebióticos é o aumento na retenção de alguns minerais e da mineralização óssea (BRADLEY; SAVAGE, 1994; ONIFADE et al., 1999).

Ainda, segundo Albino et al. (2006), as glicomananas, em condições de pH do aparelho digestivo, são capazes de se ligar seletivamente e inativar as micotoxinas no lúmen intestinal.

Suportando-se nestes inúmeros efeitos benéficos propiciados com o uso destes aditivos alternativos, muitos pesquisadores têm descrito o aumento da produtividade animal (IJI E TIVEY, 1998; JIN et al., 1998; SIMS et al., 1998; MAIORKA et al., 2001; CAMPOS et al., 2003). Entretanto, outros não observaram este mesmo resultado (ARAÚJO et al., 2000; LODDI et al., 2000; PELICANO et al., 2004; BITENCOURT, 2006).

Em função de uma série de fatores que afetam a ação desses produtos, os resultados dos experimentos até então obtidos são contraditórios.

Portanto, trata-se de uma tecnologia a ser desenvolvida, com um maior esclarecimento sobre seus reais efeitos. (FURLAN; MACARI; LUQUETTI, 2004). De forma que, a utilização de prebióticos, probióticos e simbióticos não é meramente uma substituição aos antimicrobianos utilizados na avicultura industrial, mas sim uma alternativa eficaz e econômica para que os antibióticos sejam utilizados quando realmente necessários.

REFERÊNCIAS

- ALBINO, L. F. T.; FERES, F. A.; DIONIZIO, M. A.; ROSTAGNO, H. S.; VARGAS JÚNIOR, J. G.; CARVALHO, D. C. O.; GOMES, P. C.; COSTA, C. H. R. Uso de prebióticos à base de mananoligossacarídeo em rações para frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n. 3, 2006.
- ALBUQUERQUE, R. Antimicrobianos como aditivos zootécnicos promotores do crescimento. In: PALERMO NETO, J.; SPINOSA, H. S.; GÓRNIK, S. L. **Farmacologia aplicada à avicultura**. São Paulo: Roca, 2005. cap. 9. p. 149-159.
- ANDREATTI FILHO, R. L.; SILVA, E. N. Probióticos e correlatos na produção avícola. In: PALERMO NETO, J.; SPINOSA, H. S.; GÓRNIK, S. L. **Farmacologia aplicada à avicultura**. São Paulo: Roca, 2005. cap. 15, p. 225-248.
- ARAÚJO, L. F.; JUNQUEIRA, O. M.; ARAÚJO, C. S. S.; LAURENTIZ, A. C.; SAKOMURA, N. K.; CASARTELLI, E. M. Antibiótico e probiótico para frangos de corte no período de 24 a 41 dias de idade. In: REUNIÃO ANUAL DA SBZ, 37., 2000; Viçosa, Minas Gerais. **Anais...** Viçosa, 2000. 1 CD-ROM.
- BAILEY, J. S.; BLANKENSHIP, L. C.; COX, N. A. Effect of fructooligosaccharide on *Salmonella* colonization of the chicken intestine. **Poultry Science**, v. 70, p. 2433-2438, 1991.
- BITTENCOURT, L. C. **Efeitos da utilização de probiótico sobre parâmetros da resposta imune, hematológicos e de desempenho de frangos de corte**. 2006. 98 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.
- BRADLEY, G. T.; SAVAGE, T. F. Enhanced utilization of dietary calcium, phosphorus, nitrogen and metabolizable energy in poults feed diet containing a yeast culture. **Poultry Science**, v. 73, p. 124, 1994.
- BUTOLO, J. E. Uso de aditivos na alimentação de aves: frangos de corte. In: SIMPÓSIO SOBRE AS IMPLICAÇÕES SÓCIO-ECONÔMICAS DO USO DE ADITIVOS NA NUTRIÇÃO ANIMAL, 1999, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: CBNA, 1999. p. 85-94.
- CAMPOS, D. M. B.; FARIA FILHO, D. E.; PINHEIRO, J. C. A.; ABE, P. T.; GADELHA, A. C.; FURLAN, R. L.; MACARI, M. Níveis de inclusão de probiótico (*Bacillus subtilis*) sobre o desempenho de frangos de corte. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2002, Campinas, São Paulo. **Anais...** Campinas: FACTA, 2002. p. 36.

COLLET, S. Nutrição, imunidade e produtividade. In: RONDA LATINO AMERICANA DA ALLTECH: O futuro da alimentação, 10., 2000, Campinas, São Paulo. **Anais...** Campinas: Alltech, 2000. p. 20-30.

COPPOLA, M. M.; TURNES, C. G. Probióticos e resposta imune. **Ciência Rural**, v. 34, n. 4, p. 1297-1303, 2004.

COTTER, P. F. Modulation of immune response: current perceptions and future prospects with an example from poultry. In: ALLTECH'S ANNUAL SYMPOSIUM ON BIOTECHNOLOGY IN FEED INDUSTRY, 10., 1994, Nottingham. **Proceedings...** Loughborough, UK: Nottingham University Press, 1994. p. 105-203.

DALLOUL, R. A.; LILLEHO, J. H. S.; SHELLEM, T. A.; DOERR, J. A. Intestinal immunomodulatory by vitamin A deficiency and *Lactobacillus*-based probiotic in *Eimeria acervulina* – infected broiler chickens. **Avian Diseases**, v. 47, p. 1313-1320, 2003.

DAWSON, K. A.; PIRVULESCU, M. Mananoligossacarídeos derivados de leveduras como moduladores da resposta imunológica e alternativas aos promotores de crescimento antimicrobianos. In: RONDA LATINO AMERICANA DA ALLTECH, 9., 1999, Curitiba, Paraná. **Anais...** Curitiba: Alltech, 1999. p. 33-41.

ENGBERG, R. M.; HEDEMAN, M. S.; LESER, T. D.; JENSEN, B. B. Effect of zinc bacitracin and salinomycin on intestinal microflora and performance of broilers. **Poultry Science**, v. 79, p. 1311-1319, 2000.

ERICKSON, K. L.; HUBBARD, N. E. Probiotic immunomodulation in health and diseases. **Journal of Nutrition**, v. 130, p. 403-409, 2000.

FERKET, P. R. Fatores que afetam a resposta imunológica: nutrição. In: CONGRESSO DE PRODUÇÃO E CONSUMO DE OVOS, 1., 1999, São Paulo. **Anais...** São Paulo: Associação Paulista de Avicultura, 1999. p. 53-69.

FERKET, P. R. Manutenção da saúde intestinal em um mundo sem antibióticos. In: RONDA LATINO AMERICANA DA ALLTECH, 13., 2003, Campinas, São Paulo. **Anais...** Campinas: Alltech, 2003. p. 26-39.

FERNANDEZ, F.; HINTON, M.; GILS, V. B. Dietary mannan-oligosaccharides and their effect on chicken caecal microflora in relation to *Salmonella* Enteritidis colonization. **Avian Pathology**, v. 31, p. 49-58, 2000.

FERNANDEZ, P. C. C.; MALAGUIDO, A.; SILVA, A. V. Manejo nutricional visando substituir a utilização de antimicrobianos em alimentos para aves. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO E NUTRIÇÃO DE AVES E SUÍNOS, 2003, Campinas, São Paulo. **Anais...** Campinas: CBNA, 2003. p. 135-136.

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

FLEMMING J. S.; FREITAS J. R. S.; FONTOURA P.; MONTANHINI NETO R.; ARRUDA J. S. Use of mannanoligosaccharides in broiler feeding. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 6, n. 3, p. 159-161, 2004.

FORBES, M.; PARK, J. T. Growth of germ-free and conventional chicks: Effect of diet, dietary penicillin, and bacterial environment. **Journal of Nutrition**, v. 67, p. 69-84, 1959.

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

FULLER, R.; NEWLAND, L. G. M.; BRIGGS, R. B.; MITCHELL, K. G. The normal intestinal flora of the pig. IV. The effect of dietary supplements of penicillin, chlortetracycline or copper sulfate on the cecal flora. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 23, p. 195-205, 1960.

FURLAN R. L.; MACARI M.; LUQUETTI B. C. Como avaliar os efeitos do uso de prebióticos, probióticos e flora de exclusão competitiva. In: SIMPÓSIO TÉCNICO DE INCUBAÇÃO, MATRIZES DE CORTE E NUTRIÇÃO, 5., 2004, Balneário Camboriú, Santa Catarina. **Anais...** Balneário Camboriú, 2004. p. 6-28.

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

GUO, F. C.; WILLIAMS, B. A.; KWAKKEL, R. P.; LI, H. S.; LI, X. P.; LUO, J. Y.; LI, W. K.; VERSTEGEN, M. W. A. Effects of Mushroom and Herb Polysaccharides, as Alternatives for an Antibiotic, on the Cecal Microbial Ecosystem in Broiler Chickens. **Poultry Science**, v. 83, p. 175-182, 2004.

HAVENAAR, R.; BRINK, B. T.; HUIS VELD, J. H. H.; FULLER, R. Selection of strains for probiotics use. In: FULLER, R. **Probiotics: the scientific basis**. London: Chapman and Hall, 1992. p. 209-224.

HEINRICHS, A. J.; JONES, C. M.; HEINRICHS, B. S. Effects of Mannan Oligosaccharide or Antibiotics in Neonatal Diets on Health and Growth of Dairy Calves. **Journal of Dairy Science**, v. 86, p. 4064-4069, 2003.

HUGHES, R. J.; CHOCT, M.; KOCHER, A.; VAN BARNEVELD, R. J. Effect of food enzymes on AME and composition of digesta from broiler chickens fed on diets containing nonstarch polysaccharides isolated from lupin kernel. Br. **Poultry Science**, v. 41, p. 318-323, 2000.

IJI, P. A.; TIVEY, D. R. Natural and synthetic oligosaccharides in broiler chicken diets. **World's Poultry Science Journal**, v. 54, p. 129-143, 1998.

JIN, L. Z. Probiotic in poultry: modes of action. **World's Poultry Science Journal**, v. 53, p. 351-368, 1997.

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

LAAN, C. W. Fatores que afetam a resposta imunitária. In: CONGRESSO DE PRODUÇÃO E CONSUMO DE OVOS, 1., 1999, São Paulo. **Anais...** São Paulo: Associação Paulista de Avicultura, 1999. p. 43-52.

LANGHOUT, P. Alternativas ao uso de quimioterápicos na dieta de aves: a visão da indústria e recentes avanços. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2005, Santos, São Paulo. **Anais...** Campinas: FACTA, 2005. v. 2, p. 21-39.

LEEDLE, J. Probiotics and DFMs - mode of action in the gastrointestinal tract. In: SIMPÓSIO SOBRE ADITIVOS ALTERNATIVOS NA NUTRIÇÃO ANIMAL, 2000, Campinas, São Paulo. **Anais...** Campinas: CBNA, 2000. p. 25-40.

LODDI, M. M.; GONZALES, E.; TAKITA, T. S. Uso de probiótico e antibiótico sobre o desempenho, o rendimento e a qualidade de carcaça de frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, n. 4, p. 1124-1131, 2000.

LODDI, M. M. **Probióticos, prebióticos e acidificantes orgânicos em dietas para frangos de corte**, 2003. 52 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Jaboticabal, 2003.

MACARI, M.; FURLAN, R. L. Probióticos. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2005, Santos, São Paulo. **Anais...** Campinas: FACTA, 2005. v. 2, p. 53-71.

MACARI, M.; MAIORKA, A. Função gastrointestinal e seu impacto no rendimento avícola. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2000, Campinas, São Paulo. **Anais...** Campinas: FACTA, 2000. v. 2, p. 455-457.

MAIORKA, A.; SANTIN, E.; SUGETA, S. M.; ALMEIDA, J. G.; MACARI, M. Utilization of Prebiotics, Probiotics or Symbiotics in Broiler Chicken Diets. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 3, n. 1, 2001.

MATHEW, A. G.; SUTTON, A. L.; SCHEIDT, A. B. Effect of galctan on selected microbial populations and pH and volatile fatty acids in the ileum of the weaning pig. **Journal of Animal Science**, v. 71, p. 1503-1509, 1993.

MENTEN, J. F. M. Probióticos e aditivos fitogênicos na nutrição de aves. In: SIMPÓSIO SOBRE INGREDIENTES NA ALIMENTAÇÃO ANIMAL, 2002, Uberlândia, Minas Gerais. **Anais...** Uberlândia: Colégio Brasileiro de Nutrição Animal, 2002. p. 252.

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, São Paulo. **Anais...** Campinas: Colégio Brasileiro de Nutrição Animal, 2003. p. 107-138.

MONTES, A. J.; PUGH, D. G. The use of probiotics in food-animal practice. **Veterinary Medicine**, v. 88, n. 3, p. 282-288, 1993.

NAWAS, M. S.; ERICKSON, B. D. Human health impact and regulatory issues involving antimicrobial resistance in the food animal production environment. **Regulatory Research Perspectives**, v. 1, n. 1, p. 1-10, 2001.

ONIFADE, A. A.; OBIYAN R. I.; ONIPEDE, E.; ADEJUMO, D. O.; ABU, O. A.; BABATUNDE, G. D. Assessment of the effect of supplementing rabbit diet with a culture of *Saccharomyces cerevisiae* using growth performance, blood composition and clinical enzyme activities. **Animal Feed Science and Technology**, v. 77, p. 25-32, 1999.

OUWEHAND, A. C.; KIRJAVAINEN, P. V.; SHORTT, C.; SALMINEN, S. Probiotics: mechanisms and established effects. **International Dairy Journal**, v. 9, p. 43-52, 1999.

PELICANO, E. R. L.; SOUZA, P. A.; SOUZA, H. B. A.; LEONEL, F. R.; ZEOLA, N. M. B. L.; BOIAGO, M. M. Productive traits of broiler chickens fed diets containing different growth promoters. **Brasilian Journal of Poultry Science**, v. 6, n. 3, p. 177-182, 2004.

PERDIGON, G.; ALVAREZ, S.; HOLDAGO, A. P. R. Immunoadjuvant activity of oral *Lactobacillus casei*: influence of dose on secretory immune response and protective capacity in intestinal infections. **Journal of Dairy Science**, v. 58, p. 458-496, 1991.

QURESHI, M. A. Interação entre nutrição e o sistema imune e produtividade das aves. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2002, Campinas, São Paulo. **Anais...** Campinas: FACTA, 2002. v. 2, p. 243-251.

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

ROSEN, G. D. Feed additive nomenclature. **World's Poultry Science Journal**, v. 52, n.1, p. 53-57, 1996.

SALMON, R. E.; STEVENS, V. I. Response of large white turkeys to virginiamycin from day-old to slaughter. **Poultry Science**, v. 69, p. 1383-1387, 1990.

SANTIN, E.; MAIORKA, A.; MACARI, M.; GRECCO, M.; SANCHEZ, J. C.; OKADA T. M.; MYASAKA, A. M. Performance and intestinal mucosa development of broiler chickens fed diets containing *Saccharomyces cerevisiae* cell wall. **Journal Applied Poultry Research**, v. 10, p. 236-244, 2001.

SAVAGE, T. F.; COTTER, P. F.; ZAKREWSKA, E. I. Effect of feeding a mannanoligosaccharide on immunoglobulin, plasma IgG and bile IgA of Wrolstad MW male turkey. **Poultry Science**, v. 75, p. 143, 1996. Supplement 1.

SAVAGE, T. F.; ZAKRZEWSKA, E. I. The performance of male turkeys fed a starter diet containing a mannan oligosaccharide. **Zootechnica Int**, v. 20, p. 30-32, 1997.

SILVA, E. N. Probióticos e prebióticos na alimentação de aves. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2000, Campinas, São Paulo. **Anais...** Campinas: FACTA, 2000a. v. 2, p. 241-251.

SILVA, E. N. Antibióticos intestinais naturais: bacteriocinas. In: SIMPÓSIO SOBRE ADITIVOS ALTERNATIVOS NA NUTRIÇÃO ANIMAL, 2000, Campinas, São Paulo. **Anais...** Campinas: CBNA, 2000b. p. 15-24.

SILVA, L. P.; NORBERG, J. L. Prebióticos na nutrição de não-ruminantes. **Ciência Rural**, v. 33, n. 5, p. 983-990, 2003.

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

SIMS, M. D.; SPRING, P.; SEFTON, A. E. Effect of mannanoligosaccharides on performance of commercial broiler chickens. **Poultry Science**, v. 77 (Supplement 1), p. 89, 1998.

SPRING, P. Yeast's secret weapon aids animal production. In: SIMPÓSIO SOBRE ADITIVOS ALTERNATIVOS NA NUTRIÇÃO ANIMAL, 2000, Campinas, São Paulo. **Anais...** Campinas: CBNA, 2000. p. 41-50.

SPRING, P.; WENK, C.; DAWSON, A.; NEWMAN, K. E. The effects of dietary mannanoligosaccharides on cecal parameters and the concentrations of enteric bacteria in ceca of salmonella-challenged broiler chicks. **Poultry Science**, v. 79, p. 205-211, 2000.

STEWART, C. S.; CHESSON, A. Making sense of probiotics. *Pig Veterinary Journal*, v. 31, p. 11-33, 1989.

SUNVOLD, G. D.; HUSSEIN, H. S.; FAHEY JR, G. C.; MERCHEN, N. R.; REINHART, G. A. In vitro fermentation of cellulose, beet pulp, and citrus pectin using fecal inoculum from cats, dogs, horses, humans, and pigs and ruminal fluid from cattle. **Journal of Animal Science**, v. 73, p. 3639-3648, 1995.

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

VALADAS, E. **Consequência do Uso e Abuso de Antibióticos e de Desinfetantes na Cadeia Alimentar e no Meio Ambiente.** *Curso Pós-Graduado em TRV – C Terapia por Reestruturação Vivencial e Cognitiva* Professora Auxiliar da Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa. p. 289- 290, 2003.

VANBELLE, M.; TELLER, E.; FOCANT, M. Probiotics in animal nutrition: a review. **Archive of Animal Nutrition (Berlim)**, v. 40, n. 7, p. 543-567, 1990.

WAIBEL, P. E.; HALVORSON, J. C.; NOLL, S. L.; HOFFBECK, S. L. Influence of virginiamycin on growth and efficiency of large white turkeys. **Poultry Science**, v. 70, p. 837-847, 1991.

CAPITULO III - INFLUÊNCIA DE ADITIVOS ALTERNATIVOS A ANTIMICROBIANOS SOBRE O DESEMPENHO DE FRANGOS DE CORTE

RESUMO

Este estudo avaliou o efeito de um prebiótico (MOS) e de um probiótico (*pool* bacteriano) sobre o desempenho de frangos de corte, atuando como aditivos alternativos a antimicrobianos. Foram utilizados 960 pintos de corte, criados até 42 dias de idade sobre cama reutilizada. O delineamento era inteiramente casualizado, com 4 tratamentos: DB com Antibiótico; DB com Prebiótico; DB com Probiótico; Controle (DB), sendo 8 repetições/tratamento com 30 aves cada. Os parâmetros avaliados foram ganho de peso (GP), consumo de ração (CR), conversão alimentar (CA) e mortalidade (M). Para os intervalos de 01-07 dias; 01-21 dias e 01-28 dias os aditivos alternativos mostraram GP similar ao antibiótico, entretanto não diferiram do controle. Por sua vez, no intervalo de 01-14 dias os aditivos alternativos não só mostraram GP similar ao antibiótico como o probiótico diferiu do controle. Para o intervalo de 01-35 dias o probiótico permaneceu com GP similar ao antibiótico, contudo o prebiótico não alcançou mais o desempenho deste último. Por fim, no período total de criação ambos aditivos alternativos testados não atingiram mais o mesmo GP do antibiótico. Quanto ao CR e M, em todos intervalos estudados não foi possível demonstrar efeito positivo dos aditivos alternativos. Assim como não foram demonstrados seus efeitos sobre a CA até o intervalo de 01-28 dias. Mas, considerando o intervalo de 01-35 dias e o período total de criação os aditivos alternativos alcançaram CA similar àquela obtida com antibiótico, apesar de não terem diferido do controle. Diante de tais resultados, sugere-se a continuidade do estudo destes aditivos, buscando-se evidenciar ou descartar seus possíveis efeitos benéficos sobre o desempenho. Pois, nas presentes condições experimentais, até mesmo o antibiótico não mostrou efeito positivo sobre o CR e M.

Palavras-chave: Aditivos Alternativos. Desempenho. Frangos de Corte.

INFLUENCE OF ALTERNATIVE ADDITIVES INSTEAD OF ANTIMICROBIALS ON THE PERFORMANCE OF BROILERS

ABSTRACT

This study evaluated the effect of a prebiotic (MOS) and of a probiotic (bacterial *pool*), acting as alternative additives instead of antibiotics, on the performance of broilers. In this experiment, 960 chicks were bred up to 42 days-old on litter previously used. The birds were randomly assigned to four different treatments: Basal diet (BS) with antibiotic; BS with prebiotic; BS with probiotic; and the control treatment (only BS), with eight repetitions for each treatment and 30 birds for each repetition. The parameters evaluated were: Weight Gain (WG), Feed Intake (FI), Feed Conversion (FC), and Mortality (M). For the periods 01-07 days, 01-21 days and 01-28 days the alternative additives groups presented WG equivalent to that of the antibiotic group, however they presented no significant difference from the control. For the period of 01-14 days the additives groups had WG similar to the antibiotic group and, furthermore, the probiotic group presented significant difference from the control one. For the period 01-35 days, the prebiotic group remained with WG similar to the antibiotic one; however the prebiotic group did not reach the performance of the latest one. Finally, in the whole breeding period, both alternative additive groups did not reach the antibiotic group's WG. Relatively to FI and M, for all the periods studied, it was not possible to show any positive effects of the alternative additives, such as for the effect on the FC up to 28 days. But, taking into account the period 01-35 days and the whole period (01-42 days) the alternative additives groups presented FC similar to that obtained by the antibiotic one, though they had no significant difference from the control. Facing those results, it is suggested the continuity of the study of such additives, seeking to proof or to discard their beneficial effects on the performance, since under the present experimental conditions even the antibiotic did not show positive effect on FI and M.

Key-words: Alternative Additives. Broilers. Performance.

1 INTRODUÇÃO

Os efeitos negativos dos atuais modelos de produção animal intensiva têm sido contornados desde a década de 50 pelos chamados promotores de crescimento (NETO, 2004; DIBNER; RICHARDS, 2005; SANTOS, 2005). Os promotores de uso mais generalizado na nutrição animal são antimicrobianos.

Entretanto, esta prática vem sendo questionada em função de preocupações relacionadas à saúde pública. Tais inquietudes referem-se, principalmente, à suposta indução de resistência cruzada de bactérias patogênicas para humanos (PATTERSON; BURKHOLDER, 2003).

Relatos de bactérias resistentes a antibióticos de uso humano, como *Salmonella*, *Campylobacter*, e *E. coli* são documentados em várias regiões do mundo (FEY et al., 2000; LANGHOUT, 2005).

Assim, buscam-se cada vez mais estratégias alternativas, como é o caso de prebióticos e probióticos (FULLER, 1989; IJI; SAKI; TIVEY, 2001; JENNY et al., 1991; JIN, 1997; DONOVAN et al., 2002; FERREIRA et al., 2002; PATTERSON; BURKHOLDER, 2003).

Estudos têm demonstrado que tais aditivos promovem a modulação benéfica da microbiota intestinal, efeito trófico sobre a mucosa intestinal, além de efeitos imunomodulatórios. O resultado seria uma melhor digestão e absorção de nutrientes e, conseqüentemente, melhor desempenho animal sem causar riscos ao consumidor e sem aumentar significativamente os custos de produção (FUINI, 2001; SANTOS et al., 2002b).

Prebióticos são definidos como ingredientes nutricionais não digeríveis na porção proximal do trato gastrointestinal e que beneficiam o animal por estimular seletivamente o crescimento de um limitado grupo de bactérias no intestino (GIBSON; ROBERFROID, 1995).

Os prebióticos mais estudados são os oligossacarídeos, principalmente os frutoligossacarídeos (FOS), glucoligossacarídeos (GOS) e mananoligossacarídeos (MOS) (MENTEN, 2002).

O mananoligossacarídeo (MOS), prebiótico em estudo neste trabalho, consiste de fragmentos de parede celular de *Saccharomyces cerevisiae* (SPRING, 2000), e é capaz de ligar-se às fímbrias de bactérias patogênicas, de forma que estes patógenos passem com a digesta, sendo eliminados do trato intestinal (COLLETT, 2000; SPRING et al., 2000).

O resultado é a colonização do trato por microrganismos benéficos, que previnem o estabelecimento de *Salmonella*, *Clostridium*, *E. coli*, entre outros patógenos (OYOFO et al., 1999).

Por sua vez, os probióticos são definidos por Fuller (1989) como suplemento alimentar constituído de microrganismos vivos, que no organismo animal atuam de forma benéfica melhorando o equilíbrio da microbiota intestinal.

Este equilíbrio e o conseqüente efeito benéfico sobre o desempenho animal são alcançados através da competição por sítios de ligação e nutrientes, produção de substâncias antibacterianas, aumento da atividade enzimática nos microvilos intestinais, supressão da produção de amônia, neutralização de enterotoxinas, além do efeito trófico sobre a mucosa intestinal e o estímulo ao sistema imune (FULLER, 1989; EWING; COLE, 1994; JIN, 1997; ROLFE, 2000; PELICANO, 2002).

As principais cepas bacterianas utilizadas no preparo de probióticos incluem: *Lactobacillus spp*, *Bifidobacterium sp*, *Enterococcus faecium*, *Bacillus spp* e *Eubacterium spp*, *Bacteroides* (SIMON et al., 2001; FERREIRA et al., 2002).

O presente trabalho teve como objetivo verificar a influência de um prebiótico e de um probiótico suplementados à dieta sobre o desempenho zootécnico de frangos de corte.

A importância desse estudo deve-se aos resultados divergentes observados na literatura, o que ainda não permitiu consolidar a eficiência do uso destes aditivos sobre o desempenho animal (JIN et al., 1997).

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 LOCAL E PERÍODO EXPERIMENTAL

O experimento foi conduzido em março e abril 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. Empregou-se um galpão de alvenaria dividido em 36 boxes de 4,25 m² cada, com a criação das aves em piso.

2.2 ANIMAIS

Foram utilizados 960 pintos de um dia, machos da linhagem comercial AgRoss 308, criados até 42 dias de idade.

2.3 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).

2.4 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E TRATAMENTOS

As aves foram alojadas de acordo com um delineamento inteiramente casualizado e, distribuídas em 4 diferentes tratamentos: Antibiótico; Prebiótico; Probiótico; Controle. Havia 8 repetições (boxes) por tratamento de 30 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 10 ppm 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 suplementado com prebiótico tinha como princípio ativo um mananoligossacarídeo derivado da parede celular da levedura *Saccharomyces cerevisiae*, comercializado sob o nome Bio-Mos[®] pela empresa Alltech, Curitiba -PR. O produto em pó foi adicionado à dieta na dose 1 kg/ton de ração para a fase inicial (01-21 dias) e 0,5 kg/ton de ração para as fases de crescimento (22-35 dias) e final (36-42 dias).

O grupo probiótico foi suplementado com um *pool* bacteriano, comercializado sob o nome DBA Probiótico Pó Oral para Aves[®] pela Empresa IMEVE, Jaboticabal-SP. O produto em pó foi adicionado à dieta na dose 2 kg/ton de ração nas diferentes fases de criação. A tabela 1 apresenta a composição deste produto e o número de Unidade Formadora de Colônia (UFC) por grama de ração ingerida.

Tabela 1 - Composição do DBA Probiótico Pó Oral para Aves[®] e Número de UFC por grama de ração ingerida

Microrganismos	UFC viáveis/g do produto ⁽¹⁾	UFC/g de ração
<i>Lactobacillus acidophillus</i>	3,5 x 10 ⁸	7,0 x 10 ⁵
<i>Streptococcus faecium</i>	3,5 x 10 ⁸	7,0 x 10 ⁵
<i>Bifidobacterium bifidum</i>	3,5 x 10 ⁸	7,0 x 10 ⁵

⁽¹⁾ Número mínimo de UFC com potencial de metabolismo encontrado em um grama do produto.

Todos os aditivos foram utilizados conforme as recomendações do fabricante e, adicionados em substituição ao equivalente em peso de material inerte (caolim), ajustando-se as 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.

A tabela 2 apresenta a composição percentual e análise calculada das rações experimentais nas diferentes fases de criação.

Tabela 2 - 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 Bicálcico	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	0,01
Prebiótico	0,10	0,05	0,05
Probiótico	0,20	0,20	0,20
<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 3 - 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, 1,8 mg; 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.
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, 8,64 mg; manganês, 55,95 mg; iodo, 0,56 mg; selênio, 0,34 mg; antioxidante, 4,20 mg.
Suplemento vit.-min.	Vit. A, 7050 UI; vit. D ₃ , 1702,50UI; 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.

2.5 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 do aviário experimental.

As aves foram pesadas no primeiro dia do experimento e alojadas nos boxes experimentais 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. Foram vacinados na primeira semana de vida contra coccidiose via água de bebida, com vacina viva atenuada e, de acordo com as recomendações do fabricante.

A cama de frango empregada era reutilizada. O objetivo foi estabelecer um desafio sanitário que aproximasse as condições experimentais às de campo.

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

Para prevenir que os microrganismos do tratamento suplementado com probiótico, colonizadores do trato gastrointestinal das aves e conseqüentemente do meio ambiente, contaminassem os tratamentos ausentes destas bactérias, foram adotadas algumas medidas de biossegurança durante o manejo diário dos tratamentos. Entre elas, foi ordenado o manejo de forma que os boxes do tratamento suplementado com probiótico fossem sempre os últimos a serem manejados. Também foi empregado o uso de sacos plásticos protetores nos calçados para o manejo dos boxes do tratamento com probiótico e, para o manejo da ração, utilizou-se conchas exclusivas para cada tratamento.

2.6 PARÂMETROS AVALIADOS

O peso das aves e o consumo de ração foram quantificados através de pesagens semanais, a fim de determinar as variáveis de desempenho nos intervalos: 01-07 dias; 01-14 dias; 01-21 dias; 01-28; 01-35 dias e 01-42 dias. As variáveis mensuradas em cada box foram: ganho de peso médio (GP), consumo médio de ração (CR), conversão alimentar (CA) e mortalidade (M).

Ganho de peso médio (g) – determinado pela diferença entre o peso médio inicial das aves e a 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.

2.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram analisados com o auxílio do programa computacional Statistical Analysis System (SAS, 2001). A normalidade dos resíduos e a homogeneidade das variâncias entre os tratamentos foram previamente verificadas através do Teste de Shapiro-Wilk (PROC UNIVARIATE) e Teste de Hartley (OTT, 1983), respectivamente. 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.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

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

Os valores médios de ganho de peso médio (GP), consumo médio de ração (CR), conversão alimentar (CA) e mortalidade (M) de frangos de corte sob os diferentes tratamentos, nos intervalos: 01-07; 01-14; 01- 21; 01- 28; 01- 35 e 01-42 dias de idade, estão apresentados na tabela 4.

Tabela 4 - Ganho de peso médio (GP), consumo médio de ração (CR), conversão alimentar (CA) e mortalidade (M) de frangos de corte nos intervalos: 01-07; 01-14; 01-21; 01-28; 01-35 e 01-42 dias de idade, sob os diferentes tratamentos

Parâmetros	Tratamentos				P	CV%
	Antibiótico	Prebiótico	Probiótico	Controle		
01-07 dias						
GP (g)	121,25 a	119,57 ab	118,50 ab	115,25 b	0,0208	3,42
CR (g)	135,00	133,57	134,25	131,87	0,3417	2,64
CA (g/g)	1,11	1,12	1,13	1,14	0,4956	3,55
M (%)	0,00	0,00	0,42	0,00	0,4074	565,68
01-14 dias						
GP (g)	404,87 a	393,37 ab	399,25 a	383,12 b	0,0036	3,36
CR (g)	529,87	523,62	524,75	524,37	0,7595	2,38
CA (g/g)	1,31	1,33	1,31	1,37	0,1731	4,49
M (%)	0,83	0,85	0,83	0,42	0,9189	192,02
01-21 dias						
GP (g)	842,50 a	824,63 ab	835,25 ab	808,38 b	0,0265	2,99
CR (g)	1204,13	1212,25	1205,25	1193,88	0,6531	2,35
CA (g/g)	1,43	1,47	1,44	1,48	0,2727	3,91
M (%)	1,43	1,66	0,55	0,42	0,3688	157,05
01-28 dias						
GP (g)	1461,25 a	1431,00 ab	1436,00 ab	1403,63 b	0,005	2,41
CR (g)	2219,88	2225,75	2219,50	2201,25	0,7746	2,16
CA (g/g)	1,52	1,55	1,55	1,57	0,2006	2,93
M (%)	2,50	2,53	2,50	0,00	0,11	135,29
01-35 dias						
GP (g)	2206,00 a	2147,63 b	2161,86 ab	2118,00 b	0,0002	2,13
CR (g)	3548,13	3540,50	3530,57	3515,38	0,8026	1,90
CA (g/g)	1,61 a	1,65 ab	1,63 ab	1,66 b	0,0356	2,41
M (%)	3,33 bc	6,05 a	4,44 ab	0,83 c	< ,0001	73,62
01-42 dias						
GP (g)	2942,00 a	2832,86 b	2840,33 b	2848,50 b	0,0021	2,44
CR (g)	5121,50	5030,43	5033,67	5064,25	0,2722	1,97
CA (g/g)	1,74 a	1,77 ab	1,77 ab	1,78 b	0,0167	1,61
M (%)	4,58	5,89	4,58	1,66	0,1160	86,86

Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Tukey (P<0,05).

P: Probabilidade.

CV(%): Coeficiente de Variação.

Para os intervalos de 01-07; 01-21 e 01-28 dias os aditivos alternativos mostraram GP similar ao antibiótico, entretanto não diferiram do controle.

Por sua vez, no intervalo de 01-14 dias os aditivos alternativos não só mostraram GP similar ao antibiótico como se observa o melhor resultado do probiótico em relação ao controle.

Para o intervalo de 01-35 dias o probiótico permaneceu com GP similar ao antibiótico, mas não diferiu do controle. Já o prebiótico deixou de alcançar o desempenho do antibiótico.

Por fim, no período total de criação ambos aditivos alternativos testados não atingiram mais o mesmo GP do antibiótico, que foi superior a todos os demais tratamentos.

Os resultados obtidos no presente trabalho discordam dos encontrados por Jin (1998) para os períodos de 01-21 dias e 01-42 dias; Toledo et al. (2003) na fase inicial e Pelícia et al. (2004) de 64 a 84 dias de idade. Estes autores observaram maior peso vivo para as aves que receberam prebiótico ou probiótico, comparado com as que receberam ração sem aditivos.

Kabir et al. (2004) também observaram maior GP nas aves tratadas com probiótico em relação ao controle em todas as fases de criação que estudou (2^a, 4^a, 5^a e 6^a semanas de idade).

Maiorka et al. (2001) ao suplementarem frangos com 0,2% de parede celular de *S. cerevisiae* relataram maior GP com o uso do aditivo em relação ao controle. Da mesma forma, Santin et al. (2001) observaram maior GP com o uso de prebióticos em relação ao controle e, atribuíram esse melhor desempenho ao efeito trófico do produto na mucosa intestinal. Tal efeito resultou no aumento da altura dos vilos do intestino, principalmente durante os primeiros 7 dias de vida dos pintos.

Concordando com os resultados aqui obtidos até os 28 dias de idade, Flemming et al. (2004) verificaram que 0,05% MOS e 0,05% de parede celular de *S. cerevisiae* tiveram efeito similar a 0,005% do antibiótico Olaquinox. Waldroup et al. (1993), trabalhando com FOS e bacitracina, observaram maior peso vivo, aos 21 dias de idade, para as aves que receberam FOS ou bacitracina, comparado com as que receberam ração sem prebiótico.

Zulkifli et al. (2000) e Boratto (2004) observaram, na fase inicial de frangos de corte, a similaridade do GP de aves tratadas com probiótico e antibiótico e, a superioridade de ambos tratamentos em relação ao controle.

Entretanto, muitos trabalhos também relatam a ausência de efeito dos aditivos alternativos sobre o GP. É o caso de Ramarao et al. (2004) e Loddi (2003) estudando probióticos. O último autor citou utilizou um *pool* bacteriano composto por *Bacillus subtilis*; *Lactobacillus johnsonii*; *L. reuteri*.

Dionizio et al. (2002) relatam em seu trabalho que diferentes fontes de prebióticos (FOS, manose, lactose, sacarose), no período total de criação, não tiveram efeito sobre o GP.

Quanto ao CR, não foi possível observar efeito de quaisquer dos aditivos testados.

Para Patterson e Burkholder (2003), não se deve considerar de forma negativa o efeito de aditivos alternativos no caso em que estes não diferem do controle se o tratamento com antibiótico tampouco apresenta diferença significativa do controle.

De acordo com os resultados do presente trabalho estão os achados de Maiorka et al. (2001), que não observaram efeito de prebiótico, probiótico, simbiótico e antibiótico sobre o CR de 01-40 dias de idade e, os de Pelicano et al. (2004) ao avaliarem diferentes fontes de prebióticos e probióticos.

Santos et al. (2005) também descrevem situação similar. O emprego em seu estudo de avilamicina, FOS, MOS ou probiótico (*L. acidophilus*, *L. casei*, *S. lacteis*, *S. Faecium*, *B. bifidum* e *Aspergillus oryzae*) não promoveu melhoria significativa ($P>0,05$) no CR e, nem mesmo no GP. Os autores relatam que este resultado possivelmente pode ser atribuído às boas condições de manejo e à qualidade das rações utilizadas.

Outros experimentos demonstraram influência de prebióticos e probióticos sobre o consumo de frangos de corte. É o caso de Vesna et al. (2007), que verificaram o menor CR com o uso do MOS comparado ao grupo controle, durante os 42 dias de criação. Contudo, Iji e Tivey (1998) e Iji et al. (2001) observaram que o uso de oligossacarídeos pode proporcionar aumento no CR.

Corrêa (2003) e Zulkifli et al. (2000), ao testarem diferentes fontes de probióticos, observaram menor CR no grupo suplementado com o aditivo em relação ao controle, no período de 01-21 dias de idade. Já Boratto (2004) observou, neste mesmo período, maior CR no grupo que recebeu probiótico em relação ao controle e, semelhante consumo em relação ao grupo que recebeu antibiótico.

Até o intervalo de 01-28 dias não foi demonstrado efeito dos aditivos alternativos sobre a CA. Entretanto, estes alcançaram CA similar àquela obtida com antibiótico, apesar de não terem diferido do controle, no intervalo de 01-35 dias e no período total de criação.

Maiorka et al. (2001) e Waldroup, Rondon e Fritts (2003) discordam destes resultados ao relatarem melhor CA do prebiótico, probiótico e simbiótico comparados ao controle no período de 01-40 dias e melhor CA do MOS comparado ao controle aos 42 dias de idade, respectivamente.

No estudo de Silva (2006) a inclusão de prebiótico na ração pré-inicial (01-07 dias) resultou em maior GP e melhor CA nas aves, criadas sob alta temperatura, ao final de 42 dias de idade, além de aumentar a viabilidade criatória até os 21 dias de idade. Tal resultado é atribuído à possível redução do pH intestinal, deprimindo o crescimento de microrganismos patogênicos e favorecendo uma microbiota intestinal benéfica. Segundo o pesquisador, a ausência de contato com a microbiota natural logo após o nascimento não só pode afetar o desenvolvimento do trato gastrintestinal e, por consequência prejudicar o crescimento das aves, como também possibilita a colonização intestinal por patógenos entéricos.

Nollet, Huyghebaert e Spring (2007) suplementando com MOS frangos vacinados e posteriormente desafiados com coccidiose (*Eimeria acervulina*, *Eimeria máxima* e *Eimeria tenella*) verificaram a melhora da CA com o uso do aditivo no período de 15 a 42 dias de idade.

Zulkifli et al. (2000), Corrêa (2003) e Pelicano et al. (2004) relataram melhor CA no grupo que recebeu probiótico no período de 01 -21 dias.

Outros ensaios descrevem a ausência de efeito de prebióticos e probióticos sobre a CA de frangos de corte (GUSILS, 2001; PELÍCIA et al., 2004; YANG et al., 2007).

Quanto à mortalidade, em todos intervalos analisados no presente estudo, não foi possível demonstrar efeito positivo dos aditivos alternativos. Resultado este também observado em diversos trabalhos fazendo uso de diferentes prebióticos e probióticos (CORRÊA et al., 2000; DIONÍZIO et al., 2002; WALDROUP; RONDON; FRITTS, 2003; SANTOS et al., 2005; ALBINO et al., 2006).

Por sua vez, outros pesquisadores como Gusils (2001) e Pelicano et al. (2004) relatam melhor viabilidade com o uso destes aditivos alternativos na dieta.

Segundo alguns autores a ausência de efeito destes aditivos pode ser resultante de condições de estresse mínimo. Neste caso, os prebióticos e probióticos poderiam não apresentar resultados evidentes (FOX, 1988; FRANCESCHI; STOCKER, 1989; DALE, 1992; MARUTA, 1993; MATHEW; SUTTON; SCHEIDT, 1993; MOSENTHIN; BAUER, 2000; VARGAS et al., 2000; SILVA; NÖRNBERG, 2003).

Portanto, pode-se sugerir que práticas de manejo e condições sanitárias adequadas, como as empregadas neste experimento, podem resultar na ausência de efeitos expressivos dos aditivos alternativos.

Considerando que os aditivos alternativos necessitam de condições experimentais mais próximas às de campo para demonstrarem efeito mais evidente sobre o desempenho, é provável que a reutilização da cama não tenha representado um desafio eficiente no presente ensaio, pois até mesmo o antibiótico não mostrou efeito positivo sobre o CR e M.

Como não é possível e viável a criação em escala industrial de frangos de cortes com o mesmo nível de controle que se tem em condições experimentais, a busca por situações mais próximas da realidade é um fator importante a ser considerado nos ensaios dessa natureza.

Dessa forma, as aves podem ser submetidas a outros tipos de desafios. Como, por exemplo, ventilação deficiente, superpopulação, variações ambientais bruscas, presença de patógenos entre outros.

Com relação à diversidade de resultados encontrados na literatura, podem ser listados vários fatores envolvidos, entre eles: fatores externos (estresse e situação sanitária do galpão), microrganismos que compõem o probiótico e sua viabilidade (LIMA, 2003), diferenças de estrutura química e propriedades físico-químicas dos compostos utilizados como prebióticos, composição dos ingredientes presentes na dieta, dosagens e até mesmo a via de administração dos aditivos (SUNVOLD et al., 1995; SILVA; NORNBERG, 2003).

Portanto, a comparação de resultados experimentais é difícil e deve ser cuidadosa.

4 CONCLUSÕES

Diante dos resultados apresentados pelos aditivos alternativos neste trabalho, sugere-se a continuidade do estudo de seus efeitos sobre o desempenho animal. Isso porque, ambos demonstraram alcançar GP similar ao do antibiótico, principalmente na fase inicial, apesar de não terem mantido tal desempenho até o fim da criação. Além disso, demonstraram serem capazes de atingir CA similar àquela obtida com o uso de antimicrobianos.

REFERÊNCIAS

- ALBINO, L. F. T.; FERES, F. A.; DIONIZIO, M. A.; ROSTAGNO, H. S.; VARGAS JÚNIOR, J. G.; CARVALHO, D. C. O.; GOMES, P. C.; COSTA, C. H. R. Uso de prebióticos à base de mananoligossacarídeo em rações para frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n. 3, p. 742-749, 2006.
- BORATTO, A. J. 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**, v. 33, n. 6, p. 1477-1485, 2004.
- COLLET, S. Nutrição, imunidade e produtividade. In: RONDA LATINO AMERICANA DA ALLTECH: O futuro da alimentação, 10., 2000, Campinas, São Paulo: **Anais...** Campinas: Alltech, 2000. p. 20-30.
- CORRÊA, G.; GOMES, A. V. C.; CORRÊA, A. B.; SALLES, A. S. Desempenho de frangos de corte alimentados com diferentes promotores de crescimento. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECHNIA, 37., 2000, Viçosa, MG. **Anais...** Viçosa: SBZ, 2000. 1 CD-ROM.
- CORRÊA, G. S. S. Efeitos de antibiótico e probióticos sobre desempenho e rendimento de carcaça de frangos de corte. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 55, n. 4, p. 467-473, 2003.
- DIBNER, J. J.; RICHARDS, J. D. Antibiotics growth promoters in agriculture: history and mode of action. **Poultry Science**, v. 84, p. 634-643, 2005.
- DIONÍZIO, M. A.; BERTECHINI, A. G.; KATO, R. K. Prebiótico como promotores de crescimento para frangos de corte-desempenho e rendimento de carcaça. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 26, p. 1580-1587, 2002. Edição Especial.
- DONOVAN, D. C.; FRANKLIN, S. T.; CHASE, C. C. L.; HIPPEN, A. R. Growth and health of Holstein calves fed milk replacers supplemented with antibiotics or Enteroguard. **Journal of Dairy Science**, v. 85, p. 947-950, 2002.
- EWING, W. N.; COLE, D. J. A. **The living gut**: an introduction to microorganisms in nutrition. N. Ireland: Context, 1994. 220 p.

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

FEY, P. D.; SAFRANEK, T. J.; RUPP, M. E.; DUNNE, E. F.; RIBOT, E.; IWEN, P. C.; BRADFORD, P. A.; ANGULO, F. J.; HINRICHS, S. H. Ceftriaxone-resistant salmonella infection acquired by a child from cattle. **New England Journal of Medicine**, v. 342, p. 1242–1249, 2000.

FLEMMING, J. S.; FREITAS, J. R. S.; FONTOURA, P.; MONTANHINI NETO, R.; ARRUDA, J. S. Use of mannanoligosaccharides in broiler feeding. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 6, n. 3, p. 159-161, 2004.

FOX, S. M. Probiotics: intestinal inoculants for production animals. **Veterinary Medicine**, v. 83, p. 806-830, 1988.

FRANCESCHI, M.; STOCKER, J. Probiotics en producción avícola: Revision de um nuevo enfoque. **Terapeutica Veterinaria Argentina**, v. 6, p. 708-712, 1989.

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

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

GUSILS, C. Alimentación probiótica para pollos. In: CONGRESSO LATINO AMERICANO DE AVICULTURA, 38., 2001, Guatemala. **Anais...** Guatemala, 2001. p. 625.

IJI, P. A.; SAKI, A. A.; TIVEY, D. R. Intestinal structure and function of broiler chickens on diets supplemented with a mannan oligosaccharide. **Animal Feed Science and Technology**, v. 81, p. 1186-1192, 2001.

IJI, P. A.; TIVEY, D. R. Natural and synthetic oligosaccharides in broiler chicken diets. **World's Poultry Science Journal**, v. 54, p. 129-143, 1998.

JENNY, B. F.; VANDIJK, H. J.; COLLINS, J. A. Performance and fecal flora of calves fed a *Bacillus subtilis* concentrate. **Journal of Dairy Science**, v. 74, p. 1968–1973, 1991.

JIN, L. Z. Probiotic in poultry: modes of action. **World's Poultry Science Journal**, v. 53, p. 351-368, 1997.

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

KABIR, S. M. L.; RAHMAN, M. M.; RAHMAN, M. B.; RAHMAN, M. M.; AHMED, S. U. The Dynamics of Probiotics on Growth Performance and Immune Response in Broilers. **International Journal of Poultry Science**, v. 3, n. 5, p. 361-364, 2004.

LANGHOUT, P. Alternativas ao uso de quimioterápicos na dieta de aves: a visão da indústria e recentes avanços. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2005, Santos, São Paulo. **Anais...** Campinas: FACTA, 2005. v. 2, p. 21-39.

LIMA, A. C. F. 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, 2003.

LODDI, M. M. **Probióticos, prebióticos e acidificantes orgânicos em dietas para frangos de corte**, 2003. 52 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Jaboticabal, 2003.

MAIORKA, A.; SANTIN, E.; SUGETA, S. M.; ALMEIDA, J. G.; MACARI, M. Utilization of Prebiotics, Probiotics or Symbiotics in Broiler Chicken Diets. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 3, n. 1, p. 75-82, 2001.

MATHEW, A. G.; SUTTON, A. L.; SCHEIDT, A. B. Effect of galctan on selected microbial populations and pH and volatile fatty acids in the ileum of the weaning pig. **Journal of Animal Science**, v. 71, p. 1503-09, 1993.

MARUTA K. Probióticos e seus benefícios. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 1993, Santos, São Paulo. **Anais...** Campinas: FACTA, 1993. p. 203-219.

MENTEN, J. F.M. **Probióticos e aditivos fitogênicos na nutrição de aves**. In: SIMPÓSIO SOBRE INGREDIENTES NA ALIMENTAÇÃO ANIMAL, 2002, Uberlândia, MG. **Anais...** Uberlândia: Colégio Brasileiro de Nutrição Animal, 2002. p. 252-256.

MOSENTHIN, R.; BAUER, E. The potential use of prebiotics in pig nutrition. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON RECENT ADVANCES IN ANIMAL NUTRITION, 2000, Seoul, Corea do Sul. **Anais...** Seoul, 2000. p. 515-528.

NOLLET, L.; HUYGHEBAERT, G.; SPRING, P. Effect of Dietary Mannan Oligosaccharide (Bio-Mos) on Live Performance of Broiler Chickens Given an Anticoccidial Vaccine (Paracox) Followed by a Mild Coccidial Challenge. **Journal Applied Poultry Research**, v. 16, p. 397-403, 2007.

OYFO, B. A.; DELOACH, J. R.; CORRIER, D. E.; NORMAN, J. O.; ZIPRIN, R. L.; MOLLENHAUER, C. Prevention of Salmonella thyfimurium colonization of broilers with D-mannose. **Poultry Science**, n. 68, p. 1357-1360, 1989.

OTT, R. L. **An introduction to statistical methods and data analysis**. Wadsworth, 1983.

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

PELICANO, E. R. L.; SOUZA, P. A.; SOUZA, H. B. A.; LEONEL, F. R.; ZEOLA, N. M. B. L.; BOIAGO, M. M. Productive traits of broiler chickens fed diets containing different growth promoters. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 6, n. 3, p. 177-182, 2004.

PELÍCIA, K.; MENDES, A. A.; SALDANHA, E. S. P. B.; PIZZOLANTE, C. C.; TAKAHASHI, S. E.; MOREIRA, J.; GARCIA, R. G.; QUINTEIRO, R. R.; PAZ, I. C. L. A.; KOMYIAMA, C. E. Use of Prebiotics and Probiotics of Bacterial and Yeast Origin for Free-Range Broiler Chickens. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 6, n. 3, p. 163-169, 2004.

RAMARAO, S. V.; REDDY, M. R.; RAJU, M. V. L. N.; PANDA, A. K. Growth, nutrient utilization competence in broiler chicken fed probiotic, gut acidifier and antibacterial compounds. **Indian Journal of Poultry Science**, v. 39, n. 2, p. 125-130, 2004.

ROSEN, G. D. Feed additive nomenclature. **World's Poultry Science Journal**, v. 52, p. 53-57, 1996.

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

SANTIN, E.; MAIORKA, A.; MACARI, M.; GRECCO, M.; SANCHEZ, J. C.; OKADA T. M.; MYASAKA, A. M. Performance and intestinal mucosa development of broiler chickens

fed diets containing *Saccharomyces cerevisiae* cell wall. **Journal Applied Poultry Research**, v. 10, p. 236-244, 2001.

SANTOS, E. C.; TEIXEIRA, F. S.; FREITAS, R. T. F.; RODRIGUES, P. B.; DIAS, A. S.; MURGAS, L. D. S. Uso de aditivos promotores de crescimento sobre o desempenho e características de carcaça e bactérias totais do intestino de frangos de corte. **Ciência Agrotécnica**, v. 29, p. 223-231, 2005.

SANTOS, E. C.; TEIXEIRA, A. S.; RODRIGUES, P. B.; BERTECHINI, A.G.; FREITAS, R. T. F.; DIAS, E. S.; TORRES, D. M.; SANTOS, A. V.; GIACOMETI, R. Efeitos dos aditivos beneficiadores de crescimento sobre bactérias totais, pH intestinal e pH das rações de frangos de corte. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 39., 2002, Recife. **Anais...** Recife: SBZ, 2002. 1 CD-ROM.

SILVA, L. P.; NORNBORG, J. L. Prebióticos na nutrição de não-ruminantes. **Ciência Rural**, v. 33, n. 5, p. 983-990, 2003.

SILVA, V. K. **Extrato de levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) e prebiótico na dieta pré-inicial para frangos de corte criados em diferentes temperaturas**. 2006. 169 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Jaboticabal, 2006.

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

SPRING, P. Yeast's secret weapon aids animal production. In: SIMPÓSIO SOBRE ADITIVOS ALTERNATIVOS NA NUTRIÇÃO ANIMAL, 2000, Campinas, São Paulo. **Anais...** Campinas: CBNA, 2000. p. 41-50.

SPRING P.; WENK C.; DAWSON A.; NEWMAN K. E. The effects of dietary mannanoligosaccharides on cecal parameters and the concentrations of enteric bacteria in ceca of salmonella-challenged broiler chicks. **Poultry Science**, v. 79, p. 205-211, 2000.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM (SAS). Institute Incorporation. **SAS User's guide: statistics**. 8 ed. [S.l.], 2001.

SUNVOLD, G. D.; HUSSEIN, H. S.; FAHEY JR, G. C.; MERCHEN, N. R.; REINHART, G. A. In vitro fermentation of cellulose, beet pulp, and citrus pectin using fecal inoculum from cats, dogs, horses, humans, and pigs and ruminal fluid from cattle. **Journal of Animal Science**, v. 73, p. 3639-3648, 1995.

TOLEDO R. S.; ROSTAGNO H. S.; ALBINO L. F. T.; CARVALHO D. C. O.; OLIVEIRA J. E.; DIONÍZIO M. A. Efeito de prebióticos e milho de diferente qualidade nutricional sobre o desempenho de frangos de corte na fase inicial. In: REUNIÃO ANUAL DA SBZ, 40., 2003, Santa Maria, Rio Grande do Sul. **Anais...** Santa Maria: SBZ, 2003. 1 CD ROM.

VARGAS JR., J. G.; TOLEDO, R. S.; ALBINO, L. F. T.; ROSTAGNO, H. S.; ROCHA, D. P. Uso de prebióticos em rações de frangos de corte. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 2, p. 31, 2000. Suplemento.

VESNA, T.; LAZAREVIC, M.; SINOVEC, Z.; TOKIC, A. The influence of different feed additives to performances and immune response in broiler chicken. **Acta Veterinária**, v. 57, n. 2-3, p. 217-229, 2007.

YANG, Y.; IJI, P. A.; KOCHER, A.; MIKKELSEN, L. L.; CHOCT, M. Effects of Mannanooligosaccharide on Growth Performance, the Development of Gut Microflora, and Gut Function of Broiler Chickens Raised on New Litter. **Journal Applied Poultry Research**, v. 16, p. 280-288, 2007.

WALDROUP, P. W.; RONDON, E. O. O.; FRITTS, C. A. Comparison of Bio-Mos® and Antibiotic Feeding Programs in Broiler Diets Containing Copper Sulfate. **International Journal of Poultry Science**, v. 2, n. 1, p. 28-31, 2003.

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.

CAPITULO IV - INFLUÊNCIA DE ADITIVOS ALTERNATIVOS A ANTIMICROBIANOS SOBRE A IMUNIDADE DE FRANGOS DE CORTE

RESUMO

Este estudo avaliou o efeito de um prebiótico (MOS) e de um probiótico (*pool* bacteriano) sobre a imunidade humoral e celular de frangos de corte, atuando como aditivos alternativos a antimicrobianos. Foram utilizados 960 pintos de corte, criados até 42 dias de idade sobre cama reutilizada. O delineamento era inteiramente casualizado, com 4 tratamentos: DB com Antibiótico; DB com Prebiótico; DB com Probiótico; Controle (DB), sendo 8 repetições/tratamento com 30 aves cada. Os parâmetros avaliados foram: Resposta vacinal contra a doença de Newcastle; Resposta à sensibilização prévia com eritrócitos de carneiro; Atividade de macrófagos peritoneais (fagocitose e produção de água oxigenada); Resposta cutânea a fitohemaglutinina; Peso relativo dos órgãos linfóides. Embora os aditivos alternativos não apresentaram efeito sobre boa parte dos parâmetros avaliados neste trabalho, não devem ser desconsiderados os efeitos imunomoduladores que muitos estudos descrevem na literatura, pois, para alguns parâmetros, como peso relativo do timo e taxa de fagocitose, o prebiótico mostrou exercer alguma influência. Da mesma forma, ambos aditivos mostraram, ainda que apenas numericamente, uma melhor resposta vacinal contra Newcastle que os demais tratamentos aos 42 dias de idade.

Palavras-chave: Aditivos Alternativos. Frangos de Corte. Imunidade.

INFLUENCE OF ALTERNATIVE ADDITIVES INSTEAD OF ANTIMICROBIALS ON THE IMMUNITY OF BROILERS

ABSTRACT

This study evaluated the effect of a prebiotic (MOS) and of a probiotic (bacterial *pool*), acting as alternative additives instead of antibiotics on the humoral and cellular immunity of broilers. In this experiment, 960 chicks were bred up to 42 days-old on litter previously used. The birds were randomly assigned to four different treatments: Basal diet (BS) with antibiotic; BS with prebiotic; BS with probiotic; and the control treatment (only BS), with eight repetitions for each treatment and 30 birds for each repetition. The parameters evaluated were: Antibodies response against Newcastle disease, Anti-sheep-red-blood-cells antibodies response; peritoneal macrophagic activity (phagocytosis index and H₂O₂); cutaneous response to phytohemagglutinin; relative weight of lymphoid organs. Although the alternative additives have presented no effect on the majority of the parameters evaluated in this work, one should not discard the immunomodulatory effects widely described in the literature. Another reason to do so is that for some parameters, such as relative weight of thymus and phagocytosis index, the prebiotic was observed to have some influence on. In the same way, both additives presented, even just numerically, a better response for vaccination against Newcastle disease, than other treatments, for 42 years-old broilers.

Key-words: Alternative additives. Broilers. Immunity.

1 INTRODUÇÃO

O uso de antimicrobianos promotores de crescimento na nutrição animal, principalmente na avicultura, tem sido relacionado à suposta indução de resistência cruzada de bactérias patógenas para humanos (ALBINO et al., 2006).

Relatos de bactérias resistentes a antibióticos de uso humano, como *Salmonella*, *Campylobacter*, e *E. coli* são documentados em várias regiões do mundo (LANGHOUT, 2005).

Assim, buscam-se cada vez mais estratégias alternativas para melhorar o desempenho das aves, como prebióticos e probióticos. Estudos têm demonstrado que tais aditivos além de promoverem a modulação benéfica da microbiota intestinal possuem efeitos imunomoduladores.

Como o sucesso na produção animal depende da sanidade, o bom funcionamento do sistema imune das aves é alvo de grande interesse (LAAN, 1999).

O estresse imunológico, definido como exposição a um antígeno sofrido pela ave, certamente é prejudicial ao desempenho. Esse estresse resulta em aumento da taxa metabólica, diminuição do apetite e redirecionamento dos nutrientes para atender às necessidades energéticas da resposta imune em vez do crescimento do músculo esquelético (QURESHI, 2002).

Vale relatar que a imunocompetência das aves, segundo alguns estudos, foi influenciada negativamente pela seleção genética intensificadora de características de desempenho (FERKET, 1999).

O sistema imune faz uso de mecanismos de proteção que vão desde os mais simples (defesa inespecífica-inata) até aqueles mais complexos (defesa específica-adquirida).

A defesa inespecífica é a primeira barreira a agentes invasores. É representada pela pele e mucosas íntegras; colonização benéfica da flora intestinal; processos inflamatórios suportados por macrófagos, heterófilos, eosinófilos, basófilos, monócitos, mastócitos, células endoteliais e células *natural killer* (NK) (MONTASSIER, 1998; FERKET, 1999; FAIRBROTHER; SMITS; GRASMAN, 2004).

Por sua vez, a defesa específica necessita de um contato prévio com o agente envolvido, seja via infecção anterior ou vacinação e, está estruturada sobre a imunidade humoral e imunidade celular (FAIRBROTHER; SMITS; GRASMAN, 2004).

A resposta imune humoral é caracterizada pela participação de imunoglobulinas (Ig) ou anticorpos séricos. Estes são produzidos por plasmócitos derivados de linfócitos B. Os linfócitos B uma vez ativados pelo contato e reconhecimento antigênico prévio, que é auxiliado via macrófagos e linfócitos T auxiliar, diferenciam-se e multiplicam-se originando um clone de células precursoras dos plasmócitos (MONTASSIER, 1998).

A resposta imune celular é dependente dos linfócitos T auxiliares e citotóxicos. Os linfócitos T auxiliares participam na sensibilização e diferenciação dos linfócitos B via produção de interleucinas, além de ativarem macrófagos e linfócitos T citotóxicos. Os linfócitos T citotóxicos atacam diretamente a célula alvo promovendo a sua destruição através de linfocinas (LAAN, 1999).

O timo e a bursa de Fabricius são órgãos linfóides primários. Os linfócitos B e T originam-se de células primordiais indiferenciadas que migram do saco vitelino para a bursa e timo em torno de 8 a 9 dias de incubação, respectivamente. Portanto, qualquer dano que ocorrer no timo ou na bursa, durante a fase de produção dos linfócitos, implica na destruição destas células e na conseqüente redução da capacidade de responder imunologicamente (LAAN, 1999).

Estudos verificaram que a diminuição do peso do timo foi causada por uma diminuição efetiva do número de timócitos (QURESHI, 2002).

Os órgãos linfóides secundários das aves encontram-se distribuídos em diversos locais do organismo. São representados pelo baço, tonsilas cecais, glândula de Harder, medula óssea e placas de Peyer (LAAN, 1999).

Silva (2000) relata que o trato intestinal das aves é o órgão de maior responsabilidade no desenvolvimento da imunidade geral inespecífica. Isso porque seus órgãos linfóides estão espalhados ao longo do trato intestinal (placas de Peyer, tonsilas cecais, bursa). Estes tecidos captam antígenos do trato digestivo, que estimulam a ativação de macrófagos, células B precursoras de IgA e células T colaboradoras das placas de Peyer.

Diante destes fatos, sabe-se que a imunocompetência das aves pode ser influenciada pelo ambiente, genética e nutrição. Dessa forma tem surgido um grande interesse na melhoria imunológica através da alimentação.

O uso dos chamados imunomoduladores dietéticos promove a ativação do sistema imune (QURESHI, 2002).

A ação positiva dos nutrientes imunostimulantes sobre a produtividade animal ocorre com a diminuição do estresse imunológico, já que o sistema imune estaria previamente

preparado para reagir quando exposto ao desafio. Logo, a mobilização de nutrientes para atividades não relacionadas à produção seria reduzida (FERKET, 2003).

Entretanto, Qureshi (2002) afirma a importância de alcançar um equilíbrio entre respostas de proteção e imunopatológicas ao criar estratégias imunomoduladoras. Deve-se tomar este cuidado pois uma imunomodulação dietética inadequada pode levar à "super" estimulação do sistema imune. O resultado é um estado de disfunção, gerando respostas inflamatórias exacerbadas e deprimindo o desempenho zootécnico do animal.

A literatura faz referência a vários tipos de probióticos e prebióticos que possuem efeitos imunomoduladores (OUWERHAND et al., 1999; COPPOLA; TURNES, 2004; GUO et al., 2004).

Os gêneros de bactérias que estão diretamente relacionadas com o aumento da imunidade das aves são os *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*, principalmente quando relacionadas com doenças que afetam o trato intestinal (ERICKSON; HUBBARD, 2000; MENTEN; LODDI, 2003).

Estas bactérias benéficas, presentes no probiótico ou cujo desenvolvimento foi estimulado pelo prebiótico, liberam constantemente na luz intestinal substâncias imunoestimulantes presentes na sua parede celular (lipopolissacarídeos e peptidoglicanas). Estas substâncias interagem com o sistema imune através da proliferação e ativação de macrófagos, células mononucleares, neutrófilos, células endoteliais e células da musculatura lisa.

Em resposta, tais células liberam mediadores químicos como: citocinas, metaloproteínas (elastase e catepsina), prostaglandinas, metabólitos reativos de oxigênio e nitrogênio, além da indução da síntese de grandes quantidades de imunoglobulinas (IgA, IgM, IgG), proliferação e ativação de linfócitos NK, CD3, CD4 e CD8 e produção de interferon (SAVAGE; COTTER; ZAKREWSKA, 1996; JIN et al., 1997; ERICKSON; HUBBARD, 2000; EDENS, 2003; LODDI, 2003).

Sugere-se que os oligossacarídeos prebióticos possam atrair células imunes e outros componentes imunológicos ao trato intestinal, o que aumentaria a barreira contra antígenos na mucosa (resposta inespecífica do sistema imune) (COTTER, 1994).

De acordo com Collet (2000), determinados prebióticos específicos podem se ligar a sítios receptores de macrófagos na superfície de enterócitos ao reconhecerem açúcares específicos neste epitélio. Esta ligação desencadeia uma reação em cascata com a ativação de macrófagos e liberação de citocinas, caracterizando uma resposta imune adquirida. Os macrófagos ativados são mais eficientes para fagocitar e eliminar patógenos.

Especula-se também que os prebióticos seriam capazes de reduzir a translocação intestinal de patógenos, movimentação esta que determina infecções após atingir a corrente sanguínea (SILVA, 2000b).

Os mecanismos específicos de ação dos prebióticos e probióticos sobre o sistema imune ainda não estão bem esclarecidos (ERICKSON; HUBBARD, 2000; FERREIRA et al., 2002; MENTEN; LODDI, 2003). Muito pouco se sabe sobre os mecanismos de defesa intestinais dos probióticos nas aves (DALLOUL, 2003; FERKET, 2003). Contudo, acredita-se que as alterações imunológicas induzidas pelos probióticos não estão limitadas à imunidade local da mucosa intestinal, há também relatos de efeitos sobre a resposta imune sistêmica (ERICKSON; HUBBARD, 2000; PERDIGON et al., 1991).

A avaliação da imunidade inata e adquirida pode ser realizada através de vários ensaios. Esses diferentes métodos dividem-se em: aqueles que mensuram a estrutura imunológica; testes *in vivo* e *in vitro* para mensurar funções imunes específicas; desafios infecciosos que testam a resistência do hospedeiro (FAIRBROTHER et al., 2004).

Indicadores estruturais de imunocompetência são obtidos através da massa, celularidade e histologia de órgãos linfóides (TAKAHASHI et al., 1991; BROWN-BORG; EDENS, 1992; GONE; QURESHI, 1997; AL-AFALEQ; HOMEIRA, 1998). Já os testes funcionais de imunocompetência são aqueles que avaliam a habilidade do sistema imune em responder a um estímulo aplicado (FAIRBROTHER et al., 2004).

Em aves, o teste funcional *in vivo* normalmente realizado é a resposta cutânea à fitohemaglutinina (PHA), que mensura a imunidade mediada por células T (CORRIER; DELOACH, 1990; FAIRBROTHER et al., 2004). A PHA é uma lecitina derivada da planta *Phaseolus vulgaris* e, quando injetada intradermicamente nas aves, estimula a proliferação, diferenciação de linfócitos T e liberação de citocinas. O resultado é uma resposta inflamatória que ocorre em até 12 - 24 horas após a injeção (LOCHMILLER et al., 1993; KLASING, 2007).

Outros testes funcionais *in vivo* incluem os que mensuram a imunidade humoral. Exemplos de antígenos, que estimulam a produção de anticorpos, podem ser vacinais, eritrócitos de carneiro, soroalbumina bovina (FAIRBROTHER et al., 2004).

Testes funcionais *in vitro* podem ser utilizados para mensurar a atividade fagocítica de macrófagos em aves. Os macrófagos são incubados com partículas de leveduras e, mensurando-se o número de macrófagos que fagocitaram estas partículas é obtida a porcentagem de fagocitose (FAIRBROTHER et al., 2004).

Sabe-se que a fagocitose envolve várias etapas, entre elas: ingestão, morte e digestão do antígeno. A destruição do antígeno englobado ocorre através de mecanismos oxidativos (peróxido de hidrogênio e óxido nítrico) ou não oxidativos (hidrolases ácidas, lisozimas e proteínas catiônicas), não necessitando transcorrer muito tempo após o estímulo (OLIVEIRA, et al., 2003).

Assim, também pode ser mensurada a produção pelos macrófagos de algumas destas substâncias, como o peróxido de hidrogênio e óxido nítrico (NO) (FAIRBROTHER et al., 2004).

Os protocolos laboratoriais para análise da taxa de fagocitose e liberação de água oxigenada (H_2O_2), pela oxidação do vermelho de fenol, além de fácil execução são de baixo custo pois não requerem o uso de equipamentos sofisticados. (MORI et al., 2001).

A mensuração da atividade fagocítica dos macrófagos é importante meio de avaliar a imunocompetência pois é considerada uma das primeiras ativações de toda uma resposta imune subsequente. É após a fagocitose que uma grande variedade de mediadores químicos é liberada, resultando no recrutamento de células imunocompetentes e numa resposta imunológica sistêmica (ISOLAURI et al., 2001).

O presente estudo objetivou avaliar a influência de aditivos alternativos a antimicrobianos, no caso prebiótico e probiótico, sobre a imunidade inata e adquirida (celular e humoral) de frangos de corte. A relevância deste trabalho deve-se à escassez de estudos destes aditivos relacionando-os à imunidade das aves. Tal fato resulta no pouco conhecimento acerca dos mecanismos de ação dos aditivos, bem como a respeito de quais compartimentos do sistema imune estariam sujeitos a seus efeitos diretos.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 LOCAL E PERÍODO EXPERIMENTAL

O experimento foi conduzido em março e abril 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. Empregou-se um galpão de alvenaria dividido em 36 boxes de 4,25 m² cada, com a criação das aves em piso.

As análises de resposta à sensibilização prévia com eritrócitos de carneiro e atividade de macrófagos peritoneais foram desenvolvidas no Centro de Pesquisa em Toxicologia Veterinária (CEPTOX) pertencente ao Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, Campus Pirassununga, São Paulo.

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.

2.2 ANIMAIS

Foram utilizados 960 pintos de um dia, machos da linhagem comercial AgRoss 308, criados até 42 dias de idade.

2.3 DIETA EXPERIMENTAL, DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E TRATAMENTOS

A dieta basal 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.

As aves foram alojadas de acordo com um delineamento inteiramente casualizado e, distribuídas em 4 diferentes tratamentos: Antibiótico; Prebiótico; Probiótico; Controle. Havia 8 repetições (boxes) por tratamento de 30 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 10 ppm 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 suplementado com prebiótico tinha como princípio ativo um mananoligossacarídeo derivado da parede celular da levedura *Saccharomyces cerevisiae*, comercializado sob o nome Bio-Mos® pela empresa Alltech, Curitiba -PR. O produto em pó foi adicionado à dieta na dose 1 kg/ton de ração para a fase inicial (01-21 dias) e 0,5 kg/ton de ração para as fases de crescimento (22-35 dias) e final (36-42 dias).

O grupo probiótico foi suplementado com um *pool* bacteriano, comercializado sob o nome DBA Probiótico Pó Oral para Aves® pela Empresa IMEVE, Jaboticabal-SP. O produto em pó foi adicionado à dieta na dose 2 kg/ton de ração nas diferentes fases de criação. A tabela 1, capítulo III, apresenta a composição deste produto e o número de Unidade Formadora de Colônia (UFC) por grama de ração ingerida.

Todos os aditivos foram utilizados conforme as recomendações do fabricante e, adicionados em substituição ao equivalente em peso de material inerte (caolim), ajustando-se as 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.

A tabela 2, capítulo III, apresenta a composição percentual e análise calculada das rações experimentais nas diferentes fases de criação.

2.4 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 do aviário experimental.

As aves foram pesadas no primeiro dia do experimento e alojadas nos boxes experimentais 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. Foram vacinados na primeira semana de vida contra coccidiose via água de bebida, com vacina viva atenuada e, de acordo com as recomendações do fabricante.

A cama de frango empregada era reutilizada. O objetivo foi estabelecer um desafio sanitário que aproximasse as condições experimentais às de campo.

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

Para prevenir que os microrganismos do tratamento suplementado com probiótico, colonizadores do trato gastrointestinal das aves e conseqüentemente do meio ambiente, contaminassem os tratamentos ausentes destas bactérias, foram adotadas algumas medidas de biossegurança durante o manejo diário dos tratamentos. Entre elas, foi ordenado o manejo de forma que os boxes do tratamento suplementado com probiótico fossem sempre os últimos a serem manejados. Também foi empregado o uso de sacos plásticos protetores nos calçados para o manejo dos boxes do tratamento com probiótico e, para o manejo da ração, utilizou-se conchas exclusivas para cada tratamento.

2.5 PARÂMETROS AVALIADOS

2.5.1 IMUNIDADE HUMORAL

2.5.1.1 *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 enterotrófica 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 16 aves de cada tratamento (duas de cada parcela experimental) 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.

Estas 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).

2.5.1.2 Resposta à Sensibilização Prévia com Eritrócitos de Carneiro

A titulação de anticorpos contra eritrócitos de carneiro (anticorpos anti-SRBC) é outro teste de imunidade humoral (FAIRBROTHER; SMITS; GRASMAN, 2004) proposto neste trabalho.

A realização desse segundo teste deve-se aos diversos resultados encontrados na literatura e, que utilizando a vacinação contra Newcastle como método de avaliação, mostram uma variação na titulação de anticorpos muito acentuada entre animais submetidos a um mesmo tratamento. Especula-se que tal variação possa estar relacionada à imunidade passiva (anticorpos maternos contra a vacina de Newcastle). Assim, pintinhos de matrizes diferentes poderiam ter carga de anticorpos muito diferentes, o que representaria um erro para este método de avaliação da imunidade humoral.

Associado a isso, a variação de resposta pode ser ainda maior em função da eliminação do vírus pelas fezes e aerossóis, promovendo exposições de diferentes intensidades ao vírus entre as aves.

Por isso, foi proposto neste experimento realizar um segundo teste de imunidade humoral. Este teste foi a titulação de anticorpos contra eritrócitos de carneiro (anticorpos anti-SRBC).

A escolha desse teste deve-se ao conhecimento prévio de que as matrizes e pintinhos nunca tiveram contato com eritrócitos de carneiro e, portanto, não poderiam ter anticorpos contra os mesmos. Além da impossibilidade da transmissão horizontal deste antígeno entre as aves.

A metodologia iniciou com a coleta de sangue de carneiro adulto sadio em tubo heparinizado. Este foi mantido à temperatura de 10 °C por 24 horas antes de sua utilização.

O sangue de carneiro foi centrifugado e seu sobrenadante desprezado, acrescentando-se solução salina para que fosse submetido a uma nova centrifugação e retirada de sobrenadante. Este procedimento foi repetido três vezes.

A seguir foi determinado, em câmara de Neubauer, o número de eritrócitos em 1 ml do sangue processado acima. A viabilidade das células foi determinada pela técnica de exclusão de Azul de Tripán, onde apenas as células não viáveis coram-se em azul.

Conhecendo-se o número de eritrócitos em 1 ml de sangue, preparou-se uma solução salina contendo 5.10^9 eritrócitos/ml.

Aos 28 dias de idade, 16 aves de cada tratamento (duas de cada parcela experimental) foram imunizadas com os eritrócitos de carneiro. Injetou-se pela veia ulnar 0,1 ml da solução descrita acima.

Foi coletado sangue das aves previamente imunizadas 7 dias após a sensibilização. O soro extraído do sangue coletado foi armazenado a – 20°C até o plaqueamento.

Para a titulação de anticorpos utilizaram-se placas de 96 *wells* de fundo em U, sendo colocados 30 µl de solução salina pura em cada poço.

Cada animal, para a sua titulação, utilizou uma linha da placa com poços numerados de 1 a 8. No primeiro poço da linha colocou-se 30 µl do soro da ave e, a partir deste primeiro poço foi realizada uma diluição seriada deste soro ao longo da linha. A todos os poços foram, então, adicionados 30 µl de uma suspensão salina de eritrócitos de carneiro previamente preparada (9.10^9 eritrócitos/ml).

A primeira linha da placa era representada pelo controle negativo, em que foi plaqueado um *pool* de soro de 10 aves antes da sensibilização com os eritrócitos de carneiro.

As placas foram incubadas em estufa a 41°C durante 1 hora. Após a incubação, as placas foram mantidas a 10°C por 12 horas e, por fim, foram feitas as leituras das placas.

Na leitura, o título de anticorpos obtido era o número do poço em que o botão de eritrócitos formado era semelhante àquele formado nos poços do controle negativo e no poço de diluição subsequente a sua (Figura 1).

Figura 1 - Placa de titulação de anticorpos anti-SRBC em frangos de corte, aos 35 dias de idade, previamente imunizados contra SRBC

2.5.2. ATIVIDADE DE MACRÓFAGOS PERITONEAIS

Adaptando-se a metodologia descrita em Fairbrother, Smits e Grasman (2004), foi injetado na cavidade peritoneal de 16 aves de cada tratamento (duas de cada parcela experimental), aos 21 dias de vida, 1ml para cada 200 g de peso corpóreo de solução de Sephadex (Sephadex G-50 Fine a 3% em solução salina 0,9%). A finalidade era atrair macrófagos para a cavidade.

Quarenta e oito horas após a inoculação, os animais foram sacrificados por deslocamento cervical. A seguir, inoculou-se na cavidade peritoneal 20 ml de meio RPMI - 1640 com o massageamento da região para o desprendimento das células e, posterior aspiração do lavado peritoneal. Este foi transferido para tubos plásticos mantidos em gelo.

Em laboratório, foi determinado o número de células de cada amostra através da contagem em câmara de Neubauer. A viabilidade das células foi determinada pela técnica de exclusão pelo Azul de Tripán, onde apenas as células não viáveis coram-se em azul.

Após a determinação do número de células viáveis de cada amostra de lavado, foram tomadas alíquotas destas amostras para posterior realização dos testes de fagocitose e produção de água oxigenada.

2.5.2.1 Fagocitose

Para a determinação da taxa de fagocitose, foram tomadas alíquotas das amostras do lavado conforme citado no item 2.5.2. Tais alíquotas foram ressuspensas em 1ml de meio RPMI - 1640 para padronizar uma solução de concentração 2.10^6 células/ml. Esta solução de concentração celular conhecida, para cada amostra, foi distribuída em placas de cultivo (placas de 6 *wells* com uma lamínula quadrada de vidro dentro de cada poço).

Em cada *well* foram colocados 200 µl da alíquota ressuspensa e, as placas repousaram 20 minutos em temperatura ambiente. Posteriormente, realizou-se a lavagem das placas com PBS, e foram adicionados 1 ml de meio RPMI - 1640 e 7 µl de parede de células mortas de *Saccharomyces cerevisiae* (Zymosan). As placas foram incubadas em estufa de CO₂ 5% a 41°C por 1h. Após a incubação, as células não aderentes foram removidas através de nova lavagem com PBS. Finalmente, foi adicionado glutaraldeído 0,5% para conservação e fixação das células aderidas à lamínula.

As lamínulas foram coradas com Panótipo (corante hematológico) para a leitura em microscópio óptico, com um aumento de 100 vezes em imersão.

Realizou-se a contagem do número de células que fagocitaram uma ou mais partículas de Zymosan em um total de 200 células aderidas a cada lamínula (Figura 2). O resultado foi expresso em porcentagem de células que realizaram fagocitose.

Figura 2 - Macrófago peritoneal de frango de corte, aos 21 dias de idade, fagocitando partículas de Zymosan (indicado pela seta)

2.5.2.2 Produção de Água Oxigenada

A liberação de água oxigenada (H_2O_2) pelos macrófagos foi quantificada pelo método da oxidação do vermelho de fenol pela H_2O_2 , dependente de peroxidase. Segundo Pick e Keisari (1980), adaptado por Pick e Mizel (1981) e modificado por Russo et al. (1989).

As alíquotas das amostras de lavado, citadas no item 2.5.2., foram ressuspensas em 1ml de *Phenol Red*, para padronizar uma solução de concentração 2.10^6 céls/ml. Esta solução foi então plaqueada (placas de 96 wells). Cada amostra foi repetidamente plaqueada em 8 poços e, à metade dos poços de cada amostra foi adicionado *phorbol myristate acetate* (PMA). O PMA é um conhecido potencializador da produção de H_2O_2 pelos macrófagos e, foi utilizado a fim de criar um controle positivo (OLIVEIRA et al., 2003). Em suma, cada amostra foi submetida ao teste na ausência e na presença de PMA.

Após o preparo das placas, estas foram mantidas em estufa de CO_2 5% a $41^\circ C$ por 1 hora. Finalizada a incubação, foi adicionado 10 μl de NaOH (1M) a cada poço para cessar a reação de oxidação.

A oxidação do vermelho de fenol foi quantificada através da leitura da absorbância em leitor de ELISA, utilizando filtro de 620 nm. A produção de peróxido de hidrogênio em n moles foi calculada com base numa curva padrão, cujos valores de absorbância foram obtidos para os seguintes valores de diluição da H_2O_2 : 1:10, 1:40, 1:160 (sem PMA) e 1:20, 1:80, 1:320 (com PMA).

2.5.3 RESPOSTA CUTÂNEA À FITOHEMAGLUTININA

Seguindo de perto a metodologia descrita em Carrier e DeLoach (1990), foi injetado em 8 aves de cada tratamento (uma de cada parcela experimental), aos 30 dias de vida, entre a 3^a e 4^a prega interdigital da pata direita por via intradérmica, 0,1 ml de fitohemaglutinina Cultilab[®]. A espessura da prega foi medida com o auxílio de um paquímetro digital, antes da injeção (T0h) e após 8 (T8h) e 24 horas da mesma (T24h). Os resultados médios obtidos foram expressos pela diferença entre as medidas nos diferentes tempos.

2.5.4 PESO RELATIVO DOS ÓRGÃOS LINFÓIDES

Aos 40 dias de idade, 8 aves de cada tratamento (uma de cada parcela experimental) foram sacrificadas por deslocamento cervical para a coleta e pesagem dos seguintes órgãos linfóides: bursa, timo e baço. Os resultados expressos representam a relação entre o peso do órgão e o peso vivo da respectiva ave.

2.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram analisados com o auxílio do software Statistical Analysis System (SAS, 2001). A normalidade dos resíduos e a homogeneidade das variâncias entre os tratamentos foram previamente verificadas através do Teste de Shapiro-Wilk (PROC UNIVARIATE) e Teste de Hartley (OTT, 1983), respectivamente. 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.

Para a variável título de anticorpos contra Newcastle foi adicionado na análise de variância o fator medidas repetidas no tempo, referente às diferentes datas de coleta dos dados. Nesse caso, foi empregado o comando "REPEATED" no PROC GLM para a análise de variância. Quando observada diferença significativa entre os tratamentos ($P < 0,05$), as suas médias foram comparadas dentro de cada tempo, através do teste de Tukey, devido à interação significativa entre tempo e tratamentos.

Quando não respeitadas as premissas estatísticas, os dados sofreram transformação logarítmica.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

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

3.1 IMUNIDADE HUMORAL

3.1.1 RESPOSTA À VACINA DE NEWCASTLE

Os dados referentes aos títulos de anticorpos foram submetidos à transformação logarítmica a fim de atender as premissas estatísticas exigidas para a análise de variância.

Os efeitos dos aditivos sobre os títulos médios de anticorpos vacinais contra a doença de Newcastle estão representados na tabela 1.

Tabela 1 - Títulos médios de anticorpos: Resposta vacinal à doença de Newcastle em frangos de corte aos 14, 28 e 42 dias de idade, sob os diferentes tratamentos

Idades	Tratamentos				P	CV%
	Antibiótico	Prebiótico	Probiótico	Controle		
14 dias	5,92	5,84	5,66	5,72	0,7682	13,19
28 dias	5,04 ab	4,24 ab	5,38 a	3,77 b	0,0112	34,01
42 dias	5,22	6,43	6,30	5,81	0,2121	30,15

Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

P: Probabilidade.

CV(%): Coeficiente de variação.

Aos 14 dias de idade, antes da vacinação das aves, os anticorpos contra Newcastle apresentados são passivos (de origem materna). 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 serem mais observados a partir dos 28 dias de idade. Assim, os anticorpos desde então detectados são originários de resposta imune adquirida.

Aos 28 dias de idade observa-se uma melhor resposta vacinal do probiótico em relação ao controle, mas sem diferir do antibiótico. Por sua vez, o prebiótico não apresentou efeito sobre a resposta vacinal.

Aos 42 dias de idade ambos aditivos alternativos não demonstraram efeito sobre o título de anticorpos. Entretanto, observa-se, ainda que numericamente, a melhor resposta dos aditivos alternativos em relação aos demais tratamentos.

Vale observar que eram esperados maiores títulos, aos 28 dias, que os aqui apresentados, o que só foi ocorrer mais tarde aos 42 dias. Esses resultados podem ser justificados pela possível presença de algum desafio para as aves (talvez a cama reutilizada), que sobrecarregou o sistema imune na fase de crescimento. O resultado foi uma resposta tardia à vacinação.

Zulkifli et al. (2000) observaram 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. Porém, estes resultados foram observados apenas após período de exposição à alta temperatura, o que reforça a idéia de que os benefícios do probiótico são evidenciados apenas em situações de estresse.

Ramarao et al. (2004) também observaram aumento nos títulos de anticorpos contra o vírus da doença de Newcastle e Gumboro em frangos de corte que receberam probiótico na dieta durante o período de 3 a 35 dias de idade.

Vesna et al. (2007) comprovaram o efeito benéfico do MOS sobre a imunidade humoral ao verificar o maior título de anticorpos vacinais contra Newcastle em frangos suplementados com este aditivo, comparado ao grupo controle.

Da mesma forma, Shashidhara e Devegowda (2003) verificaram que a suplementação de matrizes de frangos de corte com MOS melhorou a resposta vacinal contra a doença de Gumboro, inclusive com melhor resposta também nas progênies.

Savage, Cotter e Zakrewska (1996) testaram o efeito do MOS em perus e, constataram aumentos significativos do IgG plasmático e IgA da bile.

Por outro lado, há também relatos da ausência de efeito dos aditivos alternativos sobre a resposta humoral. É o caso de Balevi et al. (2001), que ao avaliarem os efeitos de um probiótico comercial na resposta imune humoral de galinhas poedeiras não observaram

diferenças significativas, atribuindo esta ausência de estímulo ao uso de microrganismos não específicos para a espécie em estudo.

3.1.2 RESPOSTA À SENSIBILIZAÇÃO PRÉVIA COM ERITRÓCITOS DE CARNEIRO

Seguem na tabela 2 os títulos médios de anticorpos anti-SRBC para os diferentes tratamentos.

Tabela 2 - Títulos médios de anticorpos anti-SRBC em frangos de corte, aos 35 dias de idade, sob os diferentes tratamentos

	Tratamentos				P	CV%
	Antibiótico	Prebiótico	Probiótico	Controle		
Título	7,71	8,07	7,80	7,87	0,8072	12,60

P: Probabilidade.

CV(%): Coeficiente de variação.

Para este estudo, pode-se verificar que os aditivos alternativos não apresentaram efeito significativo sobre o título de anticorpos anti-SRBC.

Em estudo análogo, Qureshi (2002) relata a maior produção de anticorpos anti-SRBC, após exposição prévia, em frangos de corte suplementados com o polissacarídeo prebiótico β -glucano.

3.2 ATIVIDADE DE MACRÓFAGOS PERITONEAIS

3.2.1 FAGOCITOSE

A taxa de fagocitose expressa pela porcentagem de macrófagos peritoneais que fagocitaram uma ou mais partículas de Zymosan, em frangos de corte aos 21 dias de idade sob os diferentes tratamentos, está representada na tabela 3.

Tabela 3 - Valores médios das taxas de fagocitose em frangos de corte, aos 21 dias de idade, sob os diferentes tratamentos

	Tratamentos				P	CV%
	Antibiótico	Prebiótico	Probiótico	Controle		
Taxa de Fagocitose (%)	16,89 a	33,83 b	24,56 ab	24,50 ab	0,0155	53,31

Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

P: Probabilidade.

CV(%): Coeficiente de variação.

Observa-se que o prebiótico apresentou taxa de fagocitose superior àquela apresentada pelo antibiótico, mas não diferiu significativamente do controle. Por sua vez, o probiótico não mostrou efeito significativo sobre a atividade fagocítica tanto em relação ao antibiótico assim como comparado ao controle.

Vale relatar que Erickson e Hubbard (2000) acreditam que a compreensão dos resultados obtidos com este protocolo experimental pode ser dificultada devido à distância do trato intestinal (onde agem os aditivos alternativos) aos locais onde normalmente são realizadas as avaliações do sistema imune (no presente caso, cavidade peritoneal).

Já Cross (2002) acredita que talvez a ação sistêmica do probiótico ocorra através da estimulação da liberação de mediadores. Dessa forma, o aditivo pode, ainda que indiretamente, estimular o sistema imune em locais distantes do trato intestinal.

Seifert e Watzl (2007) afirmam que os carboidratos não digeríveis inulina e oligofrutose claramente modulam processos imunológicos no tecido linfóide associado ao intestino. Assim, vários de seus trabalhos com ratos e humanos descrevem benefícios locais do uso destes aditivos como: melhora de doenças inflamatórias intestinais; redução da incidência de tumores no cólon; aumento da secreção fecal de IgA em recém-nascidos. Entretanto, relatam que efeitos imunomoduladores sistêmicos são raros.

Por sua vez, Buddington et al. descrevem o estímulo da imunidade sistêmica em camundongos com o uso de inulina e oligofrutose. Por exemplo, relatam a redução da mortalidade após exposição sistêmica a *Listeria monocytogenes* nos animais suplementados.

Os resultados aqui apresentados discordam de Dawson e Pirvulescu (1999), que demonstraram a capacidade do MOS em aumentar a resposta de macrófagos em diferentes espécies.

Da mesma forma, Davis et al. (2004) suplementando leitões desmamados com MOS, demonstraram que macrófagos (isolados da lâmina própria do jejuno) dos animais suplementados fagocitaram maior número de eritrócitos de carneiro comparado ao controle.

Segundo Yasui e Ohwaki (1991) e Macfarlane e Cummings (1999), as substâncias imunoestimulantes liberadas por bactérias benéficas produtoras de ácido lático interagem com o sistema imune, entre outros mecanismos, via estímulo à fagocitose macrofágica.

Outros estudos demonstraram que oligossacarídeos e polissacarídeos de extrato aquoso de Ginseng Norte Americano (*Panax quinquefolium*) estimulam a fagocitose de leucócitos polimorfonucleares e células endoteliais (HU et al., 1995; ZHU et al., 1991)

Já Perdígón et al. (1991), por exemplo, relataram em camundongos a proteção contra patógenos intestinais através da indução do aumento de atividade fagocítica de macrófagos peritoneais nos animais tratados com probiótico.

3.2.2 PRODUÇÃO DE ÁGUA OXIGENADA

Seguem na tabela 4 os valores médios de água oxigenada liberada pelos macrófagos ativados, com e sem PMA, de frangos de corte aos 21 dias de idade e sob os diferentes tratamentos.

Tabela 4 - Valores médios em n moles de H_2O_2 em frangos de corte, aos 21 dias de idade, sob os diferentes tratamentos

H_2O_2 (n moles)	Tratamentos				P	CV%
	Antibiótico	Prebiótico	Probiótico	Controle		
Sem PMA	3,67	3,50	4,35	3,16	0,8667	71,61
Com PMA	8,35	8,26	8,99	7,27	0,8863	56,15

P: Probabilidade.

CV(%): Coeficiente de variação.

Para o presente estudo, os aditivos alternativos não mostraram efeito significativo sobre a produção e liberação de água oxigenada pelos macrófagos ativados com o Sephadex.

Diante da escassez de estudo dos efeitos de MOS e probióticos sobre a atividade macrofágica, a discussão a seguir foi extrapolada para outros oligossacarídeos prebióticos.

Estudos *in vitro* relataram que a frutose é capaz de modular a fagocitose macrofágica e a produção de espécies reativas de oxigênio pelos fagócitos (SEIFERT; WATZL, 2007).

Wang et al. relatam alguns efeitos imunomoduladores do extrato do Ginseng Norte Americano (*Panax quinquefolium*), extrato este que contém principalmente oligossacarídeos e polissacarídeos (glicose, ácido galacturônico, arabinose, galactose, ramanose). Entre eles, foi demonstrado *in vitro* a ativação de macrófagos peritoneais de ratos, levando estas células à liberação de NO, IL-1, IL-6 e TNF- α .

Zhang e Tizzard (1996) demonstraram também *in vitro* a ativação de macrófagos de ratos pelo Acemannan (nome dado ao principal carboidrato derivado do gel de *Aloe vera*). Tal ativação promoveu a produção de NO, IL-6 e TNF- α .

Para Gelderman et al. (1998), a função macrofágica pode ser estimulada pela ligação de manose a receptores presentes na superfície celular de macrófagos. Reforçando esta idéia, Brown e Gordon (2001) relatam a identificação de receptores para manose e β -glucanas em várias células do sistema imune, incluindo neutrófilos, monócitos, macrófagos e linfócitos T.

3.3 RESPOSTA CUTÂNEA À FITOHEMAGLUTININA

Os resultados, relacionados à resposta cutânea após administração intradérmica de fitohemaglutinina no espaço interdigital de frangos de corte, estão representados na tabela 5.

Tabela 5 - Reação cutânea, em mm de aumento, após 8 (T8h-T0h) e 24 horas (T24h-T0h) da inoculação intradérmica de fitohemaglutinina em frangos de corte, aos 30 dias de idade, sob os diferentes tratamentos

Intervalos	Tratamentos				P	CV%
	Antibiótico	Prebiótico	Probiótico	Controle		
T8h-T0h	0,84	0,57	0,94	0,79	0,0616	37,00
T24h-T0h	0,83 ab	0,66 a	1,06 ab	1,12 b	0,0218	38,58

Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Tukey (P<0,05).

P: Probabilidade.

CV(%): Coeficiente de variação.

Pode-se sugerir que houve proliferação e diferenciação de linfócitos T, devido ao aumento na espessura do espaço interdigital após a inoculação intradérmica de fitohemaglutinina, caracterizando dessa forma uma resposta imune mediada por células T.

Entretanto, os aditivos alternativos não apresentaram efeito significativo positivo sobre a resposta cutânea em ambos intervalos de tempo estudados. Ainda, no intervalo de 24 horas nota-se que o grupo suplementado com prebiótico apresentou menor resposta cutânea que o controle, mas sem diferir dos demais tratamentos.

Estudando o uso de um probiótico em galinhas poedeiras, Panda et al. (2003) observaram maior resposta cutânea à fitohemaglutinina nas aves com 64 semanas de idade, tratadas com este aditivo durante o período de 24 a 72 semanas, comparado aos demais grupos experimentais.

Vesna et al. (2007) verificaram que frangos suplementados com o complexo microelemento (Fe, Cu, Zn e Mn)-polissacarídeo tiveram maior grau de hipersensibilidade à PHA que os animais suplementados com MOS e aqueles do controle.

Qureshi (2002) relata o aumento da resposta linfoproliferativa mediada por PHA na membrana dos pés de frangos suplementados com β -glucano.

Davis et al. (2002) estudaram o efeito da suplementação com MOS, em suínos, sobre a proliferação *in vitro* de linfócitos isolados do sangue e induzida por fitohemaglutinina. Os autores não encontraram efeito imunestimulante do MOS sobre a proliferação.

Outros pesquisadores, como Scaglione et al. (1990) e Dawson e Pirvulescu (1999), relatam a ativação de componentes da imunidade mediada por células através de polissacarídeos do ginseng Norte Americano (*Panax quinquefolium*) e do MOS, respectivamente.

3.4 PESO RELATIVO DOS ÓRGÃOS LINFÓIDES

Os resultados das médias dos pesos dos órgãos linfóides, em porcentagem do peso vivo de frangos de corte, sob os diferentes tratamentos, estão representados na tabela 6.

Tabela 6 - Pesos médios relativos dos órgãos linfóides: baço, bursa e timo de frangos de corte, aos 40 dias de idade, sob os diferentes tratamentos

Órgãos	Tratamentos				P	CV%
	Antibiótico	Prebiótico	Probiótico	Controle		
Bursa	0,186	0,158	0,192	0,198	0,2595	22,41
Timo	0,278 b	0,426 a	0,300 b	0,310 b	0,0007	26,47
Baço	0,091	0,105	0,109	0,102	0,3056	18,15

Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

P: Probabilidade.

CV(%): Coeficiente de variação.

Apenas para peso relativo de timo foi possível mostrar diferença estatística entre os tratamentos ($P < 0,05$). Observa-se maior peso relativo no grupo suplementado com prebiótico em relação aos demais tratamentos, que não diferiram entre si.

Kabir et al. (2004), ao suplementarem a dieta de aves com probiótico, notou maior peso relativo de baço e bursa nos animais suplementados em relação aos do controle e, relacionou este resultado ao maior título de anticorpos que estas aves apresentavam.

Qureshi (2002) relata que órgãos linfóides primários e secundários como a bursa de Fabricius, timo e baço se tornaram maiores em frangos suplementados com β -glucano comparado aos órgãos das aves controle.

Wang et al. (2001) demonstraram o maior tamanho do timo e do baço de camundongos suplementados com polissacarídeos derivados do ginseng Norte Americano (*Panax quinquefolium*).

Já Yang, Iji e Choct (2007) concordam com os resultados obtidos no presente trabalho, não observando efeito do MOS sobre o peso relativo de bursa e baço de frangos de corte.

Assim como ocorre para o desempenho zootécnico, uma diversidade de fatores pode influenciar o efeito dos aditivos alternativos sobre o sistema imune, culminando em resultados pouco conclusivos e contraditórios.

Entre esses fatores destaca-se: composição dos ingredientes da dieta; adaptação da microbiota ao composto adicionado; nível do estresse animal; excesso no consumo de um prebiótico levando a um desequilíbrio da microbiota; dosagem e via de administração dos aditivos; composição e viabilidade do probiótico; diferenças de estrutura química e propriedades físico-químicas dos compostos utilizados como prebióticos (SUNVOLD et al., 1995; LIMA, 2003; SILVA; NORNBORG, 2003).

4 CONCLUSÕES

Embora os aditivos alternativos não apresentaram efeito sobre boa parte dos parâmetros avaliados neste trabalho, não devem ser desconsiderados os efeitos imunomoduladores que muitos estudos descrevem na literatura.

Em primeiro lugar porque para alguns parâmetros, como peso relativo do timo e taxa de fagocitose, o prebiótico mostrou exercer alguma influência. Da mesma forma, ambos aditivos mostraram, ainda que apenas numericamente, uma melhor reposta vacinal contra Newcastle que os demais tratamentos aos 42 dias de idade.

Outra questão a ser considerada é existência de inúmeros fatores que podem afetar de forma negativa a expressão dos efeitos dos aditivos, conforme já citado.

Portanto, pode-se concluir que há um indício de influência sobre a imunidade. Dessa forma é recomendável a continuidade dos estudos desta natureza. Sugerem-se o uso de outros protocolos experimentais, sobre outros compartimentos do sistema imune ou até mesmo testes de imunidade local. Sendo interessante aliar a esses ensaios, o emprego de desafios sanitários mais intensos que o realizado neste estudo.

O principal objetivo é tornar mais claros os mecanismos de ação destes aditivos alternativos sobre o sistema imune.

REFERÊNCIAS

- AL-AFALEQ; HOMEIRA, A. M. Effects of low doses of oestradiol, testosterone and dihydrotestosterone on immune response of broiler chicks. **Immunopharmacology and Immunotoxicology**, v. 20, n. 2, p. 315-327, 1998.
- ALBINO, L. F. T.; FERES, F. A.; DIONIZIO, M. A.; ROSTAGNO, H. S.; VARGAS JÚNIOR, J. G.; CARVALHO, D. C. O.; GOMES, P. C.; COSTA, C. H. R. Uso de prebióticos à base de mananoligossacarídeo em rações para frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n. 3, p. 742-749, 2006.
- BALEVI, T.; UÇAN, U. S.; COSKUN, B.; KURTOGLU, V.; CETINGUL, I. S. Effect of dietary probiotic on performance and humoral immune response in layer hens. **British Poultry Science**, v. 42, p. 456-461, 2001.
- BROWN G. D.; GORDON S. A new receptor for b-glucans. **Nature**, v. 413, p. 36-37, 2001.
- BROWN-BORG, H. M.; EDENS, F. W. In vivo neurotoxin administration alters immune responses in chickens (*Gallus domesticus*). **Comparative Biotechnology and Physiology, Comparative Pharmacology and Toxicology**, v. 102C, n. 1, p. 177-183, 1992.
- BUDDINGTON, K. K.; DONAHOO, J. B.; BUDDINGTON, R. K. Dietary oligofructose and inulin protect mice from enteric and systemic pathogens and tumor inducers. **Journal of Nutrition**, v. 132, p. 472-7, 2002.
- COLLET, S. Nutrição, imunidade e produtividade. In: RONDA LATINO AMERICANA DA ALLTECH, 10., 2000, Campinas, São Paulo. **O futuro da alimentação**: anais... Campinas: Alltech, 2000. p. 20-30.
- COPPOLA, M. M.; TURNES, C. G. Probióticos e resposta imune. **Ciência Rural**, v. 34, n. 4, 2004.
- CORRIER, D. E.; DELOACH, J. R. Evaluation of Cell-Mediated, Cutaneous Basophil Hypersensitivity in Young Chickens by Interdigital Skin Test. **Poultry Science**, v. 69, p. 403-408, 1990.
- COTTER, P. F. Modulation of immune response: current perceptions and future prospects with an example from poultry. In: ALLTECH'S ANNUAL SYMPOSIUM ON

BIOTECHNOLOGY IN FEED INDUSTRY, 10., 1994, Nottingham. **Proceedings...** Loughborough, UK: Nottingham University Press, 1994. p. 105-203.

CROSS, M. L. Microbes versus microbes: immune signals generated by probiotic lactobacilli and their role in protection against microbial pathogens. **FEMS Immunology and Medical Microbiology**, v. 34, n. 4, p. 245-253, 2002.

DALLOUL, R. A.; LILLEHOJ, H. S.; SHELLEM, T. A.; DOERR, J. A. Intestinal immunomodulatory by vitamin A deficiency and *Lactobacillus*-based probiotic in *Eimeria acervulina* - infected broiler chickens. **Avian Diseases**, v. 47, p. 1313-1320, 2003.

DAVIS, M. E.; MAXWELL, C. V.; BROWN, D. C.; RODAS, B. Z.; JOHNSON, Z. B.; KEGLEY, E. B.; HELLWIG, D. H.; DVORAK, R. A. Effect of dietary mannanoligosaccharides and(or) pharmacological additions of copper sulfate on growth performance and immunocompetence of weanling and growing/finishing pigs. **Journal of Animal Science**, v. 80, p. 2887-2894, 2002.

DAVIS, M. E.; MAXWELL, C. V.; ERF, G. F.; BROWN, D. C.; WISTUBA, T. J. Dietary supplementation with phosphorylated mannans improves growth response and modulates immune function of weanling pigs. **Journal of Animal Science**, v. 82, p. 1882-1891, 2004.

DAWSON, K. A.; PIRVULESCU, M. Mananoligosaccharídeos derivados de leveduras como moduladores da resposta imunológica e alternativas aos promotores de crescimento antimicrobianos. In: RONDA LATINO AMERICANA DA ALLTECH, 9., 1999, Curitiba: **Anais...** Curitiba: Alltech, 1999. p. 33-41.

EDENS, F. W. An alternative for antibiotic use in poultry: probiotic. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 5, n. 2, p. 75-97, 2003.

ERICKSON, K. L.; HUBBARD, N. E. Probiotic immunomodulation in health and diseases. **Journal of Nutrition**, v. 130, p. 403-409, 2000.

FAIRBROTHER, A.; SMITS, J.; GRASMAN, K. A. Avian immunotoxicology. **Journal of Toxicology and Environmental Health. Part R**, v. 7, p. 105-137, 2004.

FERKET, P. R. Fatores que afetam a resposta imunológica: nutrição. In: CONGRESSO DE PRODUÇÃO E CONSUMO DE OVOS, 1., 1999, São Paulo. **Anais...** São Paulo: Associação Paulista de Avicultura, 1999. p.53-69.

FERKET, P. R. Manutenção da saúde intestinal em um mundo sem antibióticos. In: RONDA LATINO AMERICANA DA ALLTECH, 13., 2003, Campinas. **Anais...** Campinas: Alltech, 2003. p. 26-39.

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

GELDERMAN, M. P.; LEPKOWITZ, D. L.; LEPKOWITZ, S. S.; BOLLEN, A.; MOGUILEVSKY, N. Exposure of macrophages to an enzymatically inactive macrophage mannose receptor ligand augments killing of *Candida albicans*. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**, v. 217, p. 81-88, 1998.

GUO, F. C.; WILLIAMS, B. A.; KWAKKEL, R. P.; LI, H. S.; LI, X. P.; LUO, J. Y.; LI, W. K.; VERSTEGEN, M. W. A. . **Poultry Science**, v. 83, p. 175-182, 2004.

HU, S.; CONCHA, C.; COORAY, R.; HOLMBERG, O. Ginsengenhanced oxidative and phagocytic activities of polymorphonuclear leucocytes from bovine peripheral blood and stripping milk. **Veterinary Research**, v. 26, p. 155-161, 1995.

ISOLAURI, E.; SUTAS, Y.; KANKAANPAA, P.; ARVILOMMI, H.; SALMINEN, S. Probiotics: effects on immunity. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 73, n. 2, p. 444S-450S, 2001.

JIN, L. Z. Probiotic in poultry: modes of action. **World's Poultry Science Journal**, v. 53, p. 351-368, 1997.

KABIR, S. M. L.; RAHMAN, M. M.; RAHMAN, M. B.; RAHMAN, M. M.; AHMED, S. U. The Dynamics of Probiotics on Growth Performance and Immune Response in Broilers. **International Journal of Poultry Science**, v. 3, n. 5, p. 361-364, 2004.

KLASING, K. C. Nutrition and the immune system. **British Poultry Science**, v. 48, n. 5, p. 525-537, 2007.

LAAN, C. W. Fatores que afetam a resposta imunitária. In: CONGRESSO DE PRODUÇÃO E CONSUMO DE OVOS, 1., 1999, São Paulo. **Anais...** São Paulo: Associação Paulista de Avicultura, 1999. p. 43-52.

LANGHOUT, P. Alternativas ao uso de quimioterápicos na dieta de aves: a visão da indústria e recentes avanços. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2005, Santos, São Paulo. **Anais...** Campinas: FACTA, 2005. v. 2, p. 21-39.

LIMA, A. C. F. 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, 2003.

LOCHMILLER, R. L., VESTEY, M. R., AND BOREN, J. C. Relationship between protein nutritional status and immunocompetence in northern bobwhite chicks. **The Auk**, v. 110, p.503-510, 1993.

LODDI, M. M. Probióticos, prebióticos e acidificantes orgânicos em dietas para frangos de corte, 2003. 52 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Jaboticabal, 2003.

MACFARLANE, G. T.; CUMMINGS, J. H. Probiotics and prebiotics: can regulating the activities of intestinal bacteria benefit health? **British Medical Journal**, v. 18, p. 999-1003, 1999.

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, São Paulo. **Anais...** Campinas: Colégio Brasileiro de Nutrição Animal, 2003. p. 107-138.

MONTASSIER, H. J. Importância da imunidade em pintos na primeira semana. In: CONFERÊNCIA APINCO, 1998, Campinas, São Paulo. **Anais...** Campinas, 1998. p. 99-120.

MORI, E.; MORI, C. M. C.; FERNANDES, W. R. Evaluation of alveolar macrophage function in healthy horses. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 53, n. 2, p. 1-7, 2001.

OLIVEIRA, C. C.; OLIVEIRA, S. M.; BUCHI, D. F. Effects of Canova on mouse peritoneal macrophages oxidative metabolism. In: CONGRESS OF BRAZILIAN SOCIETY OF MICROSCOPY AND MICROANALYSIS, 19., 2003, Caxambu. **Proceedings...** Caxambu, 2003. p. 34-35.

OUWEHAND, A. C.; KIRJAVAINEN, P. V.; SHORTT, C.; SALMINEN, S.. Probiotics: mechanisms and established effects. **International Dairy Journal**, v. 9, p. 43-52, 1999.

PANDA, A. K.; REDDY, M. R.; RAMA RAO, S. V.; PRAHARAJ, N. K. Production Performance, Serum/Yolk Cholesterol and Immune Competence of White Leghorn Layers as Influenced by Dietary Supplementation with Probiotic. **Tropical Animal Health and Production**, v. 35, n. 1, p. 85- 94, 2003.

PERDIGON, G.; ALVAREZ, S.; HOLDAGO, A. P. R. Immunoadjuvant activity of oral *Lactobacillus casei*: influence of dose on secretory immune response and protective capacity in intestinal infections. **Journal of Dairy Research**, v. 58, p. 458-496, 1991.

PICK, E.; KEISARI, Y. A simple colorimetric method for the measurement of hydrogen peroxide produced by cells in culture. **Journal of Immunological Methods**, v. 38, p. 161-170, 1980.

PICK, E.; MIZEL, D. Rapid microassay for measurement of superoxide and hydrogen peroxide produced by macrophages in culture using an automatic enzyme immunoassay reader. **Journal of Immunological Methods**, v. 46, p. 211-226, 1981.

PURCHASE, H. G.; ARP, L. H.; DOMERMUTH, C. H.; PEARSON, J. E. **A Laboratory manual for isolation and identification of avian pathogens**. 3. ed. Dudenque, Kendall: Hunt: Publishing Company, 1989. 227 p.

QURESHI, M. A. Interação entre nutrição e o sistema imune e produtividade das aves. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2002, Campinas, São Paulo. **Anais...** Campinas: FACTA, 2002. v. 2, p. 243-251.

RAMARAO, S. V.; REDDY, M. R.; RAJU, M. V. L. N.; PANDA, A. K. Growth, nutrient utilization competence in broiler chicken fed probiotic, gut acidifier and antibacterial compounds. **Indian Journal of Poultry Science**, v. 39, n. 2, p. 125-130, 2004.

RODRIGUES, M. A. M.; SILVA, D. A. D. O.; TAKETOMI, E. A.; HERNANDEZ-BLAZQUEZ, F. J. IgA production, coliforms analysis and intestinal mucosa morphology of piglets that received probiotics with viable or inactivated cells. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 27, n. 6, p. 241-245, 2007.

RUSSO, M.; TEIXEIRA, H. C.; MARCONDES, M. C. Superoxide-independent hydrogen peroxide release by macrophages. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 22, p. 1271-1273, 1989.

SAVAGE, T. F.; COTTER, P. F.; ZAKREWSKA, E. I. Effect of feeding a mannanoligosaccharide on immunoglobulin, plasma IgG and bile IgA of Wrolstad MW male turkey. **Poultry Science**, v. 75, p. 143, 1996. Supplement 1.

SCAGLIONE, F.; FERRARA, F.; DUGNANI, S.; FALCHI, M.; SANTORO, G.; FRASCHINI, F. Immunomodulatory effects of two extracts of *Panax ginseng* C. A. Meyer. **Drugs Under Experimental & Clinical Research**, v. 16, p. 537-542, 1990.

SEIFERT, S.; WATZL, B. Inulin and Oligofructose: Review of Experimental Data on Immune Modulation. **Journal of Nutrition**, v. 137, p. 2563S–2567S, 2007.

SHASHIDHARA, R. G.; DEVEGOWDA, G. Effect of dietary mannan oligosaccharide on broiler breeder production traits and immunity. **Poultry Science**, v. 82, n. 8; p. 1319-1325, 2003.

SILVA, E. N. Probióticos e prebióticos na alimentação de aves. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2000, Campinas, São Paulo. **Anais...** Campinas: FACTA, 2000a. v. 2, p. 241-251.

SILVA, E. N. Antibióticos intestinais naturais: bacteriocinas. In: SIMPÓSIO SOBRE ADITIVOS ALTERNATIVOS NA NUTRIÇÃO ANIMAL, 2000, Campinas, São Paulo. **Anais...** Campinas: CBNA, 2000b. p. 15-24.

SILVA, L. P.; NORNBORG J. L. Prebióticos na nutrição de não-ruminantes. **Ciência Rural**, v. 33, n. 5, p. 983-990, 2003.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM (SAS). Institute Incorporation. **SAS User's guide:** statistics. 8 ed. [S.l.], 2001.

SUNVOLD, G. D.; HUSSEIN, H. S.; FAHEY JR, G. C.; MERCHEN, N. R.; REINHART, G. A. In vitro fermentation of cellulose, beet pulp, and citrus pectin using fecal inoculum from cats, dogs, horses, humans, and pigs and ruminal fluid from cattle. **Journal of Animal Science**. v. 73, p. 3639-3648, 1995.

TAKAHASHI, K.; NISHIMURA, H.; AKIBA, Y.; HORIGUCHI, E. Effects of stocking density and supplemental ascorbic acid on growth, organ weight, mixed function oxidase in hepatic microsomes, lipid metabolism and plasma corticosterone in male broiler chicks. **Animal Science Technology**, v. 62, n. 9, p. 829-838, 1991.

VESNA, T.; LAZAREVIC, M.; SINOVEC, Z.; TOKIC, A. The influence of different feed additives to performances and immune response in broiler chicken. **Acta Veterinária**, v. 57, n. 2-3, p. 217-229, 2007.

YANG, Y.; IJI, P. A.; CHOCT, M. Effects of Different Dietary Levels of Mannanligosaccharide on Growth Performance and Gut Development of Broiler Chickens. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 20, n. 7, p. 1084-1091, 2007.

YASUI, H.; OHWAKI, M. Enhancement of immune response in Peyer.s patch cells cultured with *Bifidobacterium breve*. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 74, n. 4, p. 1187-1195, 1991.

ZHANG, L.; TIZARD, I. R. Activation of a mouse macrophage cell line by acemannan: the major carbohydrate fraction from *Aloe vera* gel. **Immunopharmacology** , v. 35, p. 119-128, 1996.

ZHU, W., GAO, S., YI, Y. Effect of ginseng polysaccharides on immunologic function in mice. **Hunan Yike Daxue Xuebao**, v. 16, p. 107-110, 1991.

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.

CAPITULO V - INFLUÊNCIA DOS ADITIVOS ALTERNATIVOS A ANTIMICROBIANOS SOBRE A MORFOLOGIA INTESTINAL DE FRANGOS DE CORTE

RESUMO

Suportado em relatos de literatura, este estudo teve como objetivo avaliar o efeito de um prebiótico (MOS) e de um probiótico (*pool* bacteriano) sobre a morfologia intestinal de frangos de corte, atuando como aditivos alternativos a antimicrobianos. Foram utilizados 960 pintos de corte, criados até 42 dias de idade sobre cama reutilizada. O delineamento era inteiramente casualizado, com 4 tratamentos: DB com Antibiótico; DB com Prebiótico; DB com Probiótico; Controle (DB), sendo 8 repetições/tratamento com 30 aves cada. Aos 42 dias de idade foram coletados fragmentos do duodeno, jejuno e íleo das aves para obtenção dos seguintes parâmetros: Altura de vilos; Profundidade de criptas; Número de células caliciformes por vilão. Nas presentes condições experimentais, não foi possível observar efeito benéfico dos aditivos alternativos testados sobre a morfologia intestinal de frangos de corte. No entanto, os achados de literatura que demonstram o efeito trófico destes aditivos sobre a mucosa intestinal não devem ser descartados. Portanto, sugere-se a continuidade dos estudos nesta linha de pesquisa, visto que esse efeito pode não só contribuir com a produção animal, bem como com a terapêutica humana.

Palavras-chave: Aditivos Alternativos. Frangos de Corte. Morfologia Intestinal.

INFLUENCE OF ALTERNATIVE ADDITIVES INSTEAD OF ANTIMICROBIALS ON THE INTESTINAL MORPHOLOGY OF BROILERS

ABSTRACT

Theoretically supported by reports from the literature, this study aimed to evaluate the effect of a prebiotic (MOS) and a probiotic (bacterial *pool*), acting as alternative additives instead of antibiotics, on the intestinal morphology of broilers. In this experiment, 960 chicks were bread up to 42 days-old on litter previously used. The birds were randomly assigned to four different treatments: Basal diet (BS) with antibiotic; BS with prebiotic; BS with probiotic; and the control treatment (only BS), with eight repetitions for each treatment and 30 birds for each repetition. Fragments from the duodenum, jejunum and ileum were collected from 42 days-old broilers in order to evaluate the following parameters: Villus height; Crypt depth; Goblets cells numbers per villus. Under the present experimental conditions, it was not possible to observe any beneficial effect of the alternative additives on the intestinal morphology of broilers. However, the results from the literature which demonstrated the trophic effect of such additives must not be discarded. Thus, it is suggested the continuity of studies in this direction, since such effect may contribute for livestock and human therapeutics.

Key-words: Alternative additives. Broilers. Intestinal Morphology.

1 INTRODUÇÃO

A adequada absorção de energia e de compostos químicos pelo organismo é indispensável para a sobrevivência e o bom desempenho das aves (PELICANO, 2006).

Dibner, Kitchell e Atwell (1996) relatam que o funcionamento do trato gastrointestinal está intimamente relacionado com as estruturas do seu epitélio. Ao avaliarem o efeito dos ingredientes da dieta sobre o epitélio intestinal das aves adultas, observaram tal influência através de alterações no tamanho de vilos, na absorção dos nutrientes e, conseqüentemente, no desempenho zootécnico.

Segundo Scholten et al. (1999), uma mucosa intestinal muito espessa e com vilos baixos prejudica a absorção dos nutrientes. Seguindo a mesma linha de raciocínio, Rodrigues et al. (2007) afirmam que vilos longos no intestino delgado aumentam a área de absorção e tornam a lâmina própria mais delgada.

Vários autores acreditam que o principal efeito dos aditivos alternativos ocorre no intestino delgado dos animais monogástricos e, envolve a melhora da digestão, estímulo da imunidade gastrointestinal e resistência natural aumentada contra doenças entéricas infecciosas (COLLINS; GIBSON, 1999).

Outros especificam que estes efeitos benéficos são conseqüência do estímulo de dissacaridases presentes na borda em escova dos enterócitos, efeitos anti-adesivos e antagonistas à patógenos e inibição da ação de toxinas (CASTAGLIULE et al., 1996; LINE et al., 1998).

Por sua vez, alguns trabalhos relatam a influência destes aditivos sobre a estrutura da mucosa intestinal. Trata-se de um efeito trófico sobre ela e, sabendo-se que a estrutura influe de forma decisiva no funcionamento do trato gastrointestinal, este é um aspecto importante a ser estudado (SAVAGE et al., 1997; ICHIKAWA et al., 1999; MACARI; MAIORKA, 2000; SANTIN et al., 2001; LODDI, 2003).

Tal efeito trófico ocorre com o estímulo do desenvolvimento da mucosa intestinal, ou seja, estímulo do processo mitótico na região cripta-vilo. Conseqüentemente, aumenta o número de células e o tamanho do vilo (FURLAN; MACARI; LUQUETTI, 2004).

O processo normal de renovação celular na mucosa intestinal é decorrente de dois eventos citológicos primários associados: renovação celular (proliferação e diferenciação), resultante das divisões mitóticas sofridas por células totipotentes localizadas na cripta e ao

longo dos vilos e perda de células por descamação, que ocorre naturalmente no ápice dos vilos (UNI et al., 1996).

A manutenção do número de células e da capacidade funcional do epitélio intestinal é assegurada pelo equilíbrio entre estes dois processos (perda e proliferação celular). No entanto, quando o intestino responde a algum agente estimulador, a favor de um deles, deve ocorrer uma modificação na altura dos vilos (UNI et al., 1996).

Logo, se ocorrer aumento na taxa de mitose com ausência, diminuição ou manutenção da taxa de perda celular haverá um aumento no número de células. Conseqüentemente, observa-se maior altura dos vilos e aumento na densidade de vilos e microvilos, resultando numa maior taxa de digestão e absorção (FURLAN; MACARI; LUQUETTI, 2004).

Se o vilo reduz o seu tamanho em decorrência do aumento da taxa de perda celular, ocorrerá um aumento na produção de células da cripta. Assim, observa-se o aumento da profundidade da cripta (FURLAN; MACARI; LUQUETTI, 2004).

Spring et al. (2000) sugeriram que os mananoligossacarídeos da parede celular de leveduras ao bloquearem os sítios de ligação de bactérias patogênicas, na mucosa intestinal, reduziram os danos à mucosa. Conseqüentemente, o *turnover* das células epiteliais seria reduzido, resultando na melhor utilização dos ingredientes da dieta.

Ainda, a fermentação microbiana intestinal de oligossacarídeos produz ácidos graxos voláteis de cadeia curta. Entre estes ácidos, o butirato é particularmente importante para a estrutura e função de células epiteliais da mucosa intestinal (MARINHO et al., 2007).

Ichikawa et al. (1999) demonstraram o efeito trófico de dois diferentes probióticos (*Lactobacillus casei* e *Clostridium butyricum*) sobre o intestino delgado e grosso de ratos alimentados com dieta parenteral (com baixa quantidade de carboidratos fermentáveis). Tais autores, atribuíram a maior taxa de proliferação de células epiteliais ao aumento da produção de ácidos graxos voláteis de cadeia curta com o uso dos probióticos.

Segundo estes últimos autores, as diarréias são complicações comuns de pacientes humanos sob dieta parenteral, em função da quebra do ecossistema microbiano e atrofia da mucosa intestinal. O resultado é a promoção da invasão da mucosa por patógenos presentes no lúmen. Portanto, os probióticos representam uma medida preventiva de complicações entéricas para estes pacientes.

Além dos enterócitos, outras células presentes nos vilos e nas criptas têm importante função no trato gastrointestinal. Entre elas, destacam-se as células caliciformes secretoras do muco intestinal. O muco protege o epitélio durante a passagem de alimento, tem poder

lubrificante sobre alimentos sólidos e age como barreira protetora que impede o contato de microrganismos com as células epiteliais.

A ação de bactérias e protozoários patogênicos, causadores de lesões na mucosa, é favorecida quando a camada de muco é reduzida. Essa redução ocorre durante o jejum, alterações de dieta ou uso de antibióticos (FURLAN; MACARI; LUQUETTI, 2004).

Suportado nos relatos descritos na literatura, o presente estudo teve como objetivo avaliar a influência de aditivos alternativos a antimicrobianos, representados por um prebiótico e um probiótico, sobre a morfologia intestinal de frangos de corte.

Para tal avaliação foram considerados os vilos, criptas e células caliciformes, já que estas são importantes estruturas envolvidas no funcionamento do trato gastrointestinal.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 LOCAL E PERÍODO EXPERIMENTAL

O experimento foi conduzido em março e abril 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. Empregou-se um galpão de alvenaria dividido em 36 boxes de 4,25 m² cada, com a criação das aves em piso.

As lâminas histológicas foram preparadas no Laboratório de Histologia pertencente ao Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, Campus São Paulo, São Paulo.

A morfometria foi realizada no Laboratório de Morfofisiologia Molecular e Desenvolvimento pertencente ao Departamento de Ciências Básicas da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo.

A contagem das células caliciformes foi desenvolvida no Centro de Pesquisa em Toxicologia Veterinária (CEPTOX) pertencente ao Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, Campus Pirassununga, São Paulo.

2.2 ANIMAIS

Foram utilizados 960 pintos de um dia, machos da linhagem comercial AgRoss 308, criados até 42 dias de idade.

2.3 DIETA EXPERIMENTAL, DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E TRATAMENTOS

A dieta basal 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.

As aves foram alojadas de acordo com um delineamento inteiramente casualizado e, distribuídas em 4 diferentes tratamentos: Antibiótico; Prebiótico; Probiótico; Controle. Havia 8 repetições (boxes) por tratamento de 30 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 10 ppm 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 suplementado com prebiótico tinha como princípio ativo um mananoligossacarídeo derivado da parede celular da levedura *Saccharomyces cerevisiae*, comercializado sob o nome Bio-Mos[®] pela empresa Alltech, Curitiba -PR. O produto em pó foi adicionado à dieta na dose 1 kg/ton de ração para a fase inicial (01-21 dias) e 0,5 kg/ton de ração para as fases de crescimento (22-35 dias) e final (36-42 dias).

O grupo probiótico foi suplementado com um *pool* bacteriano, comercializado sob o nome DBA Probiótico Pó Oral para Aves[®] pela Empresa IMEVE, Jaboticabal-SP. O produto em pó foi adicionado à dieta na dose 2 kg/ton de ração nas diferentes fases de criação. A tabela 1, capítulo III, apresenta a composição deste produto e o número de Unidade Formadora de Colônia (UFC) por grama de ração ingerida.

Todos os aditivos foram utilizados conforme as recomendações do fabricante e, adicionados em substituição ao equivalente em peso de material inerte (caolim), ajustando-se as 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.

A tabela 2, capítulo III, apresenta a composição percentual e análise calculada das rações experimentais nas diferentes fases de criação.

2.4 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 do aviário experimental.

As aves foram pesadas no primeiro dia do experimento e alojadas nos boxes experimentais 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. Foram vacinados na primeira semana de vida contra coccidiose via água de bebida, com vacina viva atenuada e, de acordo com as recomendações do fabricante.

A cama de frango empregada era reutilizada. O objetivo foi estabelecer um desafio sanitário que aproximasse as condições experimentais às de campo.

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

Para prevenir que os microrganismos do tratamento suplementado com probiótico, colonizadores do trato gastrointestinal das aves e conseqüentemente do meio ambiente, contaminassem os tratamentos ausentes destas bactérias, foram adotadas algumas medidas de biossegurança durante o manejo diário dos tratamentos. Entre elas, foi ordenado o manejo de forma que os boxes do tratamento suplementado com probiótico fossem sempre os últimos a serem manejados. Também foi empregado o uso de sacos plásticos protetores nos calçados para o manejo dos boxes do tratamento com probiótico e, para o manejo da ração, utilizou-se conchas exclusivas para cada tratamento.

2.5 PARÂMETROS AVALIADOS

Seguindo de perto a metodologia descrita em Oliveira et al. (2000), aos 42 dias de idade foram coletados fragmentos do duodeno, jejuno e íleo de 8 animais por tratamento, sendo uma ave de cada repetição, para a análise da morfologia intestinal através da microscopia de luz.

Após o abate por deslocamento cervical, os fragmentos foram coletados e lavados em solução salina e fixados em solução de Bouin por 24 horas. Posteriormente foram desidratados com álcool, diafanizados, impregnados em xilol e incluídos em parafina.

Os cortes histológicos foram corados com Hematoxilina-eosina de Harris para mensuração da altura dos vilos, profundidade das criptas e contagem das células caliciformes.

Foi preparada uma lâmina por segmento intestinal de cada animal. Em cada lâmina havia três cortes semi-seriados com seis micrômetros de espessura.

Para a morfometria, utilizou-se o microscópio de luz Zeiss Axioplan 2 integrado à câmara digital e ao software AxioVision 4. Foram mensurados vinte vilos e vinte criptas por lâmina, com aumento de 12,5 vezes (Figura 1).

A contagem das células caliciformes foi realizada através da microscopia óptica num aumento de 40 vezes e utilizando-se um contador digital. Foi feita a contagem do total de células de cinco vilos por lâmina.

A partir dos valores encontrados obteve-se a média por segmento intestinal de cada animal para: altura de vilo; profundidade de cripta; número de células caliciformes por vilo.

Figura 1 - Altura de vilo e profundidade de cripta no íleo de frango de corte, aos 42 dias de idade

3 RESULTADOS

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

A tabela 1 apresenta os resultados médios referentes à morfologia intestinal.

Tabela 1 - Morfologia Intestinal: Altura de vilo (Alt. vilo); Profundidade de cripta (Prof. cripta); Número de células caliciformes por vilo (Nº cél. cal./vilo)

Parâmetros	Tratamentos				P	CV%
	Antibiótico	Prebiótico	Probiótico	Controle		
Alt. vilo (µm)						
Duodeno	1810,52 ab	1837,67 ab	1564,28 b	2140,92 a	0,0011	16,68
Jejuno	980,84 ab	952,94 b	1079,48 ab	1133,76 a	0,0177	13,11
Íleo	567,22	549,90	614,23	587,40	0,7823	21,62
Prof. cripta (µm)						
Duodeno	238,25	251,25	246,04	241,86	0,8763	13,01
Jejuno	159,60 b	168,90 b	166,94 b	207,21 a	0,0077	18,34
Íleo	126,24 ab	108,07 b	105,18 b	131,06 a	0,0058	15,23
Nº cél. cal./vilo						
Duodeno	283 ab	214 b	314 a	242 ab	0,0114	25,43
Jejuno	141	180	200	220	0,0992	35,79
Íleo	105	111	119	105	0,8133	27,57

Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Tukey (P<0,05).

P: Probabilidade.

CV(%): Coeficiente de variação.

Não foi possível observar efeito positivo dos aditivos alternativos sobre quaisquer parâmetros morfológicos avaliados, nos três segmentos intestinais. Isso porque o efeito trófico esperado seria expresso através do aumento da altura dos vilos, da profundidade de criptas e do número de células caliciformes/vilo.

Alguns autores relatam que altas profundidades de criptas indicam alta atividade proliferativa celular que pode ocorrer não só devido a um efeito trófico de um ingrediente da dieta, mas também devido a alguma injúria de mucosa por processo inflamatório (FURLAN; MACARI; LUQUETTI, 2004). Neste último caso, a finalidade é renovar perdas demasiadas na altura dos vilos.

Como no presente experimento as baixas profundidades de cripta dos aditivos alternativos não aparecem acompanhadas de maiores alturas de vilos que o controle, não se pode inferir que essa menor profundidade de cripta indique um menor *turnover* de células epiteliais com o uso dos aditivos. Sabe-se que o menor *turnover* resulta na melhor utilização dos ingredientes da dieta.

Vale lembrar que, igualmente ocorre para profundidade de cripta, o aumento do número de células caliciformes pode não ser indicativo apenas de efeito trófico de ingredientes da dieta, mas também pode representar um mecanismo de proteção contra danos causados ao epitélio intestinal.

Savage et al. (1997) ao suplementarem perus com MOS e Loddi (2003) suplementando frangos com MOS e acidificante orgânico, não só observaram o aumento da altura do vilo bem como o aumento do número de células caliciformes. Da mesma forma, Yang, Iji e Choct (2007) obtiveram o aumento na altura de vilos de frangos de corte suplementados com 0,1% e 0,2% de MOS e com bacitracina-zinco. Estes autores também observaram, durante a fase inicial de criação, a maior digestibilidade no intestino delgado de frangos suplementados com MOS.

Iji, Saki e Tivey (2001) observaram o maior comprimento dos vilos do jejuno de frangos suplementados com alto nível de MOS (0,5%), mas não observaram efeito de diferentes níveis de suplementação de MOS (0,1%; 0,3%; 0,5%) sobre a profundidade de cripta e largura do vilo no jejuno e íleo. Neste mesmo ensaio, verificaram no jejuno o aumento da atividade de enzimas digestivas (maltose, fosfatase alcalina e leucina aminopeptidase) com o uso do MOS.

Marinho et al. (2007) discutem a possibilidade do maior comprimento de vilos intestinais promover uma maior absorção da energia dos ácidos graxos voláteis derivados da fermentação microbiana de oligossacarídeos.

Alguns trabalhos também demonstram as vantagens do uso de probióticos sobre a integridade do trato gastrointestinal, dentre eles Rodrigues et al. (2007). Estes adicionaram um cultivo misto de células viáveis (*Lactobacillus acidophilus*; *Enterococcus faecium*; *Bifidobacterium bifidum*) na dieta de suínos e, observaram maior comprimento dos vilos e profundidade de criptas comparado ao grupo suplementado com *Lactobacillus acidophilus* inativado e ao grupo controle. Ainda, estes autores acreditam que a viabilidade do probiótico utilizado é um aspecto mais importante a ser considerado do que a multi ou monoespecificidade do probiótico. Isto porque, a adesão à mucosa intestinal é imprescindível para o efeito benéfico dos probióticos e, apenas células viáveis são capazes de aderir.

Awad et al. (2006) estudando o efeito do probiótico *Eubacterium sp.* em frangos que receberam ração contaminada com a micotoxina deoxivalenol, observaram que o probiótico foi capaz de reduzir as alterações morfológicas intestinais causadas pela toxina. Entre estas alterações, observa-se a promoção de vilos baixos e adelgaçados.

Por outro lado, alguns ensaios concordam com os resultados aqui apresentados. Ou seja, não demonstraram o efeito positivo dos aditivos alternativos sobre a morfologia intestinal. Entre eles, Pelicano (2006) testando probiótico (*Bacillus subtilis* e *pool* bacteriano) e MOS em frangos de corte aos 42 dias de idade e, Yang et al. (2007) estudando o efeito do MOS nestas aves.

Similarmente ao observado na maioria dos testes de imunidade apresentados neste trabalho, pode-se inferir que os resultados referentes à morfologia intestinal possam não ter expressado de forma evidente os efeitos dos aditivos alternativos em função de inúmeros fatores interferentes, já citados nos capítulos anteriores.

4 CONCLUSÕES

Nas presentes condições experimentais, não foi possível observar efeito benéfico de aditivos alternativos a antimicrobianos testados sobre a morfologia intestinal de frangos de corte. Contudo, os achados de literatura que, contrariamente aos resultados aqui apresentados, demonstram estes efeitos positivos não devem ser descartados.

Assim, sugere-se a continuidade dos estudos desta natureza, mesmo porque os efeitos benéficos podem ser aplicados não só à produção animal, mas também à saúde humana.

REFERÊNCIAS

- AWAD, W. A.; BOÏHM, J.; RAZZAZI-FAZELI, E.; GHAREEB, K.; ZENTEK, J.; Effect of addition of a probiotic microorganism to broiler diets contaminated with deoxynivalenol on performance and histological alterations of intestinal villi of broiler chickens. **Poultry Science**, v. 85, n. 6, p. 974-979, 2006.
- CASTAGLIULO, I.; LACANT, T.; NIKULASSAM, S.T.; POTHOUKAKIS, C. Effects of live *Saccharomyces boulardii* protease inhibits *Clostridium difficile* toxin. A effects in the rat ileum. **Infectious Immunology**, v. 64, p. 5225–5232, 1996.
- COLLINS, M. D.; GIBSON, G. R. Probiotics, prebiotics and synbiotics: approaches for modulation the microbial ecology of the gut. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 69, p. 1052S, 1999. Supplement 1.
- DIBNER, J. J.; KITCHELL, M. L.; ATWELL, C. A. A. The effect of dietary ingredients and age on the microscopic structure of the gastrointestinal tract in poultry. **Journal Applied Poultry Research**, v. 5, n. 3, p. 70-77, 1996.
- FURLAN R. L.; MACARI M.; LUQUETTI B. C. Como avaliar os efeitos do uso de prebióticos, probióticos e flora de exclusão competitiva. In: SIMPÓSIO TÉCNICO DE INCUBAÇÃO, MATRIZES DE CORTE E NUTRIÇÃO, 5., 2004, Balneário Camboriú, Santa Catarina. **Anais...** Balneário Camboriú, 2004. p. 6-28.
- ICHIKAWA, H.; KUROIWA, T.; INAGAKI, A.; SHINEHA, R.; NISHIHARA, T.; SATOMI, S.; SAKATA, T. Probiotic bacteria stimulate gut epithelial cell proliferation in rat. **Digestive Diseases and Sciences**, v. 44, n. 10, p. 2119-2123, 1999.
- IJI, P. A.; SAKI, A. A.; TIVEY, D. R. Intestinal structure and function of broiler chickens on diets supplemented with a mannanoligosaccharide. **Animal Feed Science and Technology**, v. 81, p. 1181-1192, 2001.
- LINE, J. E.; BAILEY, J. S.; COX, N. S.; STERN, N. J.; TOMPKINS, T. Effect of yeast supplemented feed on *Salmonella* and *Campylobacter* populations in broilers. **Poultry Science**, v. 77, p. 405–410, 1998.
- LODDI, M. M. **Probióticos, prebióticos e acidificantes orgânicos em dietas para frangos de corte**. 2003. 52 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2003.

MACARI, M.; MAIORKA, A. Função gastrointestinal e seu impacto no rendimento avícola. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2000, Campinas, São Paulo. **Anais...** Campinas: FACTA, 2000. v. 2, p. 455-457.

MARINHO, M. C.; PINHO, M. A.; MASCARENHAS, R. D.; SILVA, F. C.; LORDELO, M. M.; CUNHA, L. F.; FREIRE, J. P. B. Effect of prebiotic or probiotic supplementation and ileo rectal anastomosis on intestinal morphology of weaned piglets. **Livestock Science**, v. 108, p. 240–243, 2007.

PELICANO, E. R. L. **Desempenho, qualidade de carne e desenvolvimento da mucosa intestinal de frangos produzidos com probióticos e prebióticos**. 2006. 117 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2006.

OLIVEIRA, P. B.; MURAKAMI, A. E.; GARCIA, E. R. M.; MACARI, M.; SCAPINELLO, C. Influência de fatores antinutricionais da Leucena (*Leucaena leucocephala* e *Leucaena cunningham*) e do Feijão Guandu (*Cajanus cajan*) sobre o epitélio intestinal e o desempenho de frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, n. 6, 2000.

RODRIGUES, M. A. M.; SILVA, D. A. D. O.; TAKETOMI, E. A.; HERNANDEZ-BLAZQUEZ, F. J. IgA production, coliforms analysis and intestinal mucosa morphology of piglets that received probiotics with viable or inactivated cells. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 27, n. 6, p. 241-245, 2007.

SANTIN, E.; MAIORKA, A.; MACARI, M.; GRECCO, M.; SANCHEZ, J. C.; OKADA, T. M.; MYASAKA, A. M. Performance and intestinal mucosa development of broiler chickens fed diets containing *Saccharomyces cerevisiae* cell wall. **Journal Applied Poultry Research**, v. 10, p. 236-244, 2001.

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

SCHOLTEN, R. H. J.; VAN DER PEET-SCHWERING, C. M. C.; VERSTEGEN, M. W. A.; HARTOG, I. A.; SCHRAMA, J. .M.; VESSEUR, P. C. Fermented co-products and fermented compound diets for pigs: a review. **Animal Feed Science and Technology**, v. 82, p. 1-19, 1999.

SPRING, P.; WENK, C.; DAWSON, A.; NEWMAN, K. E. The effects of dietary mannanoligosaccharides on cecal parameters and the concentrations of enteric bacteria in ceca of salmonella-challenged broiler chicks. **Poultry Science**, v. 79, p. 205-211, 2000.

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

YANG, Y.; IJI, P. A.; CHOCT, M. Effects of different dietary levels of mannanoligosaccharide on growth performance and gut development of broiler chickens. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 20, n. 7, p. 1084-1091, 2007.

YANG, Y.; IJI, P. A.; KOCHER, A.; MIKKELSEN, L. L.; CHOCT, M. Effects of Mannanoligosaccharide on growth performance, the development of gut microflora, and gut function of broiler chickens raised on New Litter. **Journal Applied Poultry Research**, v. 16, p. 280–288, 2007.