VINICIUS DIOGO AZEVEDO MURAROLLI

**Efeito de prebiótico, probiótico e simbiótico sobre o
desempenho, morfologia intestinal e imunidade de frangos
de corte**

Pirassununga
2008

VINICIUS DIOGO AZEVEDO MURAROLLI

**Efeito de prebiótico, probiótico e simbiótico sobre o desempenho, morfologia intestinal e
imunidade de frangos de corte**

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

Departamento:

Nutrição e Produção Animal

Área de Concentração:

Nutrição e Produção Animal

Orientador:

Prof. Dr. Ricardo de Albuquerque

Pirassununga
2008

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

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

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

T.2041
FMVZ

Murarolli, Vinicius Diogo Azevedo

Efeito de prebiótico, probiótico e simbiótico sobre o desempenho, morfologia intestinal e imunidade de frangos de corte / Vinicius Diogo Azevedo Murarolli. – Pirassununga : V. D. A. Murarolli, 2008.
101 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 e Produção Animal.
Área de concentração: Nutrição e Produção Animal.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo de Albuquerque.

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

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Efeito de prebióticos, probióticos e simbióticos sobre o desempenho, morfologia intestinal e imunidade de frangos de corte", protocolado sob o nº1179/2007, utilizando 1400 (um mil e quatrocentos) frangos, 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 "Effect of prebiotic, probiotics and symbiotics on performance, intestinal morphology and immunity in diets for broiler chickens", utilizing 1400 (one thousand, four hundred) chickens, protocol number 1179/2007, under the responsibility Prof. Dr. Ricardo de Albuquerque, agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by Bioethic Commission of the School of Veterinary Medicine and Animal Science of University of São Paulo was approved "ad referendum" meeting).

São Paulo, 12 de março de 2008

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

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome: MURAROLLI, Vinicius Diogo Azevedo

Título: **Efeito de prebiótico, probiótico e simbiótico sobre o desempenho, morfologia intestinal e imunidade de frangos de corte**

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

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr.: _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr.: _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr.: _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Airton e Neide, por todo o apoio, compreensão, carinho e paciência em todos os desafios e momentos da minha vida e, aos meus irmãos, Flaveli e Rafael, pelo apoio, amizade e bons momentos, dedico.

AGRADECIMENTO

A Deus, por ter me proporcionado momentos maravilhosos e sempre iluminar os meus caminhos.

Aos meus pais que, sempre me apoiaram e incentivaram para a conclusão do curso.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Ricardo de Albuquerque, quem muito admiro, pela oportunidade, dedicação, confiança, amizade e apoio durante esses 2 anos no desenvolvimento e conclusão deste trabalho.

A Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Departamento de Nutrição e Produção Animal por ter possibilitado a realização do curso de Mestrado.

Aos professores Messias, Marcos, Francisco, Gobesso, Luis Felipe, Paulo e Aníbal por todo o conhecimento transmitido durante todo o curso.

A Fundação de Amparo e Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo apoio financeiro para a realização deste trabalho.

A empresa Biocamp pelo fornecimento dos produtos testados, bem como a Tortuga que forneceu os suplementos vitamínico-minerais utilizados.

Ao Edinho e China, funcionários do Aviário Experimental, por toda a amizade, risadas, e ajuda na condução do experimento a campo.

A todos do Centro de Pesquisa em Toxicologia Veterinária (CEPTOX), em especial, Ester, Paulo César (PC) e a Ísis pela orientação, sugestão e ajuda na execução deste trabalho.

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

A minha namorada Natalie por todo amor, carinho, paciência e apoio demonstrado.

Aos meus irmãos Flaveli e Rafael, pela ajuda na revisão do conteúdo. À minha cunhada Marina, pela revisão da tradução dos resumos.

A todos os meus colegas do curso de Pós-Graduação, Bruno, Gilson, Paulinha, Estelinha, Francine, Paschoal, Rodrigo, Rafael Bueno, Willian, Walter, Samuel, Renata, Camila, Arthur, Daniel, Flávio, Rafael, Caroline, Zé Esler, Milton, Juliane, Daniella, Marina, Octávio, Leonardo, Paula, Érica, Jefferson, Vánios, André, Rodrigo Pullici.

A Giovana e ao Prof. Dr. Flávio responsável 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 morfologia intestinal.

RESUMO

MURAROLLI, V. D. A. **Efeito de prebiótico, probiótico e simbiótico sobre o desempenho, morfologia intestinal e imunidade de frangos de corte.** [Effect of Prebiotic, Probiotic and Symbiotic in broiler performance, intestinal morphology and immunity]. 2008. 101 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2008.

A possível indução de resistência bacteriana devido a inclusão de antibióticos, e a pressão dos consumidores por produtos de qualidade, levaram a proibição do uso dos mesmos na alimentação animal. Diante destes acontecimentos, as buscas por alternativas como os prebióticos, probióticos e simbióticos em substituição aos antibióticos vêm sendo bastante enfatizados na alimentação animal pois, estes, além de proporcionarem uma modulação benéfica da microbiota intestinal, atuam na diminuição do estresse imunológico. Portanto, o presente estudo teve como objetivo verificar a influencia de prebiótico, probiótico e simbiótico sobre o desempenho, morfologia intestinal e imunidade de frangos de corte em substituição ao antibiótico. Foram utilizados 1400 pintos de corte, criados até 42 dias de idade, em um delineamento inteiramente casualizado, com 5 tratamentos: Controle; Probiótico; Prebiótico; Simbiótico (prebiótico + probiótico); Antibiótico, 7 repetições/tratamento com 40 aves cada. Quanto ao desempenho, considerando o período total de criação e nas condições em que o experimento foi conduzido, não foi possível mostrar influência dos aditivos testados nos parâmetros zootécnicos avaliados. Já para imunidade, observou-se um efeito de prebiótico para resposta vacinal contra a doença de Newcastle aos 28 dias e um efeito de prebiótico para peso relativo de baço. Com relação à morfologia intestinal observou-se que o probiótico, quando adicionado à dieta, apresentou uma menor altura de vilo de jejuno e um efeito de interação de forma antagônica para altura de vilo do íleo. Além disso, no parâmetro de profundidade de cripta, verificou-se um efeito de interação de forma antagônica para o duodeno e um efeito de probiótico no jejuno, sendo que o probiótico, ao ser adicionado à dieta apresentou menor valor. Por fim a presença de prebiótico na dieta aumentou o número de células caliciformes tanto no duodeno como no jejuno.

Palavras-chave: Aditivos. Desempenho. Morfologia intestinal. Imunidade. Frangos de corte.

ABSTRACT

MURAROLLI, V. D. A. **Effect of Prebiotic, Probiotic and Symbiotic in broiler performance, intestinal morphology and immunity.** [Efeito de prebiótico, probiótico e simbiótico sobre o desempenho, morfologia intestinal e imunidade de frangos de corte]. 2008. 101 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2008.

The market pressures, since consumers require products with high quality, and the possible inducement for the bacterian resistance due to the inclusion of antibiotics as well, have caused the prohibition of the referred antibiotics in animal alimentation. Considering this event, alternatives like prebiotics, probiotics and symbiotics have been emphasized in animal alimentation because they provide intestinal microbiota benefits and less immunologic stress. Therefore, this study evaluated the influence of prebiotic, probiotic and symbiotic in broiler performance, as well as in their intestinal morphology and immunity in antibiotics replacement. 1400 day-old broiler chicks were used during 42 days, in a randomized block design, with 5 treatments: Control, Probiotic, Prebiotic, Symbiotic (prebiotic + probiotic) and Antibiotic. There were 7 repetition with 40 chicks each. Regarding the performance, there was no influence from the tested additives, considering the zoothechnics parameters studied. Considering the immunity, there was a prebiotic effect for the antibodies response against Newcastle disease on the 28th day, and a prebiotic effect to the spleen weigh. Regarding the intestinal morphology, it was observed that when the probiotic was added to the diet, it showed a shorter jejunum villus and an antagonic interaction effect for ileum villus height. Besides, there was antagonic interaction effect for the duodenum crypt depth and a probiotic effect in the jejunum. Still considering the jejunum, it was observed that when the probiotic was added to the diet, it shows lower results. The prebiotic presence in the diet also shows the increase of the caliciform cells number in both duodenum and jejunum.

Keywords: Additives. Performance. Intestinal morphology. Immunity. Broiler.

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO III

Tabela 1 – Composição Percentual e Análise Calculada das Rações Experimentais	46
Tabela 2 – Composição dos suplementos vitamínico-minerais (vit.-min.) utilizados.	47
Tabela 3 – Esquema de contratos para estudo de diferentes respostas e de interação.....	49
Tabela 4 – Médias de ganho de peso (GP), consumo de ração (CR), conversão alimentar (CA) e mortalidade (M) de frangos de corte nos intervalos: 01-07; 01-14 e 01-21 dias de idade, sob os diferentes tratamentos.....	51
Tabela 5 – Médias de ganho de peso (GP), consumo de ração (CR), conversão alimentar (CA) e mortalidade (M) de frangos de corte nos intervalos: 01-28; 01-35 e 01-42 dias de idade, sob os diferentes tratamentos.....	52

CAPÍTULO IV

Tabela 1 – Médias dos títulos de anticorpos contra o vírus da doença de Newcastle em frangos de corte aos 14, 28 e 35 dias de idade.	75
Tabela 2 – Pesos médios relativos dos órgãos linfóides: bursa, timo e baço de frangos de corte aos 42 dias de idade, sob os diferentes tratamentos.	78

CAPÍTULO V

Tabela 1 – Médias das medidas de morfologia intestinal de frangos de corte dos diferentes tratamentos.....	95
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS E LISTAS

µm	micrometro
Alt.	altura
CA	Conversão Alimentar
cal.	caliciformes
CD3	<i>Cluster of differentiation</i> – Molécula presentes em todos os linfócitos T
CD4	<i>Cluster of differentiation</i> – Molécula presentes em todos os linfócitos T - helper
CD8	<i>Cluster of differentiation</i> – Molécula presentes em todos os linfócitos T citotóxicos
CR	Consumo de Ração
CV	Coeficiente de variação
DB	Dieta Basal
ELISA	Enzyme – Linked Immunosorbent Assay – Ensaio Imuno-Enzimático
FOS	Frutoligossacarídeos
g	gramas
GOS	glucoligossacarídeos
GP	Ganho de Peso
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
mg	miligrama
mcg	micrograma
m ²	metro quadrado
ml	mililitro
M	Mortalidade
MOS	mananoligossacarídeos
NK	<i>natural killer</i>

ONGs	Organizações não governamentais
P	Probabilidade
ppm	parte por milhão
Prof.	profundidade
<i>S.</i>	<i>Streptococcus</i>
SAS	Statistical Analysis System
sp	espécie
ssp	espécies
ton	tonelada
UFC	Unidade Formadora de Colônia
UI	Unidade Internacional
vit.	vitamina
vit-min.	vitamínico-mineral
VG/GA	<i>Villegas Glisson/Georgia</i>

SUMÁRIO

CAPITULO I – INTRODUÇÃO	17
CAPITULO II – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
1 INTRODUÇÃO	18
2 PROBIÓTICO	21
3 PREBIÓTICO.....	24
4 SIMBIÓTICO	27
5 IMUNIDADE	28
6 MORFOLOGIA INTESTINAL	30
REFERÊNCIAS.....	32
CAPITULO III – INFLUÊNCIA DE PROBIÓTICO, PREBIÓTICO E SIMBIÓTICO SOBRE O DESEMPENHO DE FRANGOS DE CORTE.....	39
RESUMO	39
ABSTRACT.....	40
1 INTRODUÇÃO	41
2 MATERIAL E MÉTODOS	44
2.1 LOCAL E PERÍODO EXPERIMENTAL	44
2.2 ANIMAIS	44
2.3 DIETA EXPERIMENTAL	44
2.4 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E TRATAMENTOS.....	45
2.5 MANEJO DAS AVES	47
2.6 PARÂMETROS AVALIADOS	48
2.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	49
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	50
3.1 GANHO DE PESO (GP).....	53
3.2 CONSUMO DE RAÇÃO (CR).....	55

3.3 CONVERSÃO ALIMENTAR (CA).....	56
3.4 MORTALIDADE (M).....	57
4 CONCLUSÃO.....	58
REFERÊNCIAS.....	59
CAPITULO IV – INFLUÊNCIA DE PROBIÓTICO, PREBIÓTICO E SIMBIÓTICO EM PARÂMETROS DE RESPOSTA IMUNE DE FRANGOS DE CORTE.	64
RESUMO	64
ABSTRACT.....	65
1 INTRODUÇÃO	66
2 MATERIAL E MÉTODOS	69
2.1 LOCAL E PERÍODO EXPERIMENTAL	69
2.2 ANIMAIS	69
2.3 DIETA EXPERIMENTAL	69
2.4 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E TRATAMENTOS.....	70
2.5 MANEJO DAS AVES	71
2.6 PARÂMETROS AVALIADOS	72
2.6.1 Imunidade humoral	72
2.6.1.1 Resposta à vacina de Newcastle	72
2.6.2 Peso relativo dos órgãos linfóides	72
2.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	73
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	74
3.1 RESPOSTA A VACINA DE NEWCASTLE	74
3.2 PESO RELATIVO DOS ÓRGÃOS LINFÓIDES	77
4 CONCLUSÃO.....	80
REFERÊNCIAS.....	81

CAPITULO V – INFLUÊNCIA DE PROBIÓTICO, PREBIÓTICO E SIMBIÓTICO SOBRE A MORFOLOGIA INTESTINAL DE FRANGOS DE CORTE.....	84
RESUMO	84
ABSTRACT	85
1 INTRODUÇÃO	86
2 MATERIAL E MÉTODOS	89
2.1 LOCAL E PERÍODO EXPERIMENTAL	89
2.2 ANIMAIS	89
2.3 DIETA EXPERIMENTAL	90
2.4 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E TRATAMENTOS.....	90
2.5 MANEJO DAS AVES	91
2.6 PARÂMETROS AVALIADOS	92
2.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	93
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	94
4 CONCLUSÃO.....	98
REFERÊNCIAS.....	99

CAPITULO I – INTRODUÇÃO

A avicultura de corte possui grande importância na economia brasileira, por ser um dos mais modernos e eficientes setores de produção, gera grande número de empregos e renda para o país. Entretanto, o desenvolvimento da avicultura moderna que conhecemos se tornou possível por um conjunto de fatores, entre estes fatores está a nutrição.

A busca constante por uma alta produtividade, visando sempre a qualidade do produto final, mas com baixo custo, fez com que a inclusão de antibióticos como promotor de crescimento na alimentação animal fosse inevitável. Entretanto, o uso dos antibióticos em concentrações sub-terapêuticas por mais de 50 anos, resultou no desenvolvimento de populações bacterianas resistentes nos animais e no homem. Diante disso, grupos de consumidores começaram a apresentar restrição ao consumo de produtos avícolas que tem antibióticos incluídos na alimentação das aves.

A partir daí, começaram os estudos de produtos que poderiam substituir os antibióticos na alimentação animal, sem que houvesse a perda de produtividade e qualidade do produto final.

Uma alternativa encontrada foi a utilização de prebióticos, probióticos e simbióticos, que vem demonstrando uma eficiência na modulação benéfica da microbiota intestinal, na resposta imunológica e no desempenho zootécnico sem aumentar os custos de produção.

Diante deste contexto, o objetivo do presente trabalho de pesquisa foi verificar a influência de prebiótico, probiótico e simbiótico sobre o desempenho, morfologia intestinal e imunidade de frangos de corte em substituição ao antibiótico.

CAPITULO II – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1 INTRODUÇÃO

A avicultura brasileira é, sem dúvida, o setor da produção animal mais moderno e eficiente do país, além de um dos mais competitivos a nível mundial (ARAUJO et al., 2007). O que se busca, através do desenvolvimento de novas técnicas de manejo, uso de tecnologia, controle sanitário e constante melhoramento genético é a redução nos custos de produção e o aumento da produtividade (FURLAN et al., 2004).

Um dos fatores que contribui para o aumento da produtividade é, sem duvida, a utilização de aditivos na dieta. O termo aditivo inclui todas as substâncias, as quais, quando adicionadas às rações, são capazes de melhorar o desempenho animal ou as características físicas dos alimentos (SILVA, 2000; ARAUJO et al., 2007).

A pouca diversidade da microflora intestinal de aves recém-nascidas, além de ser considerada como um fator limitante para a digestão, também possibilita a colonização intestinal por patógenos entéricos. O efeito negativo desse processo tem sido contornado, em parte, com o uso de aditivos antimicrobianos (LORENÇON et al., 2007).

Os promotores de crescimento são os principais aditivos antimicrobianos de uso na alimentação animal, entre os produtos incluem-se os antibióticos (substâncias produzidas por fungos, leveduras ou bactérias que atuam contra bactérias) e os quimioterápicos (substâncias obtidas por síntese química, com ação semelhante à dos antibióticos) (MENTEN; LODDI, 2003).

Os antibióticos vêm sendo utilizados com sucesso nas rações de aves desde a década de 50 quando, pesquisadores descobriram que além de atuarem no tratamento de infecções do trato gastrointestinal e na terapêutica (FLEMMING, 2005), quando utilizados em doses sub-terapêuticas melhoravam sensivelmente o crescimento e a eficiência de produção (BUTOLO, 1999; DIONIZIO, 2002; MENTEN; LODDI, 2003; FLEMMING, 2005; LORENÇON et al., 2007). Seu uso na ração impede que os microrganismos patogênicos invadam e se multipliquem no intestino do animal, permitindo assim que os nutrientes da dieta sejam aproveitados para o tecido de crescimento do músculo ao invés do sistema imune (CORNELI, 2004; ARAUJO et al., 2007).

O uso de antibióticos como moduladores de microrganismos no trato gastrointestinal, ocorreu inicialmente em doses baixas com resultados significativos sobre os parâmetros produtivos e, posteriormente, com o uso continuado, houve a necessidade de doses crescentes até exaurir-se a droga com efeitos pouco significativos (LANCINI, 1994).

No entanto, as discussões sobre os riscos da utilização das dosagens sub-terapêuticas de antibióticos como promotores de crescimento já existem há mais de 40 anos (DAWSON; PIRVULESCU, 1999). A principal preocupação é que o uso contínuo de antibióticos possa levar ao desenvolvimento e disseminação de populações bacterianas resistentes, e que essa resistência possa ser transferida aos microrganismos patogênicos, representando então, um risco, tanto para a saúde humana quanto animal (DAWSON; PIRVULESCU, 1999; MENTEN; LODDI, 2003).

Atualmente, diversas organizações têm se manifestado contra o uso desse aditivo (antibiótico) em rações avícolas. Setores de imprensa, órgãos ligados a saúde, ONGs, entre outros, estão sensibilizando a opinião pública, principalmente em países desenvolvidos, como os europeus, quanto aos possíveis problemas da adição de antibióticos nas rações, estimulando restrições por parte do mercado consumidor de carne e ovos (ALBINO et al., 2006). A partir de 1 de janeiro de 2006, a Comunidade Econômica Européia (CEE) decretou o banimento do uso de antibióticos como promotor de crescimento em alimentação animal (COUNCIL OF THE EUROPEAN UNION, 2003).

Setores da saúde pública do Brasil têm se manifestado contra os antibióticos e a sua proibição é iminente, seguindo a tendência mundial e obedecendo as normas internacionais para o banimento completo dos antibióticos (MILTENBURG, 2000). Muitos aditivos utilizados no passado estão proibidos como: tetraciclina, penicilina, cloranfenicol, sulfonamidas sistêmicas, furazolidona, nitrofurazona e avorpacina. No Brasil ainda estão autorizados como promotores de crescimento de frangos de corte os seguintes produtos: ácido 3-nitro, ácido arsanílico, avilamicina, colistina, flavonicina, loncomicina, tilosina, virginamicina, bacitracina, espiramicina e enramicina (ALBUQUERQUE, 2005).

A análise dos resultados advindos do banimento de alguns aditivos antimicrobianos efetuado por alguns países da União Européia como a Suécia e Finlândia, traz informações relevantes sobre o uso destes produtos. De fato, após essa proibição e decorridos alguns anos da mesma, foram observados: 6% de piora na conversão alimentar, 5% de redução no ganho de peso, 4% de aumento no uso de medicamentos veterinários destinados a uma terapêutica curativa, 12% de redução na margem bruta de lucro entre os melhores criadores, 30% de

redução entre aqueles de pior desempenho e 1,6% de aumento na mortalidade total dos animais.

Mais recentemente, dados levantados em sete países da Comunidade Européia revelaram o impacto econômico representado pela proibição do uso de antibióticos como promotores de crescimento, sendo estimado uma perda ocorrida da ordem de 176 milhões de dólares/ano para a carne de frango e 30 milhões de dólares/ano para os ovos (ALBUQUERQUE, 2005). Mas para alguns pesquisadores, a proibição do uso de antibióticos como promotores de crescimento, não teriam um impacto econômico tão intenso. Rosen (1996) revisou resultados publicados em aproximadamente 12.000 experimentos em que antibióticos foram utilizados e constatou que em 72% deles ocorreram respostas positivas no desempenho dos animais. No entanto, Menten e Loddi (2003) observaram em experimentos realizados no Brasil nos últimos anos, que as respostas aos antibióticos nas rações de frangos de corte foram de pequena magnitude, a maioria delas não significativa e em alguns casos até mesmo negativa. Alguns trabalhos relatam ainda que, aves e suínos produzidos em ambiente livre de contaminações microbianas, “germ-free”, não se beneficiariam do efeito promotor de crescimento de antibióticos (MENTEN; LODDI, 2003).

De qualquer forma, devido à pressão da sociedade contra o uso, e várias campanhas para banir os antibióticos utilizados na alimentação animal como promotores de crescimento, e diante, da necessidade da manutenção e até mesmo do aumento dos níveis produtivos, faz-se necessária a busca constante por alternativas a serem utilizadas na alimentação das aves, para garantir o desempenho produtivo e ao mesmo tempo a segurança alimentar dos consumidores. Nesse sentido, novos conceitos de aditivos passíveis de substituírem os antibióticos na produção de frangos de corte começaram a ser formados (ALBINO et al., 2007). Entre eles, estão os prebióticos, probióticos e simbióticos que vêm sendo bastante enfatizados na alimentação animal, pois além de serem alternativas eficazes e econômicas para que os antibióticos sejam utilizados quando realmente necessários, ainda podem contribuir na melhoria do desempenho animal. (MACARI; FURLAN, 2005; ARAUJO et al., 2007).

2 PROBIÓTICO

O termo probiótico deriva do grego e significa “pró-vida”, sendo o antônimo de antibiótico que significa “contra-vida” (COPPOLA; TURNES, 2004).

Os primeiros relatos do consumo de microrganismos, influenciando na saúde, foram realizados por Metchnikoff em 1907 ao observar e descrever que camponeses da Bulgária, que consumiam leite fermentados (um exemplo de probiótico) com *Lactobacillus acidophilus*, apresentavam maior longevidade. Essa longevidade foi atribuída à baixíssima incidência de câncer no cólon e a proteção contra infecções gastrintestinais relacionadas ao consumo de grandes quantidades de leite fermentado por bactérias produtoras de ácido láctico (SILVA, 2000; ALBUQUERQUE, 2005; MACARI; FURLAN, 2005). Entretanto, o termo probiótico foi usado pela primeira vez por Lilly e Stillwell (1965) ao verificarem a ação de microrganismos como promotores de crescimento. Posteriormente, Parker (1974) definiu probióticos como microrganismos ou substâncias que contribuem para o balanço da microbiota intestinal.

O conceito moderno de probiótico foi definido por Fuller (1989) como sendo “um suplemento alimentar constituído de microrganismos vivos capazes de beneficiar o hospedeiro através do equilíbrio da microbiota intestinal”. Mais tarde, o mesmo autor considerou que, para serem considerados como probióticos, “os microrganismos deveriam ser produzidos em larga escala, permanecendo estáveis e viáveis em condições de estocagem, serem capazes de sobreviver no ecossistema intestinal e possibilitar ao organismo os benefícios de sua presença”.

Nas condições atuais de produção em escala industrial de aves de corte, o manejo exclui o contato do pinto com a galinha, impedindo a inoculação, com microrganismos benéficos através do contado direto com a mãe. Ao serem alojadas em aviários, as aves estão sujeitas as morbidades do meio ambiente no qual existem os diferentes microrganismos, desde aqueles desejáveis e benéficos (flora normal) até aqueles indesejáveis e por vezes patógenos, como é o caso de bactérias dos gêneros *Clostridium*, *Salmonella*, *Escherichia coli*, entre outros (DAY, 1992; MENTEN; PEDROSO, 2005). Assim o equilíbrio entre a flora intestinal e o hospedeiro pode ser desafiado pelo potencial invasivo dos microrganismos que vivem em meio ambiente comum aos aviários e instalações avícolas (FLEMMING, 2005). Entretanto, em equilíbrio, o trato intestinal consegue de forma mais eficiente absorver nutrientes e

impedir a fixação e multiplicação de agentes patogênicos na mucosa intestinal (FERNANDES et al., 2000), prevenindo desta forma as instalações de doenças entéricas e consequentemente melhorando a produtividade, diminuindo a mortalidade e a contaminação dos produtos de origem animal (EDENS, 2003; PATTERSON; BURKHOLDER, 2003).

Portanto, para uma boa eficiência, os probióticos devem ser utilizados já nos primeiros dias de vida (LORENÇON, 2007), para que possam modular benéficamente a microbiota intestinal, através dos seus mecanismos de ações benéficas ao hospedeiro como a competição por sítios de ligação (aderência a sítios de ligações no epitélio intestinal) e nutrientes (competição ocorre entre as bactérias por seus nutrientes específicos), produção de substâncias antibacterianas (produção de compostos como bacteriocinas), supressão da produção de amônia (reduzindo a produção intestinal por amônia), neutralização de enterotoxinas e assim favorecer melhores índices zoeconômicos, maior produtividade, aumento no ganho de peso, melhor conversão alimentar, e o estímulo do sistema imune, antes desse ser contaminado por alguns patógenos (FULLER, 1989; JIN et al., 1997; ANDREATTI FILHO; SAMPAIO, 2000; SILVA, 2000a; ANDREATTI FILHO; SILVA, 2005). Segundo Andreatti Filho e Silva (2005), a administração dos probióticos logo na chegada das aves ao aviário ou mesmo, ainda, no incubatório, é a mais indicada diante da possibilidade cada vez mais freqüente da contaminação precoce por *Salmonella spp.*

O modo de administração dos probióticos pode ser o mais variado possível (adicionado na ração, em água de bebida, pulverização sobre as aves, inoculação em ovos embrionados, através da cama usada em cápsulas gelatinosas e via intra-esofagiana), e determina uma melhor ou pior capacidade de colonização intestinal pelas bactérias presentes no produto utilizado (SILVA, 2000; ANDREATTI FILHO; SIVA, 2005).

As principais cepas bacterianas utilizadas no preparo de probióticos incluem: *Lactobacillus spp*, *Bifidobacterium sp*, *Enterococcus faecium* e *Bacillus spp* (SIMON et al., 2001; FERREIRA et al., 2002). Contudo, ainda não é conhecida a composição microbiana ideal de um produto probiótico, mas a eficácia do mesmo é estritamente dependente da quantidade e das características das cepas bacterianas utilizadas na elaboração do aditivo alimentar. Muitas vezes estes aditivos não produzem bons resultados, pois não utilizam microrganismos que atendam os requisitos para atuar como probiótico, como, por exemplo, sobreviver às condições adversas do trato gastrointestinal (ação da bile e dos sucos gástricos, pancreáticos e entéricos); não ser tóxico e ou patogênico; ter capacidades antagonistas às

bactérias intestinais indesejáveis; ser altamente viável e estável durante a estocagem, além de, comprovadamente, benéfico ao hospedeiro (JIN et al., 1997; TOURNUT, 1998).

Assim, Santos e Turnes (2005), em revisão bibliográfica, concluíram que os probióticos, além de mudarem a estrutura da microflora bacteriana do trato gastrintestinal das aves, podem prevenir infecções e melhorar a qualidade da carcaça, mantendo os mesmos índices de produtividade alcançados com a utilização de antimicrobianos, reduzindo a mortalidade, as condenações de carcaças, melhorando a conversão alimentar e o ganho de peso.

3 PREBIÓTICO

Os estudos sobre os prebióticos são antigos, na década de 50, a descoberta de que o leite humano possui compostos que atuam como inibidores de adesão de bactérias patogênicas na superfície epitelial e potencializam o crescimento das populações de bifidobactérias e lactobacilos, aliviando os sintomas de encefalopatia hepática em bebês (WALKER; DUFFY, 1998; NICOLI; VIEIRA, 2000) incentivou outras explorações sobre o efeito do consumo de compostos não digestíveis na microbiota intestinal (KULLEN et al., 1998; SHEEHY; MORRISSEY, 1998; STRICKLING et al., 2000).

Em 1995, Gibson e Roberfroid definiram prebióticos como sendo ingredientes alimentares que são digeridos na porção proximal do trato gastrointestinal de monogástricos e que proporcionam efeito benéfico no hospedeiro por estimular seletivamente o crescimento e/ou metabolismo de um limitado grupo de bactérias no cólon. Outro aspecto importante é que para ser considerado um prebiótico, o ingrediente não poder ser hidrolisado ou absorvido no intestino anterior (intestino delgado), seja um substrato seletivo para um determinado grupo de bactérias benéficas, seja capaz de alterar a microbiota intestinal de forma favorável ao hospedeiro e possa induzir efeitos benéficos sistêmicos ou na luz intestinal (ANDREATTI FILHO; SILVA, 2005).

Portanto, carboidratos não digeríveis como oligossacarídeos, alguns peptídeos não digeríveis, lipídeos, fibras e álcoois de açúcares podem ser considerados como prebióticos. Os oligossacarídeos são carboidratos constituídos de cadeias curtas de polissacarídeos, compostos de três a dez açúcares simples ligados entre si (SILVA, 2000a; ANDREATTI FILHO; SILVA, 2005; JUNQUEIRA; DUARTE, 2005). Assim, as substâncias que têm sido mais estudadas como prebióticos são os oligossacarídeos, principalmente os frutoligossacarídeos (FOS), glucoligossacarídeos (GOS) e os mananoligossacarídeos (MOS). FOS são polímeros ricos em frutose, podendo ser naturais, derivados de plantas (inulina) como chicória, alcachofra, dália, alho e cereais ou sintéticos, resultantes da polimerização da frutose (GIBSON; ROBERFROID, 1995; IJI; TIVEY, 1998). GOS e MOS são obtidos a partir da parede celular de leveduras e contém glucose e manose, respectivamente, como os dois principais açúcares em proporções semelhantes e N-acetilglucosamina. O MOS, adicionado às dietas animais consiste de fragmentos de parede celular de *Saccharomyces cerevisiae* com uma estrutura complexa de manose fosforilada, glucose e proteína (SPRING,

2000). Segundo este autor, a parede celular é separada do conteúdo intracelular, e o líquido contendo MOS é evaporado a baixa temperatura (*spray dry*) para evitar a destruição da parte funcional da molécula de MOS.

Alguns autores relatam que, os prebióticos são capazes de estimular o desenvolvimento de bactérias benéficas como *Bifidobacterium spp*, *Lactobacillus spp*, *Eubacterium spp*, pois estas bactérias podem utilizar certos açúcares complexos como nutrientes (FERNANDEZ; HILTON; GILS, 2000; FERNANDEZ; MALAGUIDO; SILVA, 2003; SILVA; NÖRNBERG, 2003; FLEMMING, 2005). Sendo essas bactérias benéficas conhecidas pela capacidade de produzirem ácidos graxos de cadeia curta (acético, propiônico e butírico) e lactato, o aumento no desenvolvimento dessas bactérias, causaria uma maior produção desses ácidos e o aumento da presença destes nos cecos, consequentemente ocorreria à diminuição do pH do trato gastrintestinal, o que provocaria uma inibição no desenvolvimento de bactérias patogênicas (sensíveis a ambientes ácidos) (RADECKI; YOKAYAMA, 1991; MATHEW et al., 1993; CORNELI, 2004; ANDREATTI FILHO; SILVA, 2005) e uma favorável alteração na microbiota intestinal, com melhoras nas condições luminais e nas características anatômicas do trato gastrintestinal (SILVA; NÖRNBERG, 2003).

Mas, segundo Nunes (2008) a ação dos prebióticos não se limita ao estímulo do desenvolvimento de bactérias benéficas, mas também ao exercerem efeitos diretos sobre a colonização do trato gastrintestinal por bactérias patogênicas. Para que as bactérias consigam colonizar o trato gastrintestinal e criar uma condição patológica, é necessário a aderência à superfície epitelial. Essa adesão ocorre através de fímbrias (moléculas de açúcares ramificadas (polissacarídeos) que se estendem da parede externa das bactérias) 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 (MATHEW et al., 1993; DAWSON; PIRVULESCU, 1999; COLLET, 2000), e com isso, teremos a mucosa intestinal inteiramente apta às funções de secreção, digestão e absorção de nutrientes.

Em 1994 Mewmann, relata que os mananoligossacarídeos atuariam nessa etapa de colonização, pois algumas bactérias patogênicas que apresentam a fímbria tipo 1 (específica para MOS), se ligariam aos mananoligossacarídeos e não aos sítios de ligação dos enterócitos e assim seriam eliminados.

Há relatos que os mananoligossacarídeos (MOS) também exercem efeitos indiretos sobre as populações bacterianas e colonização intestinal por bactérias patogênicas. Por exemplo, a adição de MOS na dieta de perus, promoveria alterações na multiplicação de organismos anaeróbicos que poderiam inibir de forma competitiva o crescimento e a atividade de clostrídios (DAWSON; PIRVULESCU, 1999).

Assim, Silva e Nörnberg (2003), concluíram que os prebióticos são compostos biologicamente seguros à saúde humana e animal, contudo, as respostas biológicas na nutrição animal nem sempre são evidenciadas, o que pode estar relacionado com a composição química dos demais ingredientes, com a dosagem adicionada, com a adaptação e a seletividade da microbiota ao prebiótico ou ao nível de estresse do animal.

4 SIMBIÓTICO

A combinação de prebiótico e probiótico é denominada simbiótico e constitui um novo conceito na utilização de aditivos em dietas de aves. Esta associação é uma alternativa interessante no sentido de melhorar a sanidade do intestino delgado e cecos dos frangos de corte, através dos mecanismos fisiológicos e microbiológicos. A ação simbiótica estabiliza o meio intestinal e aumenta o número de bactérias benéficas produtoras de ácido láctico, favorecendo a situação de eubiose (FULLER, 1989; FURLAN et al., 2004).

A microbiota é favorecida pela ação dos prebióticos que têm a capacidade de se ligarem às fimbrias de bactérias patogênicas, conduzindo-as junto ao bolo fecal, estimulando o crescimento e acelerando o metabolismo de um limitado número de microrganismos não patogênicos. A essa ação soma-se a dos probióticos, facilitando a nutrição de células (enterócitos) que recobrem o trato digestório e proporcionando equilíbrio e saúde intestinal as aves (GIBSON; ROBERFROID, 1995).

Assim, Schwarz (2002), conclui que é perfeitamente possível substituir os antibióticos por probióticos, prebióticos e simbióticos, sem perdas no desempenho de aves.

5 IMUNIDADE

A saúde do lote é uma preocupação crítica da indústria avícola, as aves comerciais precisam defender-se contra a invasão por agentes infecciosos e resistir à sua proliferação que resulta em doença. O mecanismo de defesa da ave contra os agentes infecciosos é o sistema imune (FERKET, 1999). O sistema imune e suas funções podem servir como indicadores confiáveis de um possível impacto positivo e negativo no sistema animal como um todo (QURESHI, 2002).

A nutrição como ferramenta para modular o sistema imune produz um estado ideal de imunidade, tornando-se um fato real não apenas em estados patológicos de imunodepressões, como também, para a manutenção de um estado saudável sem o comprometimento do sistema imune (RIBEIRO; RUDNIK, 2002). A influência dos nutrientes imunostimulantes de forma positiva no desempenho zootécnico do animal ocorre pela diminuição do estresse imunológico e desta forma, minimizando a mobilidade de nutrientes para atividade que não estejam ligadas com produção (FERKET, 2003). O estresse imunológico é definido como exposição a um antígeno sofrido pela ave e, 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).

Então, atualmente, para melhorar o desempenho das aves, tem se buscado algumas alternativas, como o uso de prebióticos, probióticos e simbióticos na dieta das aves. Esses aditivos além de promoverem a modulação benéfica da microbiota intestinal possuem efeitos imunomoduladores que promovem a ativação do sistema imune (QURESHI, 2002; NUNES, 2008).

Relatos de literatura indicam que há vários prebióticos, probióticos e simbióticos que possuem efeitos imunomoduladores (COTTER, 1994; COPPOLA; TURNES, 2004).

Os gêneros de bactérias presentes no probiótico 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 possuem a capacidade de produzir substâncias estimulantes (lipopolissacarídeos e peptidoglicanas), liberando-as constantemente na luz intestinal

(LODDI, 2003; NUNES, 2008). Essa liberação será aumentada caso ocorra um processo infeccioso, pois estes componentes são fundamentais no desenvolvimento e manutenção da função do sistema imune (HAMANN et al., 1998; LODDI, 2003).

Os lipopolissacarídeos e as peptidoglicanas da parede celular proporcionam e ativam macrófagos, células endoteliais, neutrófilos, células mononucleares e células de musculatura lisa. Essas células irão liberar mediadores químicos como: citocinas, metaloproteínas (elastase e catepsina), prostaglandinas, metabólitos reativos de oxigênio e nitrogênio, além do aumento da produção de imunoglobulinas IgA, IgM, IgG, ativação de linfócitos NK (*natural killer*), linfócitos CD3, CD4 e CD8, proliferação de linfócitos T e produção de interferon (JIN et al., 1997; ERICKSON; HUBBARD, 2000; EDENS, 2003; LODDI, 2003).

Já alguns prebióticos específicos, alteram a função do sistema imunológico, pela capacidade de se ligarem a sítios de receptores dos macrófagos através do reconhecimento de açúcares específicos nas glicoproteínas da superfície epitelial. Esta ligação desencadearia uma reação em cascata que resulta na ativação dos macrófagos e liberação de citocinas, caracterizando a ativação da resposta imune adquirida (COLLET, 2000).

Especula-se também que alguns prebióticos específicos podem causar redução na translocação (passagem de microrganismos através da mucosa) intestinal de patógenos (SILVA, 2000a).

Na realidade, os mecanismos específicos de ação sobre a resposta imune quando da ingestão de prebióticos, probióticos e simbióticos ainda não estão bem esclarecidos (ERICKSON; HUBBARD, 2000; FERREIRA et al., 2002; MENTEN; LODDI, 2003). Embora haja diversos estudos voltados na atuação desses aditivos na imunidade das aves.

6 MORFOLOGIA INTESTINAL

Aves recém nascidas têm seu sistema gastrintestinal imaturo, e sofrem processos adaptativos, buscando maior eficiência nos processos de digestão e absorção. Na eclosão o sistema digestório da ave está anatomicamente completo, mas sua capacidade funcional ainda não, assim o trato gastrintestinal sofre grandes alterações morfológicas e fisiológicas. As alterações morfológicas mais evidentes são: o aumento no comprimento do intestino, na altura e densidade dos vilos, no número de enterócitos e nas células caliciformes. As alterações fisiológicas estão relacionadas com o aumento da capacidade de digestão e de absorção do intestino, que ocorrem por aumento da produção de enzimas digestíveis. Essas alterações irão proporcionar um aumento na área de superfície de digestão e absorção.

Entretanto, os processos de absorção são dependentes dos mecanismos que ocorrem na mucosa intestinal (MACARI; MAIORKA, 2000). O desenvolvimento da mucosa é estimulado por agentes tróficos, ou seja, aqueles que estimulam o processo mitótico na região cripta-vilo, e como consequência há o aumento do número de células e tamanho do vilo (MACARI; MAIORKA, 2000; MAIORKA, 2001). Primariamente há 2 eventos citológicos associados: renovação celular (proliferação e diferenciação das 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; MAIORKA, 2001). Em frangos de corte essa renovação celular é de 72 a 96 horas, o que corresponde a 10% do seu ciclo de vida.

O equilíbrio entre os dois processos (perda e proliferação celular) determina um *turnover* (proliferação – migração – extrusão) e assegura a manutenção do número de células e da capacidade funcional do epitélio. No entanto, quando o intestino responde a algum agente estimulador a favor de um deles, deve ocorrer uma modificação na altura dos vilos (MACARI et al., 1994; UNI et al., 1996).

Se ocorrer um aumento na taxa de proliferação (mitose) com ausência, diminuição ou manutenção da taxa de extrusão (perda celular) haverá um aumento no número de células e, consequentemente, observa-se um aumento na altura e densidade dos vilos e microvilos, resultando na maior taxa de digestão e absorção (MAIORKA, 2001; FURLAN et al., 2004). Logo, caso ocorra um aumento na taxa de extrusão (perda celular), haverá uma redução no tamanho do vilo e ocorrerá um aumento na produção de células da cripta, com consequente aumento na profundidade de cripta (MAIORKA, 2001; FURLAN et al., 2004).

As células caliciformes presentes nos vilos e criptas, também possuem um importante papel na manutenção e desenvolvimento do epitélio intestinal. Estas são secretoras de muco, possuem função de proteger o epitélio durante a digestão, contra e quando da passagem de alimento e poder lubrificante sobre alimentos sólidos. Outro papel importante do muco seria na proteção contra infecções, ao funcionar como uma barreira protetora impedindo o contato de microrganismos com as células epiteliais. Portanto, as células caliciformes aumentam a produção de muco em caso de jejum ou alterações na dieta, pois estas situações podem ocasionar redução na camada de muco e propiciar ação de bactérias e protozoários patogênicos que causam destruição da mucosa (FURLAN et al., 2004).

Na literatura, trabalhos têm indicado que prebióticos, probióticos e simbióticos podem melhorar a integridade da mucosa intestinal, mostrando assim um efeito trófico e consequentemente melhorando também o desempenho das aves (SAVAGE et al., 1997; LODDI et al., 1998; MACARI; MAIORKA, 2000; SANTIN et al., 2001; LODDI, 2003).

Flemming (2005) relata que o aumento da produção de ácidos graxos voláteis (acético, propiônico e butírico) e lactato, produzidos pelos lactobacilos presentes nos probióticos, promoveriam a diminuição do pH do trato intestinal, com inibição de bactérias patogênicas e estímulo à proliferação de enterócitos, favorecendo assim a manutenção da integridade da mucosa intestinal e viabilizando a total capacidade de absorção intestinal das aves.

Macari e Maiorka (2000) relataram a capacidade indireta dos prebióticos em modificar as características da mucosa intestinal, favorecendo os mecanismos de proliferação celular por permitir maior sanidade da mucosa intestinal.

Spring et al. (2000) sugeriram que os mananoligossacarídeos da parede celular de leveduras atuam bloqueando os sítios de ligações de bactérias patogênicas, na mucosa intestinal, reduzindo os danos à mucosa e, consequentemente, melhorando a utilização dos ingredientes da dieta.

Apesar de haver grande número de experimentos mostrando a ação dos prebióticos, probióticos e simbióticos sobre a morfologia intestinal, os resultados se apresentam contraditórios, pois seus mecanismos de ação sobre a mucosa intestinal não são totalmente elucidados. Entretanto esses aditivos são uma alternativa que podem trazer benefícios à saúde das aves.

REFERÊNCIAS

- ALBINO, L. F. T.; FERES, F. A.; DIONOZIO, M. A.; ROSTAGNO, H. S.; VARGAS JÚNIOR, J. G.; CARVALHO, D. C. O.; GOMES, P. C.; COSTA, C. H. R. Uso de prebióticos a base de mananoligossacarídeo em rações para frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n. 3, p.742-749, 2006.
- ALBINO, L. F. T.; BUNZEN, S.; ROSTADNO, H. S. Ingredientes promotores de desempenho para frangos de corte. In: SEMINÁRIO DE AVES E SUÍNOS, 7., 2007, Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte: AveSui, 2007. p. 73-90.
- ALBUQUERQUE, R. Antimicrobianos como aditivos zootécnicos promotores de 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.; SAMPAIO H. M. Probióticos e prebióticos: realidade na avicultura moderna. **Avicultura Industrial**, v. 1078, p. 16-32, 2000.
- 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.
- ARAUJO, J. A.; SILVA, J. H. V.; AMÂNCIO, A. L. L.; LIMA, M. R.; LIMA, C. B. Uso de aditivos na alimentação de aves. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 1, n. 3, p. 69-77, 2007.
- BUTOLO, J. E. Uso de aditivos na alimentação das 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.
- COLLET, J. E. Uso de aditivos e produtividade. In: RONDA LATINO AMERICANA DA ALLTECH, 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.
- CORNELI, J. **Avaliação de promotores de crescimento alternativos em substituição aos convencionais sobre o desempenho, característica de carcaça e morfologia intestinal em frangos de corte**. 2004. 59 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Santa Maria, Rio Grande do Sul, 2004.

COTTER, P. F. Modulation of immune response: current perceptions and future prospects with an example from poultry. In: ALLTECH'S ANNUAL SYMPOSIUM ON 90 BIOTECHNOLOGY IN FEED INDUSTRY, 10., 1994, Nottingham. **Proceedings...** Loughborough, UK: Nottingham University Press, 1994. p. 105-203.

COUNCIL OF THE EUROPEAN UNION. Council regulation on the authorization of the additive avilamycin in feedingstuffs. Brussels, 2003. Disponível em: <http://register.consilium.eu.int/pdf/en/03/st06/st06120en03.pdf>. Acesso em: 01 jul. 2008.

DAY, C. A. **Competitive exclusion in poultry**: a review. Worcestershire: Life Care Products Ltd., 1992. 18 p.

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.

DIONIZIO, M. A.; BERTECHINI, A. G.; KATO, R. K.; TEIXEIRA, A. S. Prebióticos como promotores de crescimento para frangos de corte – desempenho e rendimento de carcaça. **Ciência Agrotécnica**, Lavras. p. 1580-1587, dez., 2002. Edição Especial,

EDENS, F. W. Na 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.

FERKET, P. R. Fatores que afetam a resposta imunológica: nutrição. In: CONGRESSO DE PRODUÇÃO E CONSUMO DE OVOS, 1., I, 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: 13º RONDA LATINO AMERICANA DA ALLTECH, 13., 2003, Campinas. **Anais...** Campinas: Alltech, 2003, p. 26-39.

FERNANDES, P. C. C.; LADEIRA, I. Q.; FERREIRA, C. L. L. F.; RODRIGUEZ, N. M.; SILVA, A. V. Viabilidade do uso de probióticos na alimentação de monogástricos. **Caderno Técnico de Veterinária e Zootecnia**, n. 31, p. 53-71, 2000.

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: Ed. Guanabara Koogan, 2002. p. 574-578.

FLEMMING, J. S. **Utilização de leveduras, probióticos e mananoligossacarídeos (MOS) na alimentação de frangos de corte**. 2005. 109 f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Paraná, Paraná, 2005.

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

FURLAN, R. L.; MACARI, M.; LUQUETTI, B. C. Como avaliar os efeitos do uso de prebióticos, probióticos e flora de exclusão competitiva. In: SIMPOSIO 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.

HAMANN, L.; EL-SAMALOUTI, V.; ULMER, A. J.; FLAD, H. D.; RIETSCHER, E. T. Components of gut bacteria as immunomodulators. **International Journal of Food Microbiology**, v. 41, p. 141-154, 1998.

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

JUNQUEIRA, O. M.; DUARTE, K. F. 2005. Resultados de pesquisa com aditivos alimentados no Brasil. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 52., 2005, Goiânia, GO, p. 169-182.

KULLEN, M. J.; KHIL, J.; BUSTA, F. F.; GALLAHER, D. D.; BRADY, L. J. Carbohydrate source and bifidobacteria influence the growth of *Clostridium perfringens* in vivo and in vitro. **Nutrition Research**, Oxford, v. 18, n. 11, p. 1889-1897, 1998.

LANCINI, J. B. Fatores exógenos na função gastrointestinal. Aditivos. In: FUNDAÇÃO APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA, 1994. Campinas: FACTA. 1994, p. 99-126.

LILLY, D. M.; STILLWELL, R. H. Probiotics: growth promoting factors produced by microorganisms. **Science**, v. 147, p. 747-748, 1965.

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.

LODDI, M. M.; GONZALES, E. Efeito da adição de probiótico e antibiótico como promotores de crescimento de frangos de corte. In: REUNIÃO ANUAL DA SBZ, 34., 1998, Botucatu. **Anais...** Botucatu: SBZ, 1998. p. 189-191.

LORENÇON, L.; NUNES, R. V.; POZZA, P. C.; POZZA, M. S. S.; APPELT, M. D.; SILVA, W. T. M. Utilização de promotores de crescimento para frangos de corte em rações fareladas e peletizadas. **Acta Scientiarum. Animal Science**, v. 29, n. 2, p. 151-158, 2007.

MACARI, M.; FURLAN, R. L. Probióticos. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVICOLAS, 2005, Santos, São Paulo. **Anais...** Campinas: FACTA, 2005. v. 1, p. 53-71.

MACARI, M.; FURLAN, R. L.; GONZALES, E. **Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte**. 1. ed. Jaboticabal: FUNESP/UNESP, 1994. 296 p.

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

MAIORKA, A. Adaptações digestivas pós-eclosão. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVICOLAS, 2001, Santos, São Paulo. **Anais...** Campinas: FACTA, 2001. v. 2, 141-151.

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

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

MENTEN, J. F. M.; PEDROSO, A. A. Fatores que interferem na eficácia de probióticos. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVICOLAS, 2005, Santos, São Paulo. **Anais...** Campinas: FACTA, 2005. v. 1, p. 41-52.

METCHNIKOFF, I. **The prolongation of life**. London: Heinemann, 1907. p. 158.

MILTEMBURG, G. Promotores e aditivos promotores de crescimento em Avicultura. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVICOLAS, 2000, Campinas. **Anais...** Campinas: FACTA, 2000. p. 204-215.

NEWMAN, K. Mannanologosaccharides: natural polymers with significant impact on the gastrointestinal microflora and immune system. In: BIOTECHNOLOGY IN THE FEED INDUSTRY OF ANNUAL SYMPOSIUM, 10., 1994, London. **Proceedings...** London: Nottingham University Press, 1994. p. 155-166.

NICOLI, J. R.; VIEIRA, L. Q. Probióticos, prebióticos e simbióticos – Moduladores do ecossistema digestivo. **Ciência Hoje**, São Paulo, v. 28, n. 163, p. 34-38, 2000.

NUNES, A. D. **Influência do uso de aditivos alternativos a antimicrobianos sobre o desempenho, morfologia intestinal e imunidade de frangos de corte**. 2008. 111 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

PARKER, R. B. Probiotics, the other half of antibiotic story. **Animal of Nutrition Health**, v. 29, p. 4-8. 1974.

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

QURESHI, M. A. Interação entre nutrição e o sistema imune e produtividade das aves. In: CONFERÊNCIA APINCO 2002 DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, Campinas.

Anais... Campinas: Fundação APINCO de Ciências e Tecnologias Avícolas, 2002, v. 2, p. 243-251.

RADECKI, S. V.; YOKOYAMA, M. T. Intestinal bacteria and their influence on swine nutrition. In: MILLER, E. R.; DUANE, E. U.; LEWIS, A. J. **Swine nutrition**. Boston: Butterworth-Heinemann, 1991. p. 439-447.

RIBEIRO, A. M.; RUDNIK, L. Modulação nutricional e resposta imunológica, In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO E NUTRIÇÃO DE AVES E SUÍNOS E TECNOLOGIA DE PRODUÇÃO DE RAÇÕES, 2002, Campinas. **Anais...** Campinas: CBNA, 2002. p. 227-238.

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, J. R. G.; TURNES, C. G. Probióticos em avicultura. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n. 3, p. 741-747, mai-jun, 2005.

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

SCHWARZ, K. K. **Substituição de antimicrobianos por probióticos e prebióticos na alimentação de frangos de corte**. 2002. 46 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2002.

SHEEHY, P. J. A.; MORRISSEY, P. A. Functional foods: prospects and perspectives. In: HRNRY, C. J. A.; HEPPELL, N. J. **Nutritional aspects of food processing and ingredients**. Gaithersburg: Aspen, 1998. p. 45-65.

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, L. P.; NORNBORG, 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.

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.

STRICKLING, J. A. et. al. Evaluation of oligosaccharide addition to dog diets: influences on nutrient digestion and microbial populations. **Animal Feed Science and Technology**. Amsterdam, v. 86, n. 2, p. 205-219, 2000.

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

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

WALKER, W. A.; DUFFY, L. C. Diet and bacterial colonization: Role of probiotics and prebiotics. **Journal of Nutritional Biochemistry**, New York, v. 9, n. 2, p. 668-675, 1998.

CAPITULO III – INFLUÊNCIA DE PROBIÓTICO, PREBIÓTICO E SIMBIÓTICO SOBRE O DESEMPENHO DE FRANGOS DE CORTE

RESUMO

O presente estudo foi realizado com o objetivo de avaliar a influência da suplementação de um probiótico (bactérias do gênero *Enterococcus ssp* (10^6 UFC/g) e bactérias do gênero *Lactobacillus acidophilus* (10^7 UFC/g)), um prebiótico (MOS) e um simbiótico (bactérias do gênero *Enterococcus ssp* (10^6 UFC/g) e bactérias do gênero *Lactobacillus acidophilus* (10^7 UFC/g) e MOS) sobre o desempenho de frangos de corte, na posterior substituição aos antibióticos. Foram utilizadas 1400 pintos de corte, criados até 42 dias de idade, em delineamento inteiramente casualizado, com 5 tratamentos: Controle; Probiótico; Prebiótico; Simbiótico (prebiótico + probiótico); Antibiótico, 7 repetições/tratamento com 40 aves cada. Os parâmetros avaliados foram: ganho de peso médio (GP), consumo médio de ração (CR), conversão alimentar (CA) e mortalidade (M). Para os intervalos de 01-07 dias; 01-14 dias e 01-21 dias no parâmetro de GP houve um efeito da interação onde, o simbiótico demonstrou um maior valor de ganho de peso médio (GP) em relação aos aditivos quando utilizados separadamente, mas que não se repetiu nos outros intervalos analisados. Quanto ao parâmetro de CA, nos intervalos de 01-07 dias; 01-14 dias e 01-21 dias houve um efeito da interação onde, o simbiótico demonstrou uma melhor (menor) conversão alimentar (CA) em relação aos aditivos quando utilizados separadamente. Para o intervalo de 01-28 dias houve um efeito de prebiótico no parâmetro de CA, pois quando este se apresentou na dieta, se observou melhor (menor) CA, porém, não se repetiu nos intervalos de 01-35 dias e 01-42 dias. Já para os parâmetros de CR e M, não foi possível observar efeito significativo dos contrastes testados em nenhum dos intervalos avaliados. Diante dos resultados, sugere-se a continuidade do estudo, pois as boas práticas de manejo e a ausência de desafio sanitário podem ter sido determinantes para a ausência de efeitos mais expressivos dos aditivos testados sobre o desempenho.

Palavras-chave: Aditivos. Desempenho. Frango de Corte.

CHAPTER III – INFLUENCE OF PROBIOTIC, PREBIOTIC AND SYMBIOTIC IN BROILER PERFORMANCE

ABSTRACT

This study evaluated the influence of a probiotic (*Enterococcus ssp* (10^6 UFC/g) bacteria and *Lactobacillus acidophilus* (10^7 UFC/g) bacteria), a prebiotic (MOS) and a symbiotic (*Enterococcus ssp* (10^6 UFC/g) bacteria and *Lactobacillus acidophilus* (10^7 UFC/g) bacteria and MOS) supplementation, in broiler performance, in later antibiotics replacement. 1400 day-old broiler chicks were used during 42 days, in a randomized block design, with 5 treatments: Control, Probiotic, Prebiotic, Symbiotic (prebiotic + probiotic) and Antibiotic, and 7 repetitions with 40 chicks each. The following parameters were mensurated: Weight Gain (WG), Feed Intake (FI), Feed Conversion (FC) and Mortality (M). For the periods from 01-07 days; 01-14 days and 01-21 days, there was an interaction effect in WG, where the symbiotic treatment showed a higher WG in relation to the additives used separately. There was no effect for the others periods. Considering the FC for the periods from 01-07 days, 01-14 days, and 01-21 days, there was an interaction effect - the symbiotic treatment showed a better (lower) FC compared to the additives used separately. There was significative effect to FC on the 01-28 days period, in prebiotic treatment, that showed better (lower) results. However, there was no significative effect for FC on 01-35 days and 01-42 days. There was no significative effect of the analyzed contrasts of FI and M in the whole experiment period. Considering the results, it is important to develop more investigation about this topic, because the breeding system and sanitization can have had some influence on the absence of more expressive results about the tested additives in this experiment.

Keywords: Additives. Performance. Broiler.

1 INTRODUÇÃO

Na produção avícola, o principal objetivo é a obtenção de alta produtividade, aliada à qualidade dos produtos finais. Para isso, vêm sendo utilizados na dieta das aves, aditivos antimicrobianos (LODDI et al., 2000). Os promotores de crescimento são os principais aditivos antimicrobianos de uso na alimentação de animais, entre os produtos incluem-se os antibióticos (MENTEN; LODDI, 2003).

A escolha de um bom promotor de crescimento se baseia em dois fatores: aspecto econômico e segurança. Sendo assim é inquestionável a relação custo/benefício favorável ao uso de antibióticos como aditivos. Todavia, a segurança alimentar começou a ser questionada, principalmente em razão do uso dos antibióticos em dosagens sub-terapêuticas na alimentação animal (DAWSON; PIRVULESCU, 1999; ALBINO et al., 2006).

A principal preocupação é que o uso contínuo de antibióticos possa levar ao desenvolvimento e disseminação de populações bacterianas resistentes, e que essa resistência possa ser transferida aos microrganismos patogênicos, representando então, um risco, tanto para a saúde humana quanto animal (DAWSON; PIRVULESCU, 1999; MENTEN; LODDI, 2003). Esse risco tem promovido discussões acirradas devido à crescente pressão do público consumidor contra o uso dos antibióticos na alimentação animal, além de várias campanhas a favor do banimento desse aditivo como promotor de crescimento (ALBINO et al., 2007; ARAUJO et al., 2007).

Essas situações levaram os pesquisadores a desenvolver alternativas que mantenham a alta produtividade, sem prejudicar a saúde humana e animal. Entre elas, estão os usos de prebióticos, probióticos e simbióticos como uma alternativa ao uso dos antibióticos (FURLAN et al., 2004).

Fuller (1989) definiu os probióticos como sendo “um suplemento alimentar constituído de microrganismos vivos capazes de beneficiar o hospedeiro através do equilíbrio da microbiota intestinal”. Mais tarde, o mesmo autor considerou que para serem considerados como probióticos, “os microrganismos deveriam ser produzidos em larga escala, permanecendo estáveis e viáveis em condições de estocagem, serem capazes de sobreviver no ecossistema intestinal e possibilitar ao organismo os benefícios de sua presença”.

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

Os probióticos atuam em mecanismos de ações benéficas ao hospedeiro, através da competição por sítios de ligação e nutrientes, produção de substâncias antibacterianas, supressão da produção de amônia, neutralização de enterotoxinas e assim favorecem melhores índices zoeconômicos, maior produtividade, aumento no ganho de peso, melhor conversão alimentar, e o estímulo do sistema imune, antes desses serem contaminados por alguns patógenos (FULLER, 1989; JIN et al., 1997; ANDREATTI FILHO; SAMPAIO, 2000; SILVA, 2000a; ANDREATTI FILHO; SILVA, 2005).

Gibson e Roberfroid (1995) definiram prebióticos como sendo ingredientes alimentares que são digeridos na porção proximal do trato gastrointestinal de monogástricos e que proporcionam efeito benéfico no hospedeiro por estimular seletivamente o crescimento e/ou metabolismo de um limitado grupo de bactérias no cólon.

As substâncias que têm sido mais estudadas como prebióticos são os oligossacarídeos, principalmente os frutoligosacarídeos (FOS), glucoligosacarídeos (GOS) e os mananoligosacarídeos (MOS) (GIBSON; ROBERFROID, 1995; IJI; TIVEY, 1998).

A ação dos prebióticos é estimular o crescimento e/ou ativar o metabolismo de diversas bactérias benéficas do trato intestinal, agindo intimamente aos probióticos, pois constituiria o “alimento” das bactérias probióticas e também atuariam bloqueando os sítios de aderência, assim imobilizando e reduzindo a capacidade de fixação de bactérias patogênicas na mucosa intestinal (SILVA, 2000a; ANDREATTI; SILVA, 2005).

A associação de prebiótico e probiótico recebe a denominação de simbiótico. Essa associação favorece a microbiota intestinal pela ação dos prebióticos que têm a capacidade de se ligarem às fimbrias de bactérias patogênicas, conduzindo-as junto ao bolo fecal, estimulando o crescimento e acelerando o metabolismo de um limitado número de microrganismos não patogênicos. A essa ação soma-se a dos probióticos, facilitando a nutrição de células (enterócitos) que recobrem o trato digestório e proporcionando equilíbrio e saúde intestinal as aves (GIBSON; ROBERFROID, 1995).

Assim, Schwarz (2002), conclui que é perfeitamente possível substituir os antibióticos por prebióticos, probióticos e simbióticos, sem perdas no desempenho de aves.

Por causa da grande quantidade de resultados contraditórios na literatura e a grande dúvida de como realmente esses produtos (probiótico, prebiótico e simbiótico) atuam e

favoreceriam o desenvolvimento das aves em substituição aos antibióticos, o objetivo do presente trabalho é avaliar a influência da suplementação de prebiótico, probiótico e simbiótico sobre o desempenho de frangos de corte, em substituição aos antibióticos.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 LOCAL E PERÍODO EXPERIMENTAL

O experimento foi conduzido em agosto e setembro 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 de Pirassununga, Estado de São Paulo. Empregou-se um galpão de alvenaria dividido em 36 boxes de 4,25m² cada, com a criação das aves em piso.

2.2 ANIMAIS

Foram utilizados 1400 pintos de um dia, machos da linhagem Cobb 500 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 5 diferentes tratamentos: Controle, Prebiótico, Probiótico, Simbiótico (prebiótico + probiótico) e Antibiótico. Havia 7 repetições (boxes) por tratamento de 40 aves cada.

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

O grupo suplementado com prebiótico tinha como princípio ativo um mananoligossacarídeo derivado da parede celular da levedura *Saccharomyces cerevisiae*, comercializado sob o nome de Simbiótico[®] pela empresa BioCamp Laboratórios Ltda, Campinas-SP. O produto em pó foi adicionado à dieta na dose de 2 kg/ton de ração nas diferentes fases de criação.

O grupo suplementado com probiótico tinha como princípio ativo bactérias do gênero *Enterococcus ssp* (10^6 UFC/g) e bactérias do gênero *Lactobacillus acidophilus* (10^7 UFC/g), comercializado sob o nome Colostrum Mix[®] pela empresa BioCamp Laboratórios Ltda, Campinas-SP. O produto em pó foi adicionado à dieta na dose de 400g/ton de ração nas diferentes fases de criação.

O grupo suplementado com simbiótico tinha como princípio ativo um mananoligossacarídeo derivado da parede celular da levedura *Saccharomyces cerevisiae* e bactérias do gênero *Enterococcus ssp* (10^6 UFC/g) e bactérias do gênero *Lactobacillus acidophilus* (10^7 UFC/g), comercializado sob o nome de Simbiótico Plus[®] pela empresa BioCamp Laboratórios Ltda, Campinas-SP. O produto em pó foi adicionado à dieta na dose de 2kg/ton de ração nas diferentes fases de criação.

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

Todos os aditivos foram utilizados conforme as recomendações dos fabricantes 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 1 apresenta a composição percentual e análise calculada das rações experimentais nas diferentes fases de criação.

Tabela 1 – Composição Percentual e Análise Calculada das Rações Experimentais

Ingrediente	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	4,50
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>			
Prebiótico	0,20	0,20	0,20
Probiótico	0,04	0,04	0,04
Simbiótico	0,20	0,20	0,20
Antibiótico	0,01	0,01	0,01
<i>Inerte</i>	0,16-0,36	0,19-0,39	0,22-0,42
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⁾ Suplemento vitamínico-mineral especificada na tabela 2.

Tabela 2 – Composição dos suplementos vitamínico-minerais (vit.-min.) utilizados

Suplemento	Vit. A, 35250 UI; vit. D3, 8513 UI; vit. K, 6,0 mg; vit. E, 49,57 mg; vit. B1, 6,67 mg; vit. B2, 15 mg; vit. B6, 8,33 mg; vit. B12, 40 mcg; niacina, vit. min. 100 mg; ácido fólico, 2,5 mg; pantotenato de cálcio, 39,13 mg; biotina, Inicial. 0,033 mg; ferro, 144,80 mg; zinco, 144,50 mg; cobre, 28,53mg; manganês, 186,67 mg; iodo, 1,87 mg; selênio, 1,13 mg; antioxidante, 14 mg.
Suplemento	Vit. A, 29351 UI; vit. D3, 7088 UI; vit. K, 5,0 mg; vit. E, 41,33 mg; vit. B1, 5,77 mg; vit. B2, 12,50 mg; vit. B6, 6,90 mg; vit. B12, 33,33 mcg; vit. min. niacina, 83,33 mg; ácido fólico, 2,07 mg; pantotenato de cálcio, 33,33 mg; Crescimento biotina, 0,27 mg; ferro, 144,80 mg; zinco, 145,10 mg; cobre, 28,80mg; manganês, 186,50 mg; iodo, 1,87 mg; selênio, 1,13 mg; antioxidante, 14 mg.
Suplemento	Vit. A, 23500 UI; vit. D3, 5675 UI; vit. K, 4,0 mg; vit. E, 28,00 mg; vit. B1, 4,47 mg; vit. B2, 10,00 mg; vit. B6, 5,53 mg; vit. B12, 26,67 mcg; vit. min. niacina, 66,67 mg; ácido fólico, 1,13 mg; pantotenato de cálcio, 26,67 mg; Final biotina, 0,15 mg; ferro, 144,80 mg; zinco, 144,80 mg; cobre, 28,80mg; manganês, 186,50 mg; iodo, 1,87 mg; selênio, 1,13 mg; antioxidante, 14 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 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 nova e do material maravalha.

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 gastrintestinal 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, com o objetivo de determinar as variáveis de desempenho nos intervalos: 01-07 dias; 01-14 dias; 01-21 dias; 01-28 dias; 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 o peso médio final do respectivo intervalo.

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

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

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

2.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram analisados com o auxílio do programa computacional Statistical Analysis System (SAS, 2001), sendo anteriormente verificada as normalidades dos resíduos pelo Teste de Shapiro-Wilk (PROC UNIVARIATE) e as variáveis comparadas pelo Teste de Hartley (OTT, 1983). Obedecendo-se às premissas citadas, os dados foram submetidos à análise de variância através do *General Linear Model* (PROC GLM). Para a separação dos efeitos de tratamentos foi utilizada a metodologia dos contrastes, admitindo-se um arranjo fatorial do tipo $2 \times 2 + 1$ (com e sem prebiótico; com e sem probiótico; e antibiótico), ao nível de significância de 5%. Os contrastes utilizados foram: efeito de prebiótico, efeito de probiótico, efeito da interação (entre prebiótico e probiótico), e efeito de antibiótico (antibiótico x prebiótico + probiótico + simbiótico), como apresentado na tabela 3.

Tabela 3 – Esquema de contrastes para estudo de diferentes respostas e de interação

	SEM PROBIÓTICO		COM PROBIÓTICO		
	Sem	Com	Sem	Com	Antibiótico
	Prebiótico	Prebiótico	Prebiótico	Prebiótico	
Efeito de Prebiótico	1	-1	1	-1	0
Efeito de Probiótico	1	1	-1	-1	0
Efeito de Interação	1	-1	-1	-1	0
Efeito de Antibiótico	0	1	1	1	-3

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

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

As tabelas 4 e 5 são referentes aos valores médios de ganho de peso (GP), consumo de ração (CR), conversão alimentar (CA) e mortalidade (M) de frangos de corte submetidos aos diferentes tratamentos, nos intervalos: 01-07; 01-14 e 01-21 dias de idade e nos intervalos 01-28; 01-35 e 01-42 dias de idade respectivamente.

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

Parâmetros	Tratamentos					CV (%)	PROBABILIDADE			
	SEM PROBIÓTICO		COM PROBIÓTICO		Antibiótico					
	Sem Prebiótico	Com Prebiótico	Sem Prebiótico	Com Prebiótico			Prebiótico	Probiótico	Interação	Antibiótico
01-07 dias										
GP (g)	120,14	118,43	108,14	120,28	118,57	5,17	0,0025	0,0031	0,0001	0,1155
CR (g)	132,32	135,59	133,90	133,67	136,69	2,66	0,2497	0,8990	0,1889	0,1341
CA (g/g)	1,10	1,14	1,23	1,11	1,15	4,84	0,0007	0,0001	0,0001	0,3472
Mort (%)	0	0	0,36	0	0	591,6	0,2724	0,2724	0,2724	0,5235
01-14 dias										
GP (g)	421,71	413,28	394,00	422,10	417,14	3,61	0,0282	0,0352	0,0002	0,1478
CR (g)	525,07	530,72	540,15	526,18	537,01	2,83	0,4598	0,3505	0,0875	0,4727
CA (g/g)	1,24	1,28	1,37	1,24	1,28	4,03	0,0001	0,0001	0,0001	0,2363
Mort (%)	0	0,36	0,36	0,71	0,71	223,06	0,3407	0,3407	1,0000	0,5803
01-21 dias										
GP (g)	885,85	876,28	850,71	888,71	875,85	2,21	0,0162	0,0508	0,0002	0,5443
CR (g)	1193,97	1211,24	1211,13	1202,13	1204,77	2,55	0,7355	0,7420	0,2873	0,8101
CA (g/g)	1,35	1,38	1,42	1,35	1,37	2,81	0,1016	0,0424	0,0001	0,4078
Mort (%)	0,35	1,79	1,07	0,71	1,07	150,97	0,3597	0,7586	0,1315	0,8591

CV: Coeficiente de variação (%).

Tabela 5 – Médias de ganho de peso (GP), consumo de ração (CR), conversão alimentar (CA) e mortalidade (M) de frangos de corte nos intervalos: 01-28; 01-35 e 01-42 dias de idade, sob os diferentes tratamentos

Parâmetros	Tratamentos					CV (%)	PROBABILIDADE			
	SEM PROBIÓTICO		COM PROBIÓTICO		Antibiótico		Prebiótico	Probiótico	Interação	Antibiótico
	Sem Prebiótico	Com Prebiótico	Sem Prebiótico	Com Prebiótico						
01-28 dias										
GP (g)	1504,00	1510,86	1479,57	1494,71	1507,29	2,15	0,3726	0,1054	0,7355	0,3900
CR (g)	2169,55	2162,33	2145,85	2149,40	2168,84	2,17	0,9214	0,3282	0,7719	0,4492
CA (g/g)	1,44 b	1,43	1,46	1,44	1,44	1,26	0,0158	0,0592	0,4022	0,5435
Mort (%)	1,07	2,86	1,78	1,43	1,43	126,40	0,3991	0,6719	0,2093	0,5417
01-35 dias										
GP (g)	2198,29	2184,43	2151,43	2180,86	2199,29	2,32	0,6870	0,1975	0,2665	0,2304
CR (g)	3365,28	3352,54	3314,48	3333,00	3357,71	2,28	0,9236	0,2482	0,6046	0,4852
CA (g/g)	1,53	1,53	1,54	1,53	1,53	1,25	0,6107	0,8502	0,2860	0,3742
Mort (%)	4,64	6,43	5,71	6,43	5,71	64,40	0,4036	0,7191	0,7191	0,7818
01-42 dias										
GP (g)	2829,14	2817,86	2794,71	2801,57	2842,00	2,16	0,9254	0,2880	0,7015	0,1785
CR (g)	4676,96	4687,67	4588,02	4646,41	4674,91	2,4	0,4233	0,1367	0,5796	0,4918
CA (g/g)	1,65	1,66	1,64	1,66	1,64	1,83	0,2618	0,5085	0,7908	0,4644
Mort (%)	8,21	11,78	11,07	8,21	11,78	50,15	0,8557	0,8557	0,1093	0,5301

CV: Coeficiente de variação (%).

3.1 GANHO DE PESO (GP)

Para os intervalos de 01-07; 01-14 e 01-21 dias, no parâmetro de ganho de peso médio (GP), observou-se um efeito significativo ($P<0,05$) da interação (entre o prebiótico e probiótico utilizados), onde o simbiótico (prebiótico + probiótico) demonstrou um maior valor de ganho de peso médio (GP) em relação aos aditivos testados quando utilizados separadamente.

Nos intervalos de 01-28; 01-35 e 01-42 dias não se observou diferença significativa ($P<0,05$) para nenhum dos contrastes testados.

Os resultados encontrados por Loddi (2003), Maiorka et al (2001) e Vargas Jr et al (2000) discordam deste presente trabalho, pois estes autores não observaram diferença significativa ($p<0,05$) na associação de prebiótico e probiótico (simbiótico) na dieta em comparação aos outros tratamentos no período de 21 dias. Este último autor atribui esse resultado ao baixo desafio sanitário em que o experimento foi realizado. Resultado similar foi encontrado por Flemming e Freitas (2005) nos intervalos de 01-07; 01-14; 01-21, ao avaliarem a adição de probiótico associado ou não a prebiótico, estes observaram que a associação não diferiu significativamente ($P<0,05$) dos tratamentos utilizados, mas ao observarem o período total de criação os autores encontraram maior ganho de peso médio (GP) do tratamento com probiótico em relação ao simbiótico e antibiótico.

Caramori Júnior (2008) avaliou dois experimentos com suplementação de simbiótico, associando os produtos colostrus avis[®] e simbiótico plus[®] e não encontrou diferença significativa ($P<0,05$) do tratamento sem suplementação no período de 21 dias.

Flemming et al (2004) verificaram no intervalo de 01-28 dias, que a adição de 500 g/ton de MOS e 500 g/ton de parede celular de *S. cerevisiae* proporcionaram o mesmo efeito que 50 g/ton de Olaquinox. Entretanto estes mesmos autores encontraram no período de 01-42 dias resultados melhores nos tratamentos com adição de MOS e Olaquinox em relação ao tratamento com parede celular de *S. cerevisiae*.

Pelicano et al. (2004) relataram que em seu estudo utilizando dois tratamentos com probiótico e dois tratamentos com prebiótico, foi observado que no período inicial o prebiótico proporcionou melhor ganho de peso médio (GP) que o controle, mas que não se manteve no outros períodos avaliados e que os probióticos não diferiram em nenhum momento do controle.

Zulkifli et al. (2000) e Kalavathy (2003) adicionaram bactérias do gênero *Lactobacillus* presentes no probiótico à ração, e observaram um aumento no ganho de peso médio (GP) nos intervalos de 01-21 dias e 01-42 dias de idade.

Santin et al. (2001) observaram que aos 21 e 42 dias de idade, a suplementação de 0,01% e 0,02% de parede celular de *S. cerevisiae* como prebióticos para frangos de corte, acarretou maiores valores de ganho de peso médio (GP) em relação à dieta não suplementada.

Entretanto, outros resultados concordam com o presente estudo, como por exemplo, o encontrado por Ribeiro et al. (2007) no intervalo de 01-28 dias. Estes autores desafiaram as aves com *Salmonella enteritidis* e não observaram diferença significativa ($P < 0,05$) no parâmetro de ganho de peso médio (GP) das aves que receberam simbiótico, comparado com as que receberam outros aditivos. Teixeira et al (2003), adicionaram probiótico na água e na ração e não encontraram melhora no ganho de peso médio (GP) no intervalo de 01-28 dias.

Nunes (2005) no intervalo de 01-21 dias detectou diferença significativa ($P < 0,05$) no ganho de peso médio (GP) ao suplementar frangos de corte com probiótico e simbiótico em comparação com o prebiótico e antibiótico, mas ao observar o período de 01-42 dias o autor detectou que não houve diferença entre os tratamentos, concordando com os resultados deste trabalho.

Boratto et al (2004), Bittencout (2006) e Lima et al (2003), observaram na fase de 01-42 dias, que as aves que receberam adição de probiótico na dieta, não apresentaram diferença significativa ($P < 0,05$), quando comparados com os outros tratamentos. O último autor justifica o resultado devido à ausência de desafio sanitário.

Dionizio et al. (2002) relataram em seu trabalho que a suplementação com diferentes fontes de prebióticos não apresentaram efeito significativo ($P < 0,05$) sobre o tratamento com antibiótico e controle no período total de criação. Resultado similar obteve Waldroup et al. (2003) ao não observarem efeito do prebiótico em relação aos outros tratamentos.

Sartori (2007) não detectou diferença significativa ($P < 0,05$) ao avaliar tratamentos suplementados com simbiótico, simbiótico + enzima e sem aditivo no período de 01-42 dias de idade.

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

3.2 CONSUMO DE RAÇÃO (CR)

Não foi possível observar diferença significativa ($P < 0,05$) nos contrastes testados durante os intervalos 01-07; 01-14; 01-21; 01-28; 01-35 e 01-42 dias no parâmetro de consumo médio de ração (CR).

Resultados similares ao presente estudo, foram obtidos por Maioka et al. (2001) que ao adicionarem na dieta probiótico, prebiótico, simbiótico e antibiótico não observaram diferença significativa ($P < 0,05$) no consumo médio de ração (CR) entre os tratamentos. Do mesmo modo, Nunes (2008) ao testar o uso probiótico, prebiótico e antibiótico também não observou diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os tratamentos.

Resultado similar foi encontrado por Santos et al. (2005) ao avaliarem tratamentos com antibiótico, MOS, FOS e probiótico. Estes autores não observaram efeito desses aditivos sobre o consumo médio de ração (CR).

Albino et al. (2006) em seu estudo utilizaram um antibiótico (avilamicina), dois níveis de MOS (padrão e alta concentração) de forma isolada ou associada e no final da criação não encontraram melhora significativa ($P < 0,05$) no consumo médio de ração (CR).

Pelicano et al. (2004) não observaram diferença significativa ($P < 0,05$) entre dois tratamentos com probiótico e dois tratamentos com prebióticos e o tratamento controle no consumo médio de ração (CR).

Entretanto, os resultados do presente estudo, não coincidem com os encontrados por Opalinski et al. (2007). Estes autores observaram maior consumo de ração no período de 01-21; 01-35 e 01-42 dias nos tratamentos contendo *Bacillus subtilis* (8×10^5 CFUs/g) e *Bacillus subtilis* (3×10^5 CFUs/g) em comparação ao tratamento com antibiótico, mas não diferindo do controle.

Boratto et al. (2004) encontraram maior consumo de ração no tratamento com probiótico em relação aos outros tratamentos no período de 21 dias de idade, mas não observaram diferença ($p < 0,05$) no período total de criação.

Zulkifli (2000) encontrou menor consumo de ração (CR), ao utilizar bactérias do gênero *Lactobacillus spp* na ração em relação ao controle.

3.3 CONVERSÃO ALIMENTAR (CA)

Para os intervalos de 01-07; 01-14; 01-21 dias, no parâmetro de conversão alimentar (CA), observou-se um efeito significativo ($P<0,05$) da interação (entre o probiótico e prebiótico utilizados), onde o simbiótico (prebiótico + probiótico) demonstrou uma melhor (menor) conversão alimentar em relação aos aditivos testados quando utilizados separadamente.

No intervalo de 01-28 dias foi obtido um efeito de prebiótico, pois quando este se apresentou na dieta, se observou melhor conversão alimentar (CA).

Nos intervalos de 01-35 e 01-42 dias não se observou diferença significativa ($P<0,05$) para nenhum dos contrastes testado.

Resultados observados por Nunes (2008), discordam dos encontrado nesse estudo. Este autor estudou o efeito de prebiótico e probiótico em relação ao antibiótico e controle, e não encontrou diferença significativa ($P<0,05$) no intervalo de 01-07; 01-14; 01-21 e 01-28 no parâmetro conversão alimentar (CA), entretanto no intervalo de 01-35 e 01-42 dias observou que os aditivos alcançaram valores de conversão alimentar (CA) similares ao do antibiótico, mas não diferindo do controle.

Flemming e Freitas et al. (2005) também obtiveram resultados que divergem do presente estudo até o intervalo de 28 dias para o parâmetro de conversão alimentar (CA), onde avaliando a adição de probiótico associado ou não a prebiótico e não encontraram diferença significativa ($P<0,05$), todavia, seus resultados coincidem com o presente estudo nos intervalos de 1-35 e 01-42 dias.

Ribeiro et al. (2007) não observaram efeito do simbiótico em relação aos outros aditivos, no parâmetro de conversão alimentar (CA), mesmo as aves sendo desafiadas com *Salmonella enteritidis* no intervalo de 01-28 dias. Do mesmo modo, Teixeira et al. (2003) no mesmo período também não observaram diferença significativa ($P<0,05$) quando compararam a adição de probiótico na água e na ração com o tratamento controle no parâmetro de conversão alimentar (CA).

Santos et al. (2005) observaram melhor conversão alimentar nos tratamentos com MOS e FOS em relação ao antibiótico e probiótico no período total de criação. Já Santin et al, (2001) observaram que a suplementação de 0,01% e 0,02% de parede celular de *S. cerevisiae*

como prebióticos nos períodos de 21 e 42 dias de idade, proporcionaram maiores valores de conversão alimentar (CA) em relação à dieta não suplementada.

Entretanto outros resultados concordam com o presente estudo. Boratto et al. (2004), não observaram diferença significativa ($P < 0,05$) no parâmetro de conversão alimentar (CA) entre os tratamentos, antibiótico, probiótico e controle, no período 01-42 dias. Do mesmo modo Bittencourt (2006) em seu estudo, utilizou tratamentos com probiótico, antibiótico e controle e não observou diferença ($P < 0,05$) na conversão alimentar (CA) em nenhum dos períodos avaliados, concordando com o presente estudo.

3.4 MORTALIDADE (M)

Não foi possível observar diferença significativa ($P < 0,05$) nos contrastes testados durante os intervalos 01-07; 01-14; 01-21; 01-28; 01-35 e 01-42 dias no parâmetro de mortalidade.

Na literatura há vários trabalhos utilizando prebiótico, probiótico e simbiótico, concordando com o presente estudo no parâmetro de mortalidade (DIONIZIO et al, 2002; WALDROUP et al. 2003; FLEMMING et al. 2004; SANTOS et al, 2005; RIBEIRO et al, 2007). Entretanto Pelicano et al. (2004) em seu estudo com o uso de probiótico e prebiótico observaram maior viabilidade com o uso destes aditivos na dieta.

Como as condições de criação podem influenciar diretamente na eficiência dos aditivos testados, as boas práticas de manejo sanitário utilizadas nesse experimento e a ausência de desafio sanitário podem ter sido determinantes para a ausência de efeitos mais expressivos dos aditivos testados sobre o desempenho.

Quanto ao grande número de resultados contraditórios encontrados na literatura, alguns fatores podem estar envolvidos como estresse, condições sanitárias do galpão, número e tipo de microrganismos presentes no probiótico (LIMA et al. 2003), diferença nos compostos utilizados com prebióticos (SILVA; NORBERG, 2003), além de via de administração dos aditivos testados.

4 CONCLUSÃO

Nas condições experimentais e diante dos resultados do presente estudo, não foi possível observar efeito dos contrastes testados em nenhum dos parâmetros de desempenho avaliados considerando o período total de criação. Entretanto recomenda-se mais estudos, devido a grande diversidade de resultados na literatura.

REFERÊNCIAS

- ALBINO, L. F. T.; FERES, F. A.; DIONOZIO, M. A.; ROSTAGNO, H. S.; VARGAS JÚNIOR, J. G.; CARVALHO, D. C. O.; GOMES, P. C.; COSTA, C. H. R. Uso de prebióticos a base de mananoligossacarídeo em rações para frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n.3, 2006.
- ALBINO, L. F. T.; BUNZEN, S.; ROSTADNO, H. S. Ingredientes promotores de desempenho para frangos de corte In: VII SEMINÁRIO DE AVES E SUÍNOS, 2007, Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte: AveSui, 2007. p. 73-90.
- ANDREATTI FILHO, R.L.; SAMPAIO H. M. Probióticos e prebióticos: Realidade na avicultura moderna. **Avicultura Industrial**, SP, 1078: p.16-32, 2000.
- ANDREATTI FILHO, R.L.; SILVA, E. N. Probióticos e correlatos na produção avícola. In: PALERMO NETO, J.; SPINOSA, H. S.; GÓRNIAC, S. L. **Farmacologia aplicada à avicultura**. São Paulo: Roca, 2005. cap. 15, p. 225-248.
- ARAÚJO, J. A.; SILVA, J. H. V.; AMÂNCIO, A. L. L.; LIMA, M. R.; LIMA, C. B. Uso de aditivos na alimentação de aves. **Acta Veterinaria Brasília**, v. 1, n. 3, p. 69-77, 2007.
- 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.
- BORATTO, A. J.; LOPES, D. C.; OLIVEIRA, R. F. M.; ALBINO, L. F. T.; SÁ, L. M.; OLIVEIRA, G. A. Uso de antibiótico, de probiótico e de homeopatia em frangos de corte criados em ambiente de conforto, inoculados ou não com *Escherichia coli*. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 33, n. 6, p. 1477-1485, 2004.
- CARAMORI, J. G.; ROÇA, R. O.; FRAGA, A. L.; VIEITES, F. M.; MORCELLI, L.; GONÇALVES, M. A. Efeito de simbiótico na ração inicial de frangos de corte sobre o desempenho, qualidade de carcaça e carne. **Acta Scientiarum. Animal Science**. v. 30, n, 1, p. 17-23, 2008.
- 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.

DIONIZIO, M. A.; BERTECHINI, A. G.; KATO, R. K.; TEIXEIRA, A. S. Prebióticos como promotores de crescimento para frangos de corte – desempenho e rendimento de carcaça. **Ciência Agrotécnica**, Lavras. Edição Especial, p. 1580-1587, dez., 2002.

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

FLEMMING, J. S.; FREITAS, R. J. S. Avaliação do efeito de prebióticos (MOS), probióticos (*Bacillus licheniformis* e *Bacillus subtilis*) e promotor de crescimento na alimentação de frangos de corte. **Archives of Veterinary Science**. v. 10, n. 2, p. 41-47, 2005.

FLEMMING, J. S.; FREITAS, J. R. S.; FONTOURO, P.; MONTANHINI NETO, R.; ARRUDA, J. S. Use of mannanoligosaccharides in broiler feeding. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 6, n. 3, p. 159-161, 2004.

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

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.

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

KALAVATHY, R. et al. Effects of *Lactobacillus* cultures on growth performance, abdominal fat deposition, serum lipids and weight of broiler chicken. **British Poultry Science**, v. 44, n. 1, p. 139-144, 2003.

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

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

MAIORKA, A.; SANTIN, E.; SUGETA, S. M.; ALMEIDA, J. G.; MACARI, M. Utilização de prebióticos, probióticos e simbióticos em dietas para frangos. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 3, n.1, p. 75-82, 2001.

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

NUNES, A. D. **Influência do uso de aditivos alternativos a antimicrobianos sobre o desempenho, morfologia intestinal e imunidade de frangos de corte**. 2008. 111f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

NUNES, R. V. **Avaliação de probiótico, prebiótico e antibiótico com promotores de crescimento para frangos de corte de 1 a 42 dias de idade**. 2005. Relatório de pesquisa. Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Paraná, 2005.

OPALINSKI, M.; MAIORKA, A.; DAHLKE, F.; CUNHA, F.; VARGAS, F. S. C.; CARDOSO, E. On the use of a probiotic (*Bacillus subtilis* – strain DSM 17299) as growth promoter in broiler diets. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 9, n. 2, p. 99-103. 2007.

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.; BAIOGO, M. M. Productive traits of broiler chickens fed diets containing different growth promoters. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**. v. 6, n. 3, p. 177-182, 2004.

RIBEIRO, A. M. L.; VOGT, L. K.; CANAL, C. W.; CARDOSO, M. R. I.; LABRES, R. V.; STRECK, A. F.; BESSA, M. C. Effects of prebiotics and probiotics on the colonization and immune response of broiler chickens challenged with *salmonella enteritidis*. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**. v. 9, n. 3, p. 193-200, 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.

SANTOS, E. C.; TEIXEIRA, A. S.; FREITAS, R. T. F.; RODRIGUES, P. B.; DIAS, E. S.; MURGAS, L. D. S. Uso de aditivos promotores de crescimento sobre o desempenho, características de carcaça e bactérias totais do intestino de frangos de corte. **Ciência Agrotécnica**, v. 29, n. 1, p. 223-231, 2005.

SARTORI, J. R.; PERREIRA, K. A.; GONÇALVES, J. C.; CRUZ, V. C.; PEZZATO, A. C. Enzima e simbiótico para frangos criados nos sistemas convencional e alternativo. **Ciência Rural**, v. 37, n. 1, p. 235-240, 2007.

SCHWARZ, K. K. **Substituição de antimicrobianos por probióticos e prebióticos na alimentação de frangos de corte**. 2002. 46f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

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

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.

SAS. STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM. Institute Incorporation. **SAS User's guide: statistics**. 8 ed. [S.1], 2001.

TEIXEIRA, A. S.; CAVALCANTI, J. S.; OST, P. R.; SCHOULTEN, N. A. Probióticos em rações de frangos de corte utilizando farinha de carne e ossos com diferentes níveis de contaminação bacteriana. **Ciência Agrotécnica**, v. 27, n. 4, p. 927-933, 2003.

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.

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, 2008.

ZULKIFLI, I.; ABDULLAH, N.; AZRIN, N. M.; HO, Y. W. Growth performance and immune response of two commercial broiler strains fed diets containing Lactobacillus cultures and oxutetracycline under heat stress conditions. **British Poultry Science**, v. 41, p. 593-597, 2000.

CAPITULO IV – INFLUÊNCIA DE PROBIÓTICO, PREBIÓTICO E SIMBIÓTICO EM PARÂMETROS DE RESPOSTA IMUNE DE FRANGOS DE CORTE.

RESUMO

O presente estudo foi realizado com o objetivo de avaliar a influência da suplementação de um probiótico (bactérias do gênero *Enterococcus ssp* (10^6 UFC/g) e bactérias do gênero *Lactobacillus acidophilus* (10^7 UFC/g)), um prebiótico (MOS) e um simbiótico (bactérias do gênero *Enterococcus ssp* (10^6 UFC/g) e bactérias do gênero *Lactobacillus acidophilus* (10^7 UFC/g) e MOS) sobre alguns parâmetros de resposta imune de frangos de corte. Foram utilizadas 1400 pintos de corte, criados até 42 dias de idade, em um delineamento inteiramente casualizado, com 5 tratamentos: Controle; Probiótico; Prebiótico; Simbiótico (prebiótico + probiótico); Antibiótico, 7 repetições/tratamento com 40 aves cada. Os parâmetros avaliados foram: Resposta vacinal contra a doença de Newcastle e peso relativo de órgãos linfóides. No parâmetro de resposta vacinal contra a doença de Newcastle, aos 28 dias observou-se um efeito de prebiótico, pois nos tratamentos onde o mesmo esteve presente, uma melhor resposta vacinal foi encontrada. Já quanto ao peso de órgãos linfóides, quando se teve a presença de prebiótico na dieta, o valor de peso relativo de baço se apresentou menor, entretanto, o mesmo não foi encontrado no peso relativo de timo e bursa.

Palavras-chave: Aditivos. Imunidade. Frango de Corte.

CHAPTER IV - INFLUENCE OF PROBIOTIC, PREBIOTIC AND SYMBIOTIC IN IMMUNE RESPONSE PARAMETER OF BROILER

ABSTRACT

This study evaluated the influence of a probiotic (*Enterococcus ssp* (10^6 UFC/g) bacteria and *Lactobacillus acidophilus* (10^7 UFC/g) bacteria), a prebiotic (MOS) and a symbiotic (*Enterococcus ssp* (10^6 UFC/g) bacteria and *Lactobacillus acidophilus* (10^7 UFC/g) bacteria e MOS) supplementation, under some immune response parameters of broilers. 1400 day-old broiler chicks were used during 42 days, in a randomized block design, with 5 treatments: Control, Probiotic, Prebiotic, Symbiotic (prebiotic + probiotic) and Antibiotic, and 7 repetitions with 40 chicks each. The following parameters were mensurated: Antibodies response against Newcastle disease and relative weight of lymphoid organs. For the antibodies response against Newcastle disease, there was a significant effect in the prebiotic treatment, showing a better vicinal response on the 28th days. Regarding to lymphatic organs, the prebiotic treatment showed a lower spleen weight, however there was no significant effect in both thymus and bursa of Fabricius weighs.

Keywords: Additives. Immunity. Broiler.

1 INTRODUÇÃO

O sucesso da produção avícola depende da sanidade, assim o que se busca é sempre os melhores resultados da função imune das aves. Por isso, o bom funcionamento do sistema imune das aves é alvo de grande interesse (LAAN, 1999).

O mecanismo de defesa da ave contra os agentes infecciosos é o sistema imune (FERKET, 1999). O sistema imune protege o organismo animal contra agentes estranhos, tais como bactérias e vírus. Suas funções podem servir como indicadores confiáveis de um possível impacto positivo e negativo no sistema animal como um todo (QURESHI, 2002).

Na produção de aves, os altos níveis zootécnicos dependem diretamente do bom funcionamento do sistema imune. Para isso as aves utilizam diversos mecanismos de proteção, desde os mais simples (defesa inespecífica) até mecanismos complexos (defesa específica – imunológica) (LAAN, 1999).

A defesa inespecífica é a primeira barreira contra as agressões de agentes infecciosos e é constituída pela pele intacta e mucosa íntegra. A defesa específica necessita de um contato prévio com o agente envolvido, quer seja através de uma infecção anterior ou através de vacinação e, está estruturada sobre a imunidade humoral e imunidade celular (LAAN, 1999, FAIRBROTHER et al., 2004).

A resposta imune humoral é caracterizada pela participação de imunoglobulinas (Ig) ou anticorpos séricos, os quais são produzidos por plasmócitos derivados de linfócitos B ativados e diferenciados após 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 de plasmócitos (MONTASSIER, 1998; QURESHI, 2002).

Já a resposta imune celular diferencia-se da humoral, devido haver a participação de linfócitos T auxiliares e citotóxicos. Os linfócitos T auxiliares participam na sensibilização e diferenciação dos linfócitos B através da produção de interleucinas, na ativação de macrófagos e de linfócitos T citotóxicos. Os linfócitos citotóxicos atacam diretamente a célula-alvo promovendo a sua destruição através de linfocinas (LAAN, 1999).

Os linfócitos T e B têm como origem comum células primordiais indiferenciadas, que migram do saco vitelino para o timo e bursa de Fabricius (órgãos linfóides primários) em torno de oito a nove dias de incubação. As células que migrarem para o timo e bursa de

Fabricsius sofrerão um processo de multiplicação e maturação, diferenciando-se em linfócito T e linfócito B, respectivamente (LAAN, 1999).

Os linfócitos T e B ao se tornarem imunologicamente competentes (maduros), por volta de 3 semanas de desenvolvimento embrionário, irão migrar do timo e da bursa de Fabricsius para os órgãos linfóides secundários, que incluem-se, o baço, tonsilas cecais, glândula de Harder, medula óssea e placas de Peyer (LAAN, 1999; QURESHI, 2002).

Esses órgãos linfóides estão espalhados ao longo do trato intestinal (placas de Peyer, tonsilas cecais e bursa) e captam antígenos disponibilizados no trato digestório que estimulam às células B precursoras de IgA e células T colaboradoras das placas de Peyer (SILVA, 2000a). Assim, Silva (2000a) relata que o trato intestinal das aves é o órgão de maior responsabilidade no desenvolvimento da imunidade geral inespecífica. Entretanto não podemos esquecer a inter-relação entre imunidade e nutrição, que tem sido objeto de muitas pesquisas.

Qureshi (2002) cita que uma melhora imunológica via nutrição poderia reduzir a necessidade do uso de substâncias químicas melhoradoras do crescimento tais como os antibióticos.

Segundo Ribeiro e Rudnik (2002), a nutrição atuaria como ferramenta para modular o sistema imune e produziria um estado ideal de imunidade. Assim os nutrientes imunoestimulantes influenciariam de forma positiva no desempenho zootécnico do animal, pela diminuição do estresse imunológico e desta forma, minimizando a mobilidade de nutrientes para atividade que não estejam ligadas com produção (FERKET, 2003).

O estresse imunológico é definido como exposição a um antígeno sofrido pela ave, resultando 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).

Portanto, para melhorar o desempenho das aves, a busca por algumas alternativas, como o uso de prebiótico, probiótico e simbiótico na dieta das aves é constante. Esses aditivos além de promoverem a modulação benéfica da microbiota intestinal possuem efeitos imunomoduladores que promovem a ativação do sistema imune (QURESHI, 2002; NUNES, 2008).

Relatos de literatura indicam que há vários prebióticos, probióticos e simbióticos que possuem efeitos imunomoduladores (COTTER, 1994; COPPOLA; TURNES, 2004).

Entretanto, os mecanismos específicos de ação sobre a resposta imune quando da ingestão destes produtos ainda não estão bem esclarecidos (ERICKSON; HUBBARD, 2000; FERREIRA et al., 2002; MENTEN; LODDI, 2003).

Devido à escassez de estudos de prebióticos, probióticos e simbióticos relacionados à imunidade das aves, o presente estudo teve como objetivo avaliar alguns parâmetros da resposta imune das aves.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 LOCAL E PERÍODO EXPERIMENTAL

O experimento foi conduzido em agosto e setembro 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 de Pirassununga, Estado de São Paulo, Empregou-se um galpão de alvenaria dividido em 36 boxes de 4,25m² cada, com a criação das aves em piso.

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

2.2 ANIMAIS

Foram utilizados 1400 pintos de um dia, machos da linhagem Cobb 500 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 5 diferentes tratamentos: Controle, Prebiótico, Probiótico, Simbiótico (prebiótico + probiótico) e Antibiótico. Havia 7 repetições (boxes) por tratamento de 40 aves cada.

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

O grupo suplementado com prebiótico tinha como princípio ativo um mananoligossacarídeo derivado da parede celular da levedura *Saccharomyces cerevisiae*, comercializado sob o nome de Simbiótico[®] pela empresa BioCamp Laboratórios Ltda, Campinas-SP. O produto em pó foi adicionado à dieta na dose de 2 kg/ton de ração nas diferentes fases de criação.

O grupo suplementado com probiótico tinha como princípio ativo bactérias do gênero *Enterococcus ssp* (10^6 UFC/g) e bactérias do gênero *Lactobacillus acidophilus* (10^7 UFC/g), comercializado sob o nome Colostrum Mix[®] pela empresa BioCamp Laboratórios Ltda, Campinas-SP. O produto em pó foi adicionado à dieta na dose de 400g/ton de ração nas diferentes fases de criação.

O grupo suplementado com simbiótico tinha como princípio ativo um mananoligossacarídeo derivado da parede celular da levedura *Saccharomyces cerevisiae* e bactérias do gênero *Enterococcus ssp* (10^6 UFC/g) e bactérias do gênero *Lactobacillus acidophilus* (10^7 UFC/g), comercializado sob o nome de Simbiótico Plus[®] pela empresa BioCamp Laboratórios Ltda, Campinas-SP. O produto em pó foi adicionado à dieta na dose de 2kg/ton de ração nas diferentes fases de criação.

O grupo antibiótico foi suplementado com o promotor de crescimento avilamicina 10 ppm na dose 100g/ton de ração, comercializado sob o nome de 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.

Todos os aditivos foram utilizados conforme as recomendações dos fabricantes 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.

As tabelas 1 e 2, capítulo III apresentam a composição percentual e análise calculada das rações experimentais nas diferentes fases de criação.

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 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 nova e do material maravalha.

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 gastrintestinal 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

2.6.1 **Imunidade humoral**

2.6.1.1 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, com vacina liofilizada, cepa VG/GA, viva e atenuada. A dose vacinal utilizada foi à recomendada pelo fabricante (0,03 ml) e utilizou-se o diluente do fabricante, na proporção de 30 ml/1000 doses vacinais.

Para a avaliação dos títulos séricos de anticorpos contra Newcastle foram coletadas amostras de 14 aves de cada tratamento (duas de cada parcela experimental). Essas aves coletadas foram identificadas individualmente, o que permitiu a coleta subsequente das mesmas aves aos 14 (antes da vacinação), 28 e 35 dias de vida, por punção de veia ulnar.

Estas amostras foram colocadas em microtubos (eppendorf) sem anticoagulante e, centrifugadas para obtenção do soro. Posteriormente, 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).

2.6.2 **Peso relativo dos órgãos linfóides**

Aos 42 dias de idade, 7 aves de cada tratamento (uma de cada unidade experimental) foram sacrificadas por deslocamento cervical, para coleta e pesagem dos seguintes órgãos: bursa, timo e baço. Os resultados expressos representam a relação entre o peso do órgão e o peso vivo da respectiva ave.

2.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram analisados com o auxílio do programa computacional Statistical Analysis System (SAS, 2001), sendo anteriormente verificada as normalidades dos resíduos pelo Teste de Shapiro-Wilk (PROC UNIVARIATE) e as variáveis comparadas pelo Teste de Hartley (OTT, 1983). Obedecendo-se às premissas citadas, os dados foram submetidos à análise de variância através do *General Linear Model* (PROC GLM). Para a separação dos efeitos de tratamentos foi utilizada a metodologia dos contrastes, admitindo-se um arranjo fatorial do tipo $2 \times 2 + 1$ (com e sem prebiótico; com e sem probiótico; e antibiótico), ao nível de significância de 5%. Os contrastes utilizados foram: efeito de prebiótico, efeito de probiótico, efeito da interação (entre prebiótico e probiótico), e efeito do antibiótico x (prebiótico + probiótico + simbiótico) como apresentado na tabela 3, do capítulo III.

Para a variável título de anticorpos contra a doença de Newcastle foi adicionada na análise de variância o fator medidas repetidas no tempo, referentes às diferentes datas de coletas dos dados. As propriedades da interação com o tempo pelo comando “REPEATED” no PROC GLM para análises de variância. As análises por tempo somente foram realizadas quando as interações entre o tempo e os tratamentos foram significativas. Para tal será utilizado o comando SLICE do GLM do SAS. Foi utilizado nível de significância de 5%.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

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

3.1 RESPOSTA A VACINA DE NEWCASTLE

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

Os efeitos dos aditivos sobre os títulos médios de anticorpos vacinais contra a doença de Newcastle, obtidos pelo teste ELISA estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 – Médias dos títulos de anticorpos contra o vírus da doença de Newcastle em frangos de corte aos 14, 28 e 35 dias de idade.

Parâmetros	Tratamentos					CV (%)	PROBABILIDADE			
	SEM PROBIÓTICO		COM PROBIÓTICO		Antibiótico		Prebiótico	Probiótico	Interação	Antibiótico
	Sem Prebiótico	Com Prebiótico	Sem Prebiótico	Com Prebiótico						
01-14 dias	2,17	2,36	2,48	2,30	1,95	18,79	0,9420	0,2377	0,0851	0,0008
01-28 dias	2,44	2,69	2,37	2,76	2,69	18,78	0,0149	0,9854	0,6013	0,5691
01- 35 dias	2,62	2,75	2,99	2,75	2,80	15,78	0,6316	0,1246	0,1206	0,8233

CV: Coeficiente de variação (%).

Aos 14 dias de idade, antes da vacinação das aves, as médias de títulos de anticorpos analisados são considerados anticorpos passivos (de origem materna). Neste mesmo período houve efeito de antibiótico, onde os aditivos testados apresentaram valores significativamente maiores ao tratamento com antibiótico ($P < 0,05$).

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 observou-se um efeito de prebiótico, pois os tratamentos onde o prebiótico esteve presente apresentaram uma melhor resposta vacinal.

Aos 35 dias de idade, não se observou diferença significativa ($P < 0,05$) em nenhum dos contrastes testados.

É possível observar nos resultados apresentados o baixo número de títulos de anticorpos em todos os tratamentos utilizados. Esses resultados podem ser justificados pelo baixo desafio sanitário.

O estudo de Bittencourt (2006) discorda do presente trabalho, pois o autor observou maiores títulos de anticorpos contra a doença de Newcastle em frangos de corte que receberam probiótico em relação ao antibiótico e ao controle. Do mesmo modo Zulkifli et al. (2000) ao avaliarem os títulos de anticorpos contra a doença de Newcastle, observaram os maiores valores de títulos no tratamento com probiótico em relação ao controle, mas não diferindo do tratamento com antibiótico, porém estes resultados foram observados apenas após período de exposição à alta temperatura, o que reforça o argumento de que os benefícios do probiótico são intensificados em situações de estresse.

Balevi et al. (2001) não observaram diferença significativa ($P < 0,05$), ao avaliarem o efeito de um probiótico comercial na resposta imune humoral de galinhas poedeiras e atribuíram a ausência de estímulo ao uso de microrganismos não específicos para a espécie em estudo.

Nunes (2008) avaliou a adição na dieta de prebiótico e probiótico e encontrou maiores valores de títulos de anticorpos contra a doença de Newcastle para o tratamento com probiótico em relação ao controle, mas não diferindo do antibiótico e do prebiótico.

Vesna et al. (2007) observaram maior título de anticorpos contra a doença de Newcastle, ao tratamento suplementado por MOS em comparação ao tratamento controle.

3.2 PESO RELATIVO DOS ÓRGÃOS LINFÓIDES

Os resultados das médias dos pesos de órgãos linfóides, em porcentagem de peso vivo de frangos de corte, sob os diferentes tratamentos, estão representados na tabela 2.

Tabela 2 – Pesos médios relativos dos órgãos linfóides: bursa, timo e baço de frangos de corte aos 42 dias de idade, sob os diferentes tratamentos

Parâmetros	Tratamentos					CV (%)	PROBABILIDADE			
	SEM PROBIÓTICO		COM PROBIÓTICO		Antibiótico		Prebiótico	Probiótico	Interação	Antibiótico
	Sem Prebiótico	Com Prebiótico	Sem Prebiótico	Com Prebiótico						
Bursa										
	0,168	0,184	0,208	0,173	0,194	28,75	0,6514	0,4861	0,2410	0,8231
Timo										
	0,281	0,308	0,323	0,342	0,410	37,80	0,6290	0,4343	0,9309	0,1271
Baço										
	0,131	0,101	0,112	0,087	0,100	30,85	0,0281	0,1763	0,8285	0,9889

CV: Coeficiente de variação (%).

Foi possível observar uma diferença significativa ($P<0,05$) para o efeito de prebiótico no peso relativo do baço, ao qual se apresentou menor, quando houve a presença do prebiótico. Entretanto não se observou diferença significativa ($P<0,05$) entre os tratamentos para o peso relativo do timo e da bursa.

Yang et al. (2007) obtiveram resultados que divergem dos obtidos no presente estudo, pois não observaram efeito do MOS sobre o peso relativo do baço e da bursa de frangos de corte.

Bittencourt (2006) ao suplementar a dieta de aves com probiótico, notou menor peso relativo da bursa nos animais suplementados em relação ao do antibiótico, mas não diferiu do controle.

Nunes (2008) observou que a dieta suplementada com prebiótico apresentou maior peso relativo do timo em relação aos tratamentos com antibiótico, probiótico e controle, sendo que o mesmo não ocorreu com a bursa e baço, onde os tratamentos não diferiram.

Fatores como composição dos ingredientes da dieta, nível do estresse animal, dosagem e via de administração dos aditivos, composição do probiótico e diferença nos componentes utilizados com prebiótico (LIMA et al., 2003; SILVA E NORNBORG, 2003) que influenciam o efeito dos aditivos sobre o sistema imune e, os resultados na literatura poucos conclusivos e contraditórios (mesmo com alguns estudos que relatam os efeitos imunomoduladores utilizando esses aditivos testados), justificam a continuidade dos estudos desde que os desafios sanitários sejam intensivos.

4 CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos no presente estudo, foi possível constatar que houve um efeito significativo ($P < 0,05$) na melhoria da produção de anticorpos contra a doença de Newcastle no grupo suplementado com prebiótico no período de 28 dias. Entretanto, quando da presença de prebiótico na dieta, o valor de peso relativo de baço se apresentou menor.

REFERÊNCIAS

LAAN, C. W. Fatores que afetam a resposta imunitária. In: Congresso de Produção e Consumo de Ovos, I., 1999, São Paulo: **Anais...** São Paulo: Associação Brasileira de Avicultura, 1999, p. 43-52.

BALVI, T.; UÇAN, U. S.; COSKUN, B; KURTOGLU, V.; CERTINGUI, I. S. Effect of dietary probiotic on performance and humoral immune response in layer hens. **British Poultry Science**, v. 42, p. 456-461, 2001.

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.

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

EDENS, F. W. Na 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, I., 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: 13º RONDA LATINO AMERICANA DA ALLTECH – Em contato com a natureza – Aplicações práticas de tecnologias naturais, 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: Ed. Guanabara Koogan, 2002. p. 574-578.

HAMANN, L.; EL-SAMALOUTI, V.; ULMER, A. J.; FLAD, H. D.; RIETSCHER, E. T. Components of gut bacteria as immunomodulators. **International Journal of Food Microbiology**, v. 41, p. 141-154, 1998.

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

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

MENTEN, J. F. M.; LODDI, M. M. Probióticos, prebióticos e aditivos fitogênicos na nutrição de aves. In: SIMPÓSIO DE 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.

NUNES, A. D. **Influência do uso de aditivos alternativos a antimicrobianos sobre o desempenho, morfologia intestinal e imunidade de frangos de corte**. 2008. 111f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

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

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

QURESHI, M. A. Interação entre Nutrição e o Sistema Imune e Produtividade das Aves. In: Conferência APINCO 2002 de Ciência e Tecnologia Avícolas, Campinas: **Anais...** Campinas: Fundação APINCO de Ciências e Tecnologias Avícolas, 2002, v. 2, p. 243-251.

RIBEIRO, A. M. L; RUDNIK, L. Modulação nutricional e resposta imunológica. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO E NUTRIÇÃO DE AVES E SUÍNOS E TECNOLOGIA DE PRODUÇÃO DE RAÇÕES., 2002, Campinas. **Anais...** Campinas: CBNA, 2002. p. 227-238.

SAS. STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM. Institute Incorporation. **SAS User's guide: statistics**. 8 ed. [S 1]: SAS, 2001.

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

VESNA, T.; LAZAREVIC, M.; SINOVEC, Z.; TOKIC, A. The influence of different feed additives to performance 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 mannanoligosaccharide on growth performance and gut development of broiler chickens. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 20, n. 7, p. 1084-1091, 2007.

ZULKIFLI, I.; ABDULLAH, N.; AZRIN, N. M.; HO, Y. W. 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 DE PROBIÓTICO, PREBIÓTICO E SIMBIÓTICO SOBRE A MORFOLOGIA INTESTINAL DE FRANGOS DE CORTE.

RESUMO

O presente estudo foi realizado com o objetivo de avaliar a influência da suplementação de um probiótico (bactérias do gênero *Enterococcus ssp* (10^6 UFC/g) e bactérias do gênero *Lactobacillus acidophilus* (10^7 UFC/g)), um prebiótico (MOS) e um simbiótico (bactérias do gênero *Enterococcus ssp* (10^6 UFC/g) e bactérias do gênero *Lactobacillus acidophilus* (10^7 UFC/g) e MOS) sobre a morfologia intestinal de frangos de corte. Foram utilizadas 1400 pintos de corte, criados até 42 dias de idade, em um delineamento inteiramente casualizado, com 5 tratamentos: Controle; Probiótico; Prebiótico; Simbiótico (prebiótico + probiótico); Antibiótico, 7 repetições/tratamento com 40 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; Relação vilo/cripta. O probiótico, quando adicionado à dieta, causou uma menor altura de vilo de jejuno. Já na altura de vilo do íleo observou-se um efeito da interação de forma antagônica. No parâmetro de profundidade de cripta encontrou-se um efeito de interação de forma antagônica para o duodeno e um efeito de probiótico no jejuno, onde o mesmo ao ser adicionado à dieta apresentou menores valores. Já o número de células caliciformes se apresentou aumentado quando havia a presença de prebiótico na dieta tanto no duodeno como no jejuno. Quanto à relação vilo/cripta não se obteve efeito dos contrastes testados.

Palavras-chave: Aditivos. Morfologia Intestinal. Frango de Corte.

CHAPTER V – INFLUENCE OF PROBIOTIC, PREBIOTIC AND SYMBIOTIC IN THE INTESTINAL MORPHOLOGY OF BROILER

ABSTRACT

This study evaluated the influence of a probiotic (*Enterococcus ssp* (10^6 UFC/g) bacteria and *Lactobacillus acidophilus* (10^7 UFC/g) bacteria), a prebiotic (MOS) and a symbiotic (*Enterococcus ssp* (10^6 UFC/g) bacteria and *Lactobacillus acidophilus* (10^7 UFC/g) bacteria and MOS) supplementation, on the intestinal morphology of broilers. 1400 day-old broiler chicks were used during 42 days, in a randomized block design, with 5 treatments: Control, Probiotic, Prebiotic, Symbiotic (prebiotic + probiotic) and Antibiotic, and 7 repetitions with 40 chicks each. On the 42nd experiment day, fragments of duodenum, jejunum and ileum were collected for the following parameters: villus height, crypt depth, caliciforme cells number and relationship villus/crypt. The probiotic treatment showed a lower jejunum villus height. However there was antagonistic interaction effect in the ileum villus height. In the crypt depth parameter there was an antagonistic interaction effect in the duodenum and an effect of the probiotic treatment in the jejunum when it was added at the diet. Regarding to caliciforme cells number in the probiotic treatment, it was increased in both duodenum and jejunum. There was no significant effect in the relationship villus/crypt among the tested contrasts.

Keywords: Additives. Intestinal Morphology. Broiler.

1 INTRODUÇÃO

O trato digestório do frango de corte tem recebido pouca atenção dos pesquisadores, talvez devido ao fato de que este animal seja abatido precocemente. No entanto, considerando o seu acelerado crescimento e as necessidades de digerir e absorver nutrientes, melhor atenção deve ser dada a este sistema funcional das aves (MACARI; MAIORKA, 2000; FURLAN et al., 2004; MACARI; FURLAN, 2005).

O trato digestório das aves é representado por duas regiões distintas: o intestino delgado (duodeno, jejuno e íleo) e intestino grosso (colón, ceco e reto) (ITO et al., 2004).

De acordo com o estudo realizado por Bayer et al. (1975), o desenvolvimento da superfície do intestino delgado se inicia no duodeno, em seguida no jejuno e posteriormente no íleo.

Para um bom desempenho, as aves dependem da obtenção adequada de energia, portanto é necessário que o trato digestório apresente características estruturais funcionais desde a ingestão dos alimentos até a sua absorção (PELICANO et al., 2003).

Na eclosão o sistema digestório da ave está anatomicamente completo, mas sua capacidade funcional ainda não, portanto o trato gastrintestinal sofrerá grandes alterações morfológicas e fisiológicas. Essas alterações irão proporcionar um aumento na área de superfície de digestão e absorção.

Os processos de absorção são totalmente dependentes dos mecanismos que ocorrem na mucosa intestinal. Assim a integridade das células que compõem a mucosa intestinal é de fundamental importância para a absorção dos nutrientes (MACARI; FURLAN, 2005).

A mucosa intestinal é constituída pôr células denominadas de enterócitos, células caliciformes e as células enteroendócrinas. A maturação dos enterócitos ocorre durante o processo de migração da cripta para a ponta do vilô, portanto quanto maior o número de células, maior o tamanho do vilô, e por consequência maior a área de absorção (MACARI; MAIORKA, 2000; FURLAN et al., 2004). Outro fator importante é a quantidade de microvilos existentes no enterócitos, pois estes irão atuar como um amplificador de área para a absorção dos nutrientes.

De acordo com Macari (1999) o número de vilosidades e seu tamanho, bem como o de microvilos, em cada segmento do intestino delgado, conferem a eles características próprias, sendo que na presença de nutrientes a capacidade absorptiva do segmento será diretamente

proporcional ao número de vilosidades presentes, tamanho dos vilos e área de superfície disponível para absorção.

No entanto, o desenvolvimento da mucosa é estimulado por agentes tróficos, ou seja, que estimulam o processo mitótico na região cripta-vilo, e como consequência aumenta o número de células e tamanho do vilo (MACARI; MAIORKA, 2000; MAIORKA, 2001). Primariamente há 2 eventos citológicos associados: renovação celular (proliferação e diferenciação das células tetopotentes 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; MAIORKA, 2001).

O equilíbrio entre os dois processos (perda e proliferação celular) determina um *turnover* (proliferação – migração – extrusão) e assegura a manutenção do número de células e da capacidade funcional do epitélio. No entanto, quando o intestino responde a algum agente estimulador a favor de um deles, deve ocorrer uma modificação na altura dos vilos (MACARI et al., 1994; UNI et al., 1996).

Se ocorrer um aumento na taxa de proliferação (mitose) com ausência, diminuição ou manutenção da taxa de extrusão (perda celular) haverá um aumento no número de células e, consequentemente, observa-se um aumento na altura e densidade dos vilos e microvilos, resultado na maior taxa de digestão e absorção (MAIORKA, 2001; FURLAN et al., 2004). Logo, caso ocorra um aumento na taxa de extrusão (perda celular), haverá uma redução no tamanho do vilo e, ocorrerá um aumento na produção de células da cripta, como consequência, o aumento na profundidade de cripta (MAIORKA, 2001; FURLAN et al., 2004).

Nos vilos e criptas estão presentes as células caliciformes secretoras de muco, importantes na manutenção e desenvolvimento do epitélio intestinal. Estas protegem o epitélio durante a digestão, contra e quando da passagem de alimento, possuem poder lubrificante sobre os alimentos sólidos e funcionam como uma barreira protetora impedindo o contato de microrganismos com as células epiteliais.

Alguns trabalhos presentes na literatura indicam que probióticos, prebióticos e simbióticos podem melhorar a integridade da mucosa intestinal, mostrando assim um efeito trófico e consequentemente um melhor desempenho das aves (LODDI et al., 1998; MACARI; MAIORKA, 2000; SANTIN et al., 2001; LODDI, 2003; PELICANO, 2003).

Flemming (2005) relata que a suplementação com lactobacilos favorece a manutenção da integridade da mucosa intestinal e viabiliza a absorção intestinal das aves.

De acordo com Iji et al. (2001), os MOS estão associados à manutenção da integridade da mucosa intestinal, por aumentarem a altura dos vilos em diferentes partes do intestino delgado.

O mecanismo como o probiótico, prebiótico e simbiótico atuam na manutenção e proliferação da mucosa ainda não está bem elucidado, portanto, considerando os relatos existentes na literatura, o objetivo do presente trabalho é avaliar a influência de prebiótico, probiótico e simbiótico, sobre a morfologia intestinal de frangos de corte.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Os materiais e as metodologias utilizadas neste trabalho estão descritas nos itens que se segue

2.1 LOCAL E PERÍODO EXPERIMENTAL

O experimento foi conduzido em agosto e setembro 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 de Pirassununga, Estado de São Paulo, Empregou-se um galpão de alvenaria dividido em 36 boxes de 4,25m² 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 de 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 de 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 1400 pintos de um dia, machos da linhagem Cobb 500 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 5 diferentes tratamentos: Controle, Prebiótico, Probiótico, Simbiótico (prebiótico + probiótico) e Antibiótico. Havia 7 repetições (boxes) por tratamento de 40 aves cada.

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

O grupo suplementado com prebiótico tinha como princípio ativo um mananoligossacarídeo derivado da parede celular da levedura *Saccharomyces cerevisiae*, comercializado sob o nome de Simbiótico[®] pela empresa BioCamp Laboratórios Ltda, Campinas-SP. O produto em pó foi adicionado à dieta na dose de 2 kg/ton de ração nas diferentes fases de criação.

O grupo suplementado com probiótico tinha como princípio ativo bactérias do gênero *Enterococcus* *ssp* (10^6 UFC/g) e bactérias do gênero *Lactobacillus acidophilus* (10^7 UFC/g), comercializado sob o nome Colostrum Mix[®] pela empresa BioCamp Laboratórios Ltda, Campinas-SP. O produto em pó foi adicionado à dieta na dose de 400g/ton de ração nas diferentes fases de criação.

O grupo suplementado com simbiótico tinha como princípio ativo um mananoligossacarídeo derivado da parede celular da levedura *Saccharomyces cerevisiae* e bactérias do gênero *Enterococcus* *ssp* (10^6 UFC/g) e bactérias do gênero *Lactobacillus*

acidophilus (10^7 UFC/g), comercializado sob o nome de Simbiótico Plus[®] pela empresa BioCamp Laboratórios Ltda, Campinas-SP. O produto em pó foi adicionado à dieta na dose de 2kg/ton de ração nas diferentes fases de criação.

O grupo antibiótico foi suplementado com o promotor de crescimento avilamicina 10 ppm na dose de 100g/ton de ração, comercializado sob o nome de 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.

Todos os aditivos foram utilizados conforme as recomendações dos fabricantes 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.

As tabelas 1 e 2, capítulo III apresentam a composição percentual e análise calculada das rações experimentais nas diferentes fases de criação.

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 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 nova e do material maravalha.

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

Aos 42 dias de idade os animais foram abatidas por deslocamento cervical e coletados fragmentos do duodeno, jejuno e íleo de 7 animais por tratamento, sendo uma ave de cada repetição, para a análise da morfologia intestinal através da microscopia de luz. A metodologia utilizada é a descrita por Oliveira et al. (2000).

Os fragmentos foram coletados e lavados em solução salina e fixados em solução de Bouin por 24 horas. Após foram desidratadas com álcool, diafanizados, impregnados em xilol e incluídos em parafina.

Foi preparada uma lâmina por segmento intestinal de cada animal e em cada lâmina havia quatro cortes semi-seriados com seis micrometros de espessura.

Utilizou-se para a morfometria 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.

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

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

2.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram analisados com o auxílio do programa computacional Statistical Analysis System (SAS, 2001), sendo anteriormente verificada as normalidades dos resíduos pelo Teste de Shapiro-Wilk (PROC UNIVARIATE) e as variáveis comparadas pelo Teste de Hartley (OTT, 1983). Obedecendo-se às premissas citadas, os dados foram submetidos à análise de variância através do *General Linear Model* (PROC GLM). Para a separação dos efeitos de tratamentos foi utilizada a metodologia dos contrastes, admitindo-se um arranjo fatorial do tipo $2 \times 2 + 1$ (com e sem prebiótico; com e sem probiótico; e antibiótico), a nível de significância de 5%. Os contrastes utilizados foram: efeito de prebiótico, efeito de probiótico, efeito da interação (entre prebiótico e probiótico), e efeito do antibiótico (antibiótico x prebiótico + probiótico + simbiótico) como apresentado na tabela 3 do capítulo III.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

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: Altura de Vilo (Alt. vilo μm), Profundidade de Cripta (Prof. cripta), Número de Células Caliciformes (N° cel. cal./vilo) e Relação Vilo/Cripta (Rel. vilo/cripta).

Tabela 1 – Médias das medidas de morfologia intestinal de frangos de corte dos diferentes tratamentos

Parâmetros	Tratamentos					CV (%)	PROBABILIDADE			
	SEM PROBIÓTICO		COM PROBIÓTICO		Antibiótico					
	Sem Prebiótico	Com Prebiótico	Sem Prebiótico	Com Prebiótico			Prebiótico	Probiótico	Interação	Antibiótico
Alt. vilo (µm)										
Duodeno	2216,54	2262,92	2323,86	2275,76	2332,94	11,26	0,9933	0,5602	0,6465	0,7024
Jejuno	1356,16	1377,13	1152,26	1265,06	1272,75	13,80	0,3008	0,0187	0,4754	0,9146
Íleo	672,85	822,13	832,25	754,02	759,31	13,46	0,3295	0,2127	0,0035	0,2920
Prof. cripta (µm)										
Duodeno	244,35	249,27	289,31	252,32	267,26	9,04	0,0268	0,0015	0,0048	0,6471
Jejuno	182,53	177,22	162,33	149,55	152,27	14,78	0,2788	0,0066	0,6527	0,2648
Íleo	136,41	143,13	136,00	129,92	124,70	12,68	0,9607	0,2920	0,3211	0,1222
Nº cél. cal./vilo										
Duodeno	252	273	240	299	283	14,79	0,0059	0,6322	0,1730	0,4378
Jejuno	153	194	181	207	186	22,89	0,0431	0,2178	0,6591	0,6567
Íleo	104	118	117	127	125	15,17	0,0830	0,0897	0,7527	0,6023
Rel. vilo/cripta										
Duodeno	9,09	9,12	8,08	9,00	8,75	13,03	0,2906	0,2105	0,3143	0,9682
Jejuno	7,56	7,97	7,26	8,48	8,43	18,05	0,1405	0,8410	0,4612	0,4052
Íleo	5,02	5,78	6,11	5,83	6,16	13,98	0,4198	0,0591	0,0846	0,4497

CV: Coeficiente de variação (%).

Quanto ao parâmetro de altura de vilo, observou-se um efeito significativo ($P<0,05$) de probiótico, onde a adição do mesmo na dieta causou uma diminuição na altura de vilo no jejuno. Na altura de vilo do íleo observou-se um efeito significativo ($P<0,05$) da interação de forma antagônica, pois o efeito combinado de prebiótico e probiótico (simbiótico) apresentou-se menor que a soma dos efeitos de prebiótico e probiótico isoladamente.

Já no parâmetro de profundidade de cripta observa-se um efeito da interação de forma antagônica no duodeno, pois o efeito combinado de prebiótico e probiótico (simbiótico) se apresentou menor que a soma dos efeitos de prebiótico e probiótico isoladamente. Na profundidade de cripta do jejuno observa-se um efeito significativo ($P<0,05$) de probiótico, onde a adição do mesmo na dieta causou uma diminuição na profundidade de cripta.

O parâmetro de número de células caliciformes tanto no duodeno como no jejuno apresentou um efeito significativo de prebiótico, onde este, quando adicionado à dieta aumentou o número de células caliciformes. Não se observou nenhum efeito dos contrastes testados para a relação vilo/cripta.

Os resultados encontrados por Nunes (2008), discordam dos encontrados no presente estudo. Este autor adicionou prebiótico e probiótico na dieta de frangos de corte, e não encontrou nenhum efeito positivo sobre qualquer parâmetro morfológico que avaliou. Do mesmo modo Ribeiro et al. (2007) avaliaram a adição de prebiótico, probiótico e simbiótico em aves desafiadas com *Salmonella enteritidis* e não encontraram diferença significativa ($P<0,05$) entre os tratamentos nos parâmetros de altura de vilo e profundidade de cripta.

Santin et al. (2001) não observaram diferença significativa ($P<0,05$) nos parâmetros de altura de vilo, profundidade de cripta e na relação vilo/cripta ao suplementarem a dieta com prebiótico. Resultado similar foi encontrado por Yang et al. (2007) ao utilizarem MOS na dieta nos parâmetros de altura de vilo e profundidade de cripta.

Entretanto alguns trabalhos têm demonstrado vantagens do uso desses aditivos no parâmetro de morfologia intestinal. Pelicano et al. (2005) ao estudarem a suplementação de 2 probióticos e 2 prebióticos sobre a morfologia intestinal, observaram que tanto os probióticos como os prebióticos apresentaram maior altura de vilo nos três segmentos e maior comprimento de cripta no duodeno e no jejuno em relação ao controle.

Iji et al. (2001) avaliaram a suplementação de MOS com diferentes níveis (0,1%, 0,3% e 0,5%) e observou-se maior altura de vilos do jejuno de frangos de corte suplementados com o MOS ao nível de 0,5%, mas não obtiveram diferença quanto a profundidade de cripta e largura de vilo no jejuno e íleo. Corneli (2004) ao adicionar MOS + acidificantes à ração, não

observou diferença significativa para a altura de vilo nos três segmentos, em comparação com outros tratamentos. Já, Pelicano et al. (2003) ao estudarem o efeito de diferentes probióticos, observaram que os probióticos se apresentaram significativamente ($p < 0,05$) maiores na altura de vilo do duodeno em relação ao controle, mas não diferindo a profundidade de cripta nos diferentes segmentos.

De forma semelhante, os resultados observados por estes últimos autores corroboram com os encontrados no presente trabalho, onde se observou algum efeito trófico relativo à utilização dos aditivos testados.

4 CONCLUSÃO

Mesmo com as boas práticas de manejo sanitárias, e a ausência de desafio sanitário, se consegue observar alguns efeitos tróficos na morfologia intestinal das aves ao adicionar os aditivos testados na dieta.

REFERÊNCIAS

BAYER, R. C.; CHAWAN, C. B.; BIRD, F. H.; MUSGRAVE, S. D. Characteristic of the absorptive surface of the small intestine of the chicken from 1 day to 14 weeks of age. **Poultry Science**, v. 55, p. 155-169, 1975.

CORNELI, J. **Avaliação de promotores de crescimento alternativos em substituição aos convencionais sobre o desempenho, característica de carcaça e morfologia intestinal em frangos de corte**. 2004. 59 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Santa Maria, Rio Grande do Sul, 2004.

FLEMMING, J. S. **Utilização de leveduras, probióticos e mananoligossacarídeos (MOS) na alimentação de frangos de corte**. 2005. 109 f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Paraná, Paraná, 2005.

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

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

ITO, N. M. K.; MIJAYI, C. I.; LIMA, E. A.; OKABAYASHI, S. **Produção de frangos de corte**. Campinas-SP.: FACTA, Fundação Apinco de Ciência e Tecnologia Avícolas 2004. cap. 13, p. 207-215.

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.

LODDI, M. M.; GONZALES, E. Efeito da adição de probiótico e antibiótico como promotores de crescimento de frangos de corte. In: REUNIÃO ANUAL DA SBZ, 35., 1998, Botucatu. **Anais**. Botucatu: SBZ, 1998. p. 189-191.

MACARI, M. Fisiologia do sistema digestório das aves (I). **Aves e Ovos**. n.º. 08/09, p. 2-20, 1999.

MACARI, M.; FURLAN, R. L. Probióticos. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVICOLAS, 2005, Santos, São Paulo. **Anais...** Campinas: FACTA, 2005. v. 1, p. 53-71.

MACARI, M.; FURLAN, R. L.; GONZALES, E. **Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte**. 1. ed. Jaboticabal: FUNESP/UNESP, 1994. 296 p.

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

MAIORKA, A. Adaptações digestivas pós-eclosão. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVICOLAS, 2001, Santos, São Paulo. **Anais...** Campinas: FACTA, 2001. v.2, 141-151.

NUNES, A. D. **Influência do uso de aditivos alternativos a antimicrobianos sobre o desempenho, morfologia intestinal e imunidade de frangos de corte**. 2008. 111 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

OLIVEIRA, P. B.; MURAKAMI, A. E.; GARCIA, E. R. 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.

PELICANO, E. R. L.; SOUZA, P. A.; SOUZA, H. B. A.; OBA, A.; NORKUS, E. A.; KODAWARA, L. M.; LIMA, T. M. A. Morfologia e ultra-estrutura da mucosa intestinal de frangos de corte alimentados com dietas contendo diferentes probióticos. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v. 98, p. 125-134, 2003.

PELICANO, E. R. L.; SOUZA, P. A.; SOUZA, H. B. A.; FIGUEIREDO, D. F.; BOIAGO, M. M.; CARVALHO, S. R.; BORDON, V. F. Intestinal mucosa development in broiler chickens fed natural growth promoters. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 7, n. 4, p. 221-229, 2005.

RIBEIRO, A. M. L.; VOGT, L. K.; CANAL, C. W.; CARDOSO, M. R. I.; LABRES, R. V.; STRECK, A. F.; BESSA, M. C. Effects of prebiotics and probiotics on the colonization and immune response of broiler chickens challenged with *salmonella enteritidis*. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**. v. 9, n. 3, p. 193-200, 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.

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

YANG, A.; 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.