

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

RICARDO LUÍS DO CARMO BARBALHO

**Parede celular de levedura, probiótico e óleos essenciais em dietas de frangos de
corte desafiados com coccidiose e clostridium**

RICARDO LUÍS DO CARMO BARBALHO

Parede celular de levedura, probiótico e óleos essenciais em dietas de frangos de corte desafiados com coccidiose e clostridium

(Versão corrigida)

Tese apresentada à Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em Ciências do programa de pós-graduação em Zootecnia.

Área de Concentração: Qualidade e Produtividade Animal

Orientador: Prof. Dr. Lúcio Francelino Araújo



MISSISSIPPI STATE
UNIVERSITY

Office of Research Compliance
& Security
Institutional Animal Care and Use Committee

301 Research Boulevard
Starkville, MS 39759

P. 662.325.3294

www.orc.msstate.edu

December 11, 2019

Aaron Kiess
Poultry Science
Re: Protocol # IACUC-19-330

Dear Aaron:

The Mississippi State Institutional Animal Care and Use Committee (IACUC) has completed its review of your protocol titled Reducing the impact of poultry pathogens associated with disease and food born outbreaks. In light of federal policies on the care and use of animals in research and requirements established specifically for the Institute, the committee has chosen to grant approval of this protocol on December 11, 2019. The expiration date for this project will be December 10, 2022 and the approval number is IACUC-19-330.

If you would like to involve additional members in this protocol or change aspects of the protocol in the future, please submit a Protocol Amendment Form for review.

Concurrent with this approval, please be advised the MSU-IACUC holds the principal investigator(s) named in this protocol responsible in ensuring that each procedure described in the protocol will be followed exactly (unless amended and such amendment is approved by the IACUC before implementation).

If the animal care and use aspects of this study change, approval of a new protocol or of an amendment is necessary. The project must be reviewed by the IACUC annually with the number of animals used during the year reported to the IACUC on the annual update form. When the project is complete, please notify the IACUC Administrator, Trina Smith, at 325-0994.

The committee appreciates your cooperation and wish you continued good luck in your research endeavors.

Sincerely,

Brian Rude
Chair, IACUC
brude@ads.msstate.edu

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

Serviço de Biblioteca e Informação da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos
da Universidade de São Paulo

B228p

Barbalho, Ricardo Luís do Carmo
Parede celular de levedura, probiótico e óleos
Essenciais em dietas de frango de corte desafiados com
coccidiose e clostridium / Ricardo Luís do Carmo
Barbalho. -- Pirassununga, 2022.

63 f.

Tese (Doutorado) -- Faculdade de Zootecnia e
Engenharia de Alimentos - Universidade de São Paulo.
Departamento de Zootecnia.

Área de Concentração: Qualidade e Produtividade
Animal.

Orientador: Prof. Dr. Lúcio Francelino Araújo.

1. Beta Glucanas 2. Enterite Necrótica
3. Mananligossacarídeos. I. Título.

“Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – o autor”

RICARDO LUÍS DO CARMO BARBALHO

Parede celular de levedura, probiótico e óleos essenciais em dietas de frangos de corte desafiados com coccidiose e clostridium

Tese apresentada à Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em Ciências do programa de pós-graduação em Zootecnia.

Data de aprovação: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. (ª) Dr (a). _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. (ª) Dr (a). _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. (ª) Dr (a). _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. (ª) Dr (a). _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. (ª) Dr (a). _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

DEDICATÓRIA

Dedico aos meus filhos, Caio Bertasi Barbalho
e Eduarda Bertasi Barbalho,
razão de todo meu esforço e dedicação
A minha esposa Daniela Bertasi Barbalho,
grande companheira
que sempre está ao meu lado.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, pela força e coragem durante esta jornada.

A minha esposa Daniela a quem não tenho palavras para expressar todo o meu agradecimento. Sempre ao meu lado incondicionalmente.

Aos meus filhos Caio e Eduarda que também sempre me apoiaram e estiveram ao meu lado em todos os meus projetos. Amo vocês!

A minha empresa ICC, onde estou há 26 anos e em especial ao meu chefe Glycon Santos o qual sempre apostou em mim e não mediu esforços para viabilizar meus projetos, minha eterna gratidão!

As minhas amigas Melina Bonato e a Liliana Longo Borges que me ajudaram e me apoiaram nesta empreitada.

A todos meus amigos da empresa e da faculdade que me acompanharam e ajudaram neste projeto.

À Faculdade de Zootecnia de Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, onde me sinto em casa desde a graduação.

Ao meu orientador Prof. Dr. Lúcio Francelino Araújo que sempre me apoiou e me orientou desde o mestrado e se tornou um grande amigo.

À Mississippi State University onde realizei as minhas pesquisas, em especial ao Prof. Dr. Aaron Kiess que me acolheu para a realização dos experimentos

Agradeço especialmente ao Prof. Dr. Otto Mack Junqueira pelo apoio que me deu durante esta jornada e pela sua grande amizade, uma pessoa realmente especial.

À banca de avaliadores, que muito prontamente e com grande entusiasmo aceitaram fazer parte desse momento tão importante em minha vida. Muito obrigado!

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001

RESUMO

BARBALHO, R. L. C. **Parede celular de levedura, probiótico e óleos essenciais em dietas de frangos de corte desafiados com coccidiose e clostridium.** 2022. 63 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2022

Com o objetivo de avaliar a eficácia de um agente anticoccidiano, parede celular de levedura *Saccharomyces cerevisiae*, óleo essencial (mistura de carvacrol e timol), e o probiótico a base de *Saccharomyces boulardi*, foi conduzido um experimento com duração de 28 dias, envolvendo 672 pintos de corte machos de 1 dia de idade, alojados em baterias. O delineamento experimental foi o em blocos ao acaso, envolvendo 4 blocos de 24 gaiolas cada um, com 7 aves por gaiola. O experimento foi dividido em fase inicial de 1 a 14 dias e de crescimento de 15 a 28 dias de idade. As rações foram formuladas a base de milho e farelo de soja como ingredientes energético e proteico, respectivamente. Todas as aves foram inoculadas com *Eimeria spp* e *C. perfringes* no 14 dia de idade e com *C. perfringes* no 21 dia de idade. Os resultados obtidos mostraram que na fase inicial o maior ganho de peso foi aquele em que se usou o agente anticoccidiano, porém na fase de crescimento e em toda fase experimental os resultados para este parâmetro foram superiores para todos os tratamentos com o uso dos aditivos. Com relação à conversão alimentar, as aves que não receberam aditivos nas rações apresentaram a pior conversão alimentar nas duas fases e no período total da criação. Com relação aos escores de lesão no trato digestório e contagem no ceco, foi verificado não haver diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos. O uso dos aditivos em estudo mostrou-se eficaz para os parâmetros de desempenho dos frangos desafiados aos 14 dias de idade com *C. perfringes* e *Eimeria spp.* e com *C. perfringes* aos 21 dia de idade

Palavras-chave: Beta Glucanas. Enterite Necrótica. Mananoligossacarídeos.

ABSTRACT

BARBALHO, R. L. C. **Yeast cell wall, probiotics and essential oils in diets of broilers challenged with coccidiosis and clostridium.** 2022. 63 f. Thesis (Doctorate in Science) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2022

Aiming to evaluate the efficacy of an anticoccidial agent, *Saccharomyces cerevisiae* yeast cell wall, essential oil (mixture of carvacrol and thymol), and the probiotic based on *Saccharomyces boulardii*, an experiment was carried out with a duration of 28 days, involving 672 1-day-old male broiler chicks housed in batteries. The experimental design was randomized blocks, involving 4 blocks of 24 cages each, with 7 birds per cage. The experiment was divided into an initial phase from 1 to 14 days and a growth phase from 15 to 28 days of age. The rations were formulated based on corn and soybean meal as energy and protein ingredients, respectively. All birds were inoculated with *Eimeria spp* and *C. perfringens* at 14 days of age and with *C. perfringens* at 21 days of age. The results obtained showed that in the initial phase the best weight gain was the one in which the anticoccidial agent was used, but in the growth phase and in the entire experimental phase the results for this parameter were superior for all treatments with the use of additives. Regarding feed conversion, the birds that did not receive additives in the rations had the worst feed conversion in both phases and in the total period of creation. Regarding the scores of lesions in the digestive tract and counts in the cecum, the results showed no statistically significant differences between treatments. The use of the additives under study proved to be effective for the performance parameters of broilers challenged at 14 days of age with *C. perfringens* and *Eimeria spp.* and with *C. perfringens* at 21 days of age

Keywords: Beta Glucans. Mannan oligosaccharides. Necrotic Enteritis

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	8
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	11
2.1	Microbiota intestinal	11
2.2	Integridade intestinal das aves	17
2.3	Aditivos na produção avícola	18
2.4	Prebióticos	20
2.4.1	Prebióticos a base de leveduras	23
2.5	Probióticos	28
2.5.1	Modo de ação dos probióticos	32
2.6	Fitogênicos, fitobióticos ou nutracêuticos	34
2.7	Óleos essenciais	36
3	OBJETIVOS	40
4	MATERIAL E MÉTODOS	41
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	45
6	CONCLUSÕES	52
	REFERÊNCIAS	53

1 INTRODUÇÃO

O crescimento populacional no mundo é caracterizado como o aumento do número de habitantes do planeta. Atualmente, a taxa de crescimento da população mundial é inferior a 1,2% ao ano, mas a expectativa de vida está aumentando com os avanços da medicina e a maiores preocupações com a saúde, entre outros fatores. Assim, o número de habitantes em nível mundial, continua a aumentar. Segundo dados divulgados em 2021 pelo Fundo de População das Nações Unidas (UNFPA), a população mundial é de 7,8 bilhões. Há estimativas de que a população do planeta chegará a 9,7 bilhões até 2050, um aumento de aproximadamente 1,9 bilhões, com taxa de crescimento de 0,3% ao ano.

Para atender a essa demanda da população estimada até 2050, serão necessários 60% mais alimentos, 50% mais energia e 40% a mais água. Tais necessidades somente serão supridas com esforços e investimentos combinados para promover sistemas sustentáveis de agricultura e pecuária.

Países em desenvolvimento estão aumentando a produção de produtos de origem animal para satisfazer o mercado interno, mas também para aumentar as exportações. Esse aumento na oferta de produtos primários devido ao aumento da população urbana aliado ao crescimento da classe média faz com que cresçam as demandas por leite, carne e ovos, muitas vezes não planejado, causando danos ambientais, distúrbios da agricultura familiar e incertezas entre produtores e consumidores. Esta situação exige a necessidade de novas políticas de produção animal em termos de alimentação saudável, boas práticas de criação de animais e conservação ambiental.

Dentro da realidade mundial, o Brasil torna-se um grande celeiro alimentar para o mundo, devido a todas as suas características climáticas, extensão territorial, tecnologias aplicadas na agricultura para melhores índices de produtividade e, mais recentemente, os cuidados voltados à sustentabilidade e biossegurança dos sistemas pecuários, em particular, aos sistemas de criação de frangos de corte.

A modernização da indústria avícola ao longo das duas últimas décadas tornou clara e evidente a necessidade de atenção cada vez mais detalhada à saúde destes animais, especialmente porque o crescimento desta indústria é baseado em um grande aumento na produção animal e densidade (as aves são uma das espécies que mais utilizam práticas de concentração de produção), criando uma situação ideal para a multiplicação, disseminação e perpetuação de vários patógenos e a ocorrência de surtos de doenças que acarretam alta perdas econômicas (por exemplo, os recentes surtos de Influenza aviária).

A cada ano novas legislações são implantadas ou atualizadas visando a melhoria dos processos da cadeia alimentar, desde o bem-estar e saúde dos animais até qualidade final do produto, levando em consideração a sustentabilidade do meio ambiente.

Dentre as doenças que afetam as aves prejudicando o seu desempenho, porém, com sintomas clínicos pouco evidentes, destaca-se a enterite necrótica (NE), causada pelo *Clostridium perfringens* (Cp), uma bactéria anaeróbica, gram positiva que reside no solo e nos aviários, tipicamente associada à doenças. Níveis baixos (10^3 UFC ou menos) desse agente são comumente encontrados em frangos de corte saudáveis e em crescimento; no entanto, à medida que os níveis no intestino se aproximam de 10^5 UFC, a probabilidade de um surto significativo de NE aumenta.

O modo de ação exato do Cp para causar o NE é frequentemente debatido. Na literatura observa-se que existem 5 tipos de *Clostridium perfringens*; A, B, C, D e E; cada um produz uma toxina única; alfa, beta, epsilon, iota e CPE. Essas toxinas demonstraram ser, se não letais, debilitantes para as aves. Para aqueles que conseguem conviver com a forma subclínica da doença, essas toxinas causam lesões no trato gastrointestinal, resultando em taxas de crescimento reduzidas, redução da eficiência alimentar e morbidade.

Diversos pesquisadores ao redor do mundo puderam replicar a doença sob condições experimentais controladas desafiando oralmente as aves com Cp e *Eimeria maxima* que é um organismo parasita causador da coccidiose, doença também bastante comum na produção avícola e de ocorrência mundial. Até sua recente suspensão de vendas, o avicultor disponha de uma droga denominada Roxarsone, considerado um aditivo de ração aprovado para prevenção de coccidiose. Esse aditivo foi bastante utilizado em rações para aves e foi eficaz ao reduzir os sintomas de NE na presença de *E.maxima*. Em um esforço para mitigar os efeitos clínicos do NE na ausência de Roxarsone, os produtores de frangos de corte estão usando melhoradores de desempenho (AGP's) que se acredita terem atividade contra o Cp, junto com seu programa anti-coccidiose regular. Relatórios de campo sugerem que a eficácia do uso continuado do AGP é motivo de preocupação devido à resistência criada pelo Cp.

Diante disso, existe uma necessidade constante da implementação de medidas de biossegurança no setor avícola, uma vez que a criação está sujeita a graves problemas de saúde, principalmente devido ao elevado número de aves, o que poderia comprometer toda a produção. Apesar de ser uma questão relativamente antiga, essas medidas ainda devem ser objeto de estudos e pesquisas, e adotadas sequencialmente pelo setor produtivo, visando obter não apenas melhores resultados de produção, mas também

aumento na qualidade dos produtos produzidos (diminuição de infecções e aumento do controle sanitário nas plantas de processamento, redução da contaminação no ecossistema, para proteger a saúde do consumidor).

O trato gastrointestinal dos frangos de corte possui uma microbiota natural composta de muitas espécies de bactérias, protozoários e fungos, que estão em equilíbrio entre si e com o hospedeiro. Os aditivos que melhoram o desempenho, como os antibióticos, têm sido amplamente utilizados nas últimas décadas na tentativa de excluir patógenos do trato gastrointestinal, reduzindo a mortalidade e aumentando a eficiência produtiva das aves (CASTANON, 2007; CROMWELL, 1999; SALYERS, 1999). Existem várias vantagens e benefícios alcançados pela sua utilização na manutenção da saúde do trato intestinal das aves, favorecendo os processos de absorção, conversão alimentar e redução da mortalidade.

É inquestionável que a relação custo-benefício favorece o uso de antibióticos como aditivos, mas, ao mesmo tempo, há uma preocupação crescente da comunidade científica com as consequências negativas, pois existe possibilidade desse procedimento deixar resíduos na carne que podem promover o surgimento de microrganismos resistentes e prejudicar a saúde humana (GHADBAN, 2002; GODOI et al., 2008).

Para reduzir as perdas de produtividade, estão sendo estudados aditivos alternativos como enzimas exógenas, prebióticos, compostos probióticos, fitogênicos e óleos essenciais (ARAÚJO et al., 2007). Consequentemente, existe um grande interesse por parte dos pesquisadores no desenvolvimento e uso de substâncias ou mistura (blend) de substâncias que possam substituir os antibióticos e que ainda possam desempenhar funções que revertam a produção em melhor desempenho das aves e a qualidade do produto final.

Desta forma, o presente estudo objetivou avaliar soluções alternativas no controle ao uso de aditivos melhoradores de desempenho na produção de frangos de corte, possibilitando a escolha por uma tecnologia correta, segura, sustentável e economicamente viável.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Microbiota intestinal

A microbiota intestinal das aves é composta de inúmeras espécies bacterianas, formando um sistema complexo e dinâmico. Aquelas que colonizam o trato intestinal no início, tendem a persistir ao longo da vida da ave, passando a compor a microbiota intestinal. A formação desta microbiota se dá imediatamente após o nascimento das aves e aumenta durante as primeiras semanas de vida, até se tornar uma população predominantemente de bactérias anaeróbias. Além das bactérias, as leveduras, os fungos, os protozoários e os vírus também podem compor essa microbiota (ANDREATTI FILHO, 2007a). Sua composição pode ser afetada pelas bactérias presentes no intestino e pelos microrganismos naturais do ambiente (YIN et al., 2010).

Pintos nascidos em condições naturais recebem a microbiota proveniente dos adultos, principalmente da mãe. Entretanto, a avicultura industrial alterou essa condição, impedindo que haja contato do pinto com a mãe, levando ao retardo no desenvolvimento da microbiota intestinal protetora (SILVA; ANDREATTI FILHO, 2000; TORTUERO, 1973).

Ao nascer, o trato gastrointestinal do pinto é praticamente isento de microrganismos e a microbiota é formada por meio da ingestão, ou por contato com ambiente que contenha microrganismos. O intestino delgado é colonizado na segunda semana de vida (MAIORKA; DAHLKE; MORGUKIS, 2006). Para Cressman et al. (2010) a cama influencia no estabelecimento da microbiota intestinal, pois em estudo comparando camas novas com reutilizadas, constatou-se que as aves criadas em camas reutilizadas tiveram o intestino amplamente colonizado por bactérias de origem entérica, enquanto as aves criadas em camas novas, por bactérias ambientais.

O trato intestinal do embrião pode ser colonizado por via vertical, onde os microrganismos presentes no aparelho reprodutor da matriz são transferidos para o embrião durante a formação do ovo. Também pode ocorrer ao ingerir o conteúdo do fluido amniótico a partir do 14º dia de incubação (PEDROSO, 2011). Além disso, o saco vitelínico infectado permite que os microrganismos sejam absorvidos junto com o conteúdo do saco da gema (DEEMING, 2005).

Nas aves adultas, quando a microbiota está estabelecida pode conter de 400 a 500 espécies microbianas (YAN; POLK, 2004). Com variações na quantidade e nos tipos de microrganismos ao longo do trato gastrointestinal, estes podem estar aderidos ao epitélio

ou livre no lúmen. Quando livres, devem possuir capacidade multiplicativa acelerada, para minimizar a perda pelo peristaltismo, e podem também se associarem a outras bactérias que estão ligadas à mucosa (MAIORKA, 2004).

O intestino delgado é colonizado por bactérias microaerófilas facultativas, que são os *Lactobacillus*, *Clostridiaceae*, *Streptococcus* e *Enterococcus*. Os principais gêneros identificados na microbiota cecal de aves são: *Bacillus*, *Bacteróides*, *Bifidobacterium*, *Citrobacter*, *Clostridium*, *Enterobacter*, *Enterococcus*, *Escherichia*, *Eubacterium*, *Fusobacterium*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Pediococcus*, *Peptostreptococcus*, *Propionibacterium*, *Ruminococcus*, *Serratia*, *Veillonella* e *Atreptococcus*. O metabolismo destas bactérias no trato intestinal gera a produção ácidos graxos de cadeia curta (acético, propiônico e butírico), álcoois, amoníaco, aminas, sulfeto de hidrogênio, peróxido de hidrogênio, metano, mercaptanos, dióxido de carbono e outros produtos. Nos cecos as bactérias produzem ácido butírico que servem como substrato metabólico para as células epiteliais e ácido propiônico que inibe certos enteropatógenos, como as salmonelas. Pode-se encontrar de 200 a 400 espécies diferentes de bactérias no trato digestivo de uma ave. Há de considerar que menos de 25% de todas as bactérias intestinais foram identificadas; portanto, desconhecidas. Sua quantidade pode variar de 5 a 7 (Log₁₀) no duodeno, a 9 a 11 (Log₁₀) nos cecos. Muito pouco se sabe sobre a interação entre elas. Estima-se que há 10 vezes mais bactérias no trato digestivo que células do corpo do hospedeiro.

Amit-Romach, Sklan e Uni (2004) estudaram a microbiota de frangos de corte, com idades de quatro, 14 e 25 dias, através de métodos de PCR para detectar e quantificar seis espécies bacterianas. Entre essas, duas consideradas bactérias benéficas (*Lactobacillus spp.*, *Bifidobactérias spp.*), duas potencialmente patogênicas (*Salmonella spp.*, *Campylobacter spp.*) e duas patogênicas para os pintos (*Escherichia coli* e *Clostridium spp.*). Os autores concluíram que com quatro dias, foi possível detectar *Lactobacillus spp.* na proporção de 25% do total. *Bifidobacterium spp.* não foi detectável nessa fase. *Salmonella spp.* foi a mais detectada com 40%, enquanto que *Campylobacter spp.* foi detectado em pequenas quantidades de 2% e um terço (33%) foi constituído de *Escherichia coli* e *Clostridium spp.* somados. Para a idade de 14 dias, as proporções de *Lactobacillus*, somado ao *Bifidobacterium* tiveram aumento significativo para 40% do total de bactérias, redução na proporção de *Salmonella* para 10%, *Campylobacter spp.* ainda em pequenas quantidades e mesma proporção para *Escherichia coli* e *Clostridium spp.* Com 25 dias, *Lactobacillus* somado ao *Bifidobacterium* representaram quase metade das bactérias totais. *Salmonella spp.* teve a proporção de aproximadamente 20%, e *Escherichia coli* juntamente com *Clostridium spp.* permaneceram com 30%.

O equilíbrio da microbiota pode ser afetado por diversos fatores, tanto endógeno quanto exógenos. As más condições higiênicas e sanitárias da criação, estresse, alimentação inadequada, intoxicação e enfermidade concomitante, podem desencadear o aumento da proliferação bacteriana que podem competir por nutrientes da própria ave. Também podem determinar processos inflamatórios, que leva ao espessamento da parede intestinal, o que vai reduzir a absorção, aumentar a excreção de metabolitos e toxinas que desencadeiam enterites e aumentar o tempo de trânsito. Além disso, pode aumentar o *turnover* das células epiteliais, e possibilitam a translocação bacteriana e endotoxina para outros órgãos, levando a septicemia (ITO; MIYAJI; OKABAYASHI, 2007).

De acordo com Santos et al. (2012) é importante entender e ter controle sobre as possíveis mudanças da microbiota intestinal para adequar o manejo e incluir de maneira racional aditivos que possam alterar e regular a ecologia microbiana, com o intuito de melhorar o desempenho zootécnico e diminuir alguns efeitos de estresse ou os malefícios das doenças.

Segundo Loddi (2001), a microbiota intestinal é composta por 90% de bactérias facultativas (aeróbicas ou anaeróbicas), produtoras de ácido lático (*Lactobacillus* spp., *Bifidobacterium* spp.) e as bactérias exclusivamente anaeróbicas como *Bacterioides* spp., *Fusobacterium* spp. e *Eubacterium* spp.. Algumas funções benéficas da microbiota são a de estimular a produção de mucina, que ajuda a inibir a translocação bacteriana (MATTAR et al., 2002). Também as bactérias comensais podem modular a expressão de genes envolvidos em funções como absorção, fortificar a barreira mucosa, metabolismo e maturação de células, podendo ainda, contribuir com os mecanismos de defesa do sistema imune (ZOCCO et al., 2007).

A microbiota benéfica também exerce a função de exclusão competitiva, onde as ações exercidas pelos microrganismos comensais do trato gastrointestinal podem impedir a colonização por patógenos invasores, ocupando os pontos de ligação da superfície da mucosa intestinal, competindo por nutrientes e liberando bacteriocinas (LAN et al., 2005). Nessa relação, tanto as bactérias quanto as aves hospedeiras são beneficiadas.

Ainda segundo Lan et al. (2005), os microrganismos auxiliam na metabolização de carboidratos, proteínas, lipídeos e sais minerais, sintetizam vitaminas do complexo B, vitaminas A, C, K e o ácido fólico, digerem as fibras e a celulose o que leva a liberação de ácidos graxos voláteis, os quais podem suprir de 5 a 10% da energia necessária. Devido a esses benefícios, em pintos recém eclodidos que ainda não possuem microbiota estabelecida, e por esse motivo são mais vulneráveis aos patógenos, a administração, através da via oral, da microbiota proveniente do intestino de aves adultas no período pós-

eclosão, como método profilático no controle de infecções causadas por agentes patogênicos, mostrou ser benéfica em vários estudos.

A persistência e manutenção destas bactérias no trato intestinal se faz de duas formas principais:

- Fixadas ou em íntima associação com o epitélio intestinal, se multiplicando mais rapidamente do que sua eliminação pelo peristaltismo intestinal. É o caso típico de algumas espécies de *Lactobacillus* e *Enterococcus*;
- Livres na luz intestinal, pela sua incapacidade de aderir ao epitélio intestinal. Neste caso, sua permanência se dá pela agregação a outras bactérias, que por sua vez estão aderidas a mucosa entérica.

As espécies do gênero *Lactobacillus* que compõem a microbiota das aves são *Lactobacillus salivarius*, *L. fermentum* e *L. reuteri* no intestino delgado; *L. acidophilus* no duodeno, jejuno, cecos e cloaca (ANDREATTI FILHO; SAMPAIO, 1999); *Lactobacillus reuteri* e *L. salivarius* no ceco (BARROS et al., 2009).

Bactérias do gênero *Lactobacillus* são Gram positivas, que se caracterizam em forma de células longas e delgadas, às vezes podem ser bastões curtos, na forma de cocobacillus. Não formam esporos e geralmente não são móveis, mas quando móveis apresentam flagelos. Apresentam desenvolvimento em temperaturas de 2°C a 53°C, mas com temperatura ótima de 30°C a 40°C. Geralmente o pH ideal é de 4,5 a 6,4 em meio ácido fraco, cessando o desenvolvimento em pH 3,6 a 4,0, dependendo da espécie. Apresentam metabolismo fermentativo, produzindo principalmente lactato, podendo produzir também etanol, dióxido de carbono, formiato e succinato, não produzem ácidos voláteis com mais de dois carbonos (KANDLER; WEISS, 1986). Essas bactérias predominam ao longo de todos os segmentos do intestino.

As funções benéficas do *Lactobacillus* são de auxiliar a imunidade, ao estimular a secreção de imunoglobulina IgA intestinal (ANDREATTI-FILHO, 2007b). Além disso, secretam lactato, acetato, succinato e etanol, os quais auxiliam na proliferação de outras bactérias como *Veillonella sp.*, *Bacillus sp.*, *Bifidobacterium sp.*, *Bacteriodes sp.* Estas, por sua vez, sintetizam ácidos graxos voláteis, diminuem a concentração de oxigênio, reduzem o pH e se aderem a mucosa intestinal limitando a multiplicação de bactérias patogênicas como *Escherichia coli*, *Salmonella sp.* e *Campylobacter spp.* (ITO; MIYAJI; OKABAYASHI, 2007).

Aproximadamente 30 espécies de *Bifidobacterium* são conhecidas (MEILE; BLAY; THIERRY, 2008). Pertencem ao Filo Actinobacteria, Classe Actinobacteria, Ordem Bifidobacteriales e Família Bifidobacteriaceae (LEAHY et al., 2005). São

bactérias Gram-positivas, anaeróbios estritos, não formadores de esporos, sem flagelos e apresentam variável morfologia, com temperatura ótima para crescimento entre 37 e 41° C e pH entre 6 e 7 (GOMES; MALCATA, 1999). O seu habitat natural é o intestino delgado e grosso, sua população sofre a influência de fatores exógenos como a dieta, estresse e antimicrobianos (AMIT-ROMACH; SKLAN; UNI, 2004). Digerem oligossacárideos não digeríveis no ceco por meio de fermentação, usando-os como fonte de carbono e energia (GOMES; MALCATA, 1999).

Dentre os efeitos benéficos relacionados aos *Bifidobacterium spp.* podem ser apontados o estímulo do sistema imunológico devido a ativação da proliferação dos macrófagos; auxílio à digestão e absorção de nutrientes por agirem nos sais biliares; ação inibitória a multiplicação de patógenos por produzirem bacteriocinas e redução do pH do meio. Também estimulam a produção de vitamina do complexo B e auxiliam na restauração da microbiota após antibioticoterapia (LEAHY et al., 2005; ANDREATTI FILHO, 2007a).

Bacteroides pertencem à família Bacteroidaceae, são anaeróbios, bastonetes Gram-negativos, pleomórficos e imóveis. As espécies de maior importância são *Bacteroides fragilis* e *Bacteroides thetaiotaomicron*. Bacteróides comensais estão presentes no ceco e são importantes no desenvolvimento, na manutenção da função normal do intestino e na atividade imune, mas também podem ser um importante agente patogênico, principalmente quando há condições predisponentes, como lesão na mucosa intestinal (HAMPSON et al., 2010).

Garcia et al. (2012) avaliaram a ocorrência de *Bacteroides spp.* em fezes de frango de corte e a suscetibilidade aos antimicrobianos, e observaram a predominância *Bacteroides fragilis* em 45,3%, seguido do *B. distasonis* em 35,6%, *B. vulgatus* em 8,9%, *B. ovatus* em 2,5% e *B. stercoris* em 1,3%. Além disso, as amostras tiveram elevada resistência bacteriana, em que 98,5% das amostras foram resistentes à ampicilina, 95,1% à norfloxacina, 88,2% à tetraciclina e 89,7% foram multirresistentes.

Fusobacterium são bacilos fusiformes, anaeróbios Gram negativos pertencentes à família Bacteroidaceae. Bactérias desse gênero fazem parte da microbiota normal, habitando o ceco das aves, mas que assim como *Bacteróides*, podem ser patogênicas, caso haja condições predisponentes (HAMPSON et al., 2010).

Saccharomyces cerevisiae é um organismo eucariótico, pertencente ao reino Fungi, da classe Hemiascomycetes, ordem dos Endomycetales, família Saccharomycetaceae, sub-família Saccharomycetoideae e gênero *Saccharomyces*. É uma levedura, considerada parte da microbiota benéfica, pois seus extratos são ricos em

proteínas, vitaminas, minerais e nucleotídeos como o inositol que é um importante promotor de crescimento (TIBBETTS, 2002).

A mucosa intestinal representa uma extensa área de exposição a agentes exógenos que estão presentes nessa região a partir do início da ingestão, digestão e absorção de nutrientes (BLIKSLARGER; ROBERTS, 1997).

Do ponto de vista nutricional a microbiota é responsável pela retenção de energia e nitrogênio, aumenta a absorção de vitaminas e minerais, ácidos graxos e glicose. (MAIORKA, 2004). Esta microbiota desempenha importante papel na manutenção da saúde do hospedeiro (OLIVEIRA et al., 2008) e sua composição pode ser tanto benéfica quanto maléfica, dependendo da natureza e da quantidade de microrganismos.

O animal hospedeiro e sua microbiota possuem uma relação de mutualismo e patogenicidade (DUMONCEAUX et al., 2016), no entanto o equilíbrio da microbiota intestinal reflete diretamente sobre a saúde intestinal, saúde geral e desempenho do animal.

Estudos recentes demonstram que fatores dietéticos que levem a um acúmulo de nutrientes no intestino delgado são favoráveis à proliferação de bactérias (CASTRO, 2005). Segundo Oliveira et al. (2008), a competição entre bactérias e hospedeiro por nutrientes e a formação de metabólitos depressores do crescimento no intestino podem ter efeitos negativos sobre a mucosa e estruturas das células do intestino.

A microbiota intestinal das aves é composta de inúmeras espécies bacterianas, formando um sistema complexo e dinâmico, responsável por influenciar decisivamente em fatores microbiológicos, imunológicos, fisiológicos e bioquímicos no hospedeiro, podendo ser modulada pela composição da dieta (TANNOCK, 1998). A formação desta microbiota se dá imediatamente após o nascimento das aves e aumenta durante as primeiras semanas de vida, até se tornar uma população predominante de bactérias anaeróbias (SILVA, 2000).

Estima-se que noventa por cento da microbiota intestinal seja composta por bactérias facultativas (aeróbicas e anaeróbicas) e produtoras de ácido láctico (*Lactobacillus spp*, *Bifidobacterium spp*), incluindo as bactérias exclusivamente aeróbicas como os *Bacterioides spp*, *Fusobacterium spp* e *Eubacterium spp*. Os dez por cento restantes desta microbiota intestinal são constituídos de bactérias consideradas nocivas ao hospedeiro, entre estas a *Salmonella spp.*, *Escherichia coli*, *Clostridium spp*.

A microbiota tem um importante papel na digestão e absorção dos alimentos ingeridos pelo hospedeiro. Ela participa do metabolismo dos carboidratos, proteínas, lipídeos, minerais e da síntese de vitaminas. Além desses efeitos fisiológicos sobre a

nutrição, a microbiota bacteriana também protege o sistema digestório do hospedeiro contra certas doenças e infecções, suprimindo o crescimento de organismos patogênicos (VISEK, 1978).

2.2 Integridade intestinal das aves

O intestino delgado tem função primordial nos processos de digestão e de absorção de nutrientes. Desta forma, o estabelecimento precoce da sua capacidade funcional tem como consequência, a eficiente utilização de nutrientes da dieta, favorece o crescimento corporal e faz com que as aves demonstrem seu potencial genético, bem como a capacidade de resistir a infecções e a doenças metabólicas (UNI; FERKET, 2004). O elemento funcional do intestino é a mucosa, que pode ser caracterizada como uma camada permeável a nutrientes e barreira contra compostos nocivos (OLIVEIRA et al., 2008).

Embora as porções do intestino delgado e grosso apresentem diferenças morfológicas, elas possuem características básicas comuns, ou seja, um epitélio colunar simples, abaixo do qual se encontra uma camada de tecido conjuntivo frouxo denominado lâmina própria e, finalmente, uma camada delgada de músculo liso, denominada muscular da mucosa. Este epitélio sofre invaginações para o interior da lâmina própria em direção à muscular da mucosa, constituindo as criptas, e também se evagina para a luz do órgão, formando expansões digitiformes denominadas vilosidades. As vilosidades são revestidas por epitélio simples, constituído por três tipos celulares estrutural e funcionalmente distintos: as células caliciformes, os enterócitos e as células enteroendócrinas (MACARI; MAIORKA, 2000).

O desenvolvimento da mucosa pode ser mensurado pelo aumento da altura e quantidade de vilosidades, o que corresponde a um aumento em número de suas células epiteliais (MACARI; FURLAN 2005). Esse processo de desenvolvimento da mucosa decorre de dois eventos citológicos, sendo eles a renovação celular (proliferação e diferenciação) e a perda de células por descamação que ocorre naturalmente no ápice das vilosidades (UNI; GANOT; SJLAN, 1998).

O aumento na taxa de mitose, com ausência, diminuição ou manutenção da taxa de extrusão, proporciona um aumento no número de células e, conseqüentemente, será observado um aumento na altura e densidade das vilosidades e microvilosidades, resultando em uma maior taxa de digestão e absorção. Se o estímulo levar a um aumento na taxa de extrusão, havendo manutenção ou diminuição da taxa de proliferação, o

intestino irá responder com uma redução na altura das vilosidades e ocorrerá um aumento de número de células da cripta com consequentemente aumento de sua profundidade (CUNNINGHAN, 1992).

Várias são as vantagens e benefícios alcançados pela manutenção celular do intestino, favorecendo os processos de absorção, conversão alimentar e redução da mortalidade.

2.3 Aditivos na produção avícola

O mercado avícola representa um dos setores que mais se desenvolve no agronegócio brasileiro, apresentando altos índices de produtividade, desenvolvimento tecnológico de instalações e equipamentos, além de muitos avanços em nutrição e sanidade. A avicultura é caracterizada por ser uma indústria de produção animal intensiva, devido ao rápido ciclo de produção, adensamento de animais, advento constante de novas tecnologias de criação e manejo e da qualidade dos produtos destinados ao consumo humano.

A produção brasileira, mesmo diante à crise relacionada à pandemia do Covid-19, conseguiu suprir a demanda e intensificou sua produção neste período turbulento, o que certifica a eficiência de fatores relacionados ao agronegócio e a biosseguridade dos produtos. Assim, o Brasil se destaca como o maior exportador de carne de frango e terceiro maior produtor mundial em 2021, representando uma parcela de 14% da produção global, em média 14,120 milhões de toneladas em produção (EMBRAPA, 2021). No mercado internacional, a tendência é de exigências futuras quanto à adoção de tecnologias limpas e de sistemas de gestão ambiental. Dentro do processo produtivo, as atenções são voltadas para o gerenciamento de resíduos e para o uso de ingredientes na alimentação animal que geram menor impacto ambiental, bem como para os animais e humanos.

Aumenta a cada dia a preocupação com a qualidade dos ingredientes e dos aditivos utilizados nas dietas animais, com uma tendência global e irreversível, considerando que o consumidor final está cada vez mais consciente e esclarecido quanto a qualidade de todos os alimentos. Os aditivos naturais têm sido testados como soluções visando o controle de patógenos, melhora da resposta imune e da saúde intestinal, proporcionando bem estar aos animais, bom desempenho e segurança alimentar.

A utilização de modernos sistemas de planejamento, de organização e de coordenação dos elos de produção nacional, reflete-se no extraordinário e constante crescimento da produção de frangos (ALBINO; TAVERNARI, 2010).

Para que excelentes índices de produção fossem alcançados, foi necessário aplicar um conjunto de técnicas relacionadas ao manejo, sanidade e nutrição que permitissem ao animal um desenvolvimento compatível com sua genética. Dentro disso, destacam-se alguns aditivos zootécnicos que proporcionam a manutenção da saúde intestinal e conseqüentemente melhora do desempenho.

Visto que a alimentação representa em média 70% do custo de produção animal, a utilização de modernos compostos, advindos da biotecnologia, é primordial, pois podem aumentar a produtividade e/ou reduzir os custos de produção (ARAÚJO et al., 2007).

Em função do constante melhoramento genético aplicado sobre as populações na avicultura industrial (MARCATO, 2007) associado com aditivos que melhorem o desenvolvimento dos animais e sanidade, o resultado são mudanças no crescimento das linhagens disponíveis no mercado brasileiro, como também no desenvolvimento da carcaça e das partes. Dessa forma, ao longo dos anos, trabalhos têm sido realizados sobre os efeitos de ingredientes específicos, como aditivos, e a qualidade da carcaça dos frangos de cortes.

De acordo com Sindicato Nacional da Indústria de Alimentação Animal (1998), considera-se aditivo destinado à alimentação animal, toda substância, microrganismo ou produto formulado adicionado intencionalmente à ração e que não seja utilizado normalmente como ingrediente, tendo ou não valor nutritivo, melhorando as características dos produtos destinados à alimentação animal, dos produtos animais ou melhora no desempenho dos animais sadios. De forma semelhante Rosen (1996) define aditivos como substâncias adicionadas à ração em pequenas quantidades, que possuem função pró nutricional, coadjuvante de elaboração ou profilática, não sendo prejudicial ao animal e não deixando resíduos nos produtos de consumo, desde que utilizados sob determinadas normas.

Quando são utilizados, por exemplo, alimentos alternativos, na maioria dos casos, se conseguem diminuir os custos com a alimentação, entretanto os índices zootécnicos ficam comprometidos, devido à piora da utilização da energia e/ou proteína destes ingredientes pelos animais, principalmente pela presença de fatores tidos como antinutricionais. Na tentativa de reduzir este comprometimento, alguns artifícios são utilizados, como a adição de óleos essenciais, prebióticos, probióticos, simbióticos, ácidos orgânicos, enzimas exógenas nas dietas, que podem auxiliar de forma direta e/ou

indiretamente o animal a utilizar mais eficientemente os nutrientes contidos neste tipo de ingredientes (SCHWARZ, 2002).

2.4 Prebióticos

O termo prebiótico foi empregado para designar um ou grupo de ingredientes alimentares que não são digeridos na porção proximal do trato gastrointestinal de monogástricos, proporcionando efeito benéfico no hospedeiro, por estimular seletivamente o crescimento e/ou a atividade de bactérias benéficas no intestino.

Gibson e Roberfroid (1995) conceituaram estas substâncias como “ingredientes nutricionais não digeríveis que afetam benéficamente o hospedeiro estimulando seletivamente o crescimento e atividade de uma ou mais bactérias benéficas do cólon, melhorando a saúde de seu hospedeiro”. Alguns açúcares absorvíveis ou não, fibras, álcoois de açúcares e oligossacarídeos estão dentro deste conceito de prebióticos. Destes, os oligossacarídeos (cadeias curtas de polissacarídeos compostos de três a 10 açúcares simples ligados entre si) têm recebido mais atenção pelas inúmeras propriedades prebióticas atribuídas a eles. A mistura de probióticos e prebióticos tem sido referida como simbióticos e representam uma nova linha de alimentos funcionais animais, que podem apresentar propriedades benéficas superiores aos antibióticos promotores de crescimento.

A principal ação dos prebióticos é estimular o crescimento e/ou ativar o metabolismo de algum grupo de bactérias benéficas do trato intestinal. Desta maneira, os prebióticos agem intimamente relacionados aos probióticos, constituindo o “alimento” das bactérias probióticas. De maneira geral, esses compostos devem apresentar as seguintes características:

- Não devem ser metabolizados ou absorvidos durante a sua passagem pelo trato digestivo superior;
- Servir como substrato a uma ou mais bactérias intestinais benéficas, que serão estimuladas a crescer e/ou tornarem-se metabolicamente ativas;
- Possuir a capacidade de alterar a microbiota intestinal de maneira favorável à saúde do hospedeiro;
- Devem induzir efeitos benéficos sistêmicos ou na luz intestinal de maneira favorável ao hospedeiro.

Alguns carboidratos, peptídios, proteínas não digeridas, várias fibras e vegetais e lipídeos podem ser inseridos no conceito de prebióticos. Entretanto, os carboidratos denominados de oligossacarídeos (cadeias curtas de polissacarídeos compostos de 3 a 10 açúcares simples ligados entre si) são os que mais se enquadram na definição e nas características desse aditivo.

Ferreira e Astolfi-Ferreira (2006) e Quintero Filho (2014) relatam que os prebióticos são compostos de grande interesse na área avícola quando utilizados na forma de aditivos, representando uma alternativa promissora. As principais fontes de prebióticos são alguns açúcares, absorvíveis ou não, fibras, peptídeos, proteínas, álcoois de açúcar e oligossacarídeos de cadeia curta, especialmente os frutoligosacarídeos (FOSs), galactoligosacarídeos (GOSs) e mananoligosacarídeos (MOSs) (MACARI; FURLAN, 2005), que selecionam as bactérias benéficas ao animal, favorecendo seu crescimento em detrimento do desenvolvimento de bactérias indesejáveis, como *Salmonella sp.*, *Clostridium sp.* e *Escherichia sp.*, por diferentes vias (DONALSON et al., 2007; IJI; TIVEY, 1998). Um prebiótico amplamente estudado e usado na produção avícola é a parede celular de levedura *Saccharomyces cerevisiae*, rica em oligossacarídeos alfa-manose e beta-glicose (KOGAN; KOCHER, 2007), composta de um complexo de estrutura de manose fosforilada, glicose e proteína (MOS). O MOS atua na seleção de bactérias no intestino de aves por meio de alguns mecanismos, podendo aderir às bactérias patogênicas e impedindo-as de iniciar um processo de colonização, ou de modular e preparar o sistema imunológico, para proteger contra um processo infeccioso, impossibilitando a adesão de bactérias patogênicas à parede intestinal e eliminando-as junto com o bolo fecal (COTTER, 1994; PELICIA, 2004).

Verificando as respostas imunes de frangos recebendo MOS na dieta Spring e Pirvulescu (1998) encontraram um aumento na resposta de macrófagos e um aumento de aproximadamente 25% nos níveis de imunoglobulina A (IgA). Por outro lado, há relatos da falta de efeito dos prebióticos sobre a resposta humoral, como observado por Nunes, (2008), que, ao avaliar os efeitos de diferentes aditivos, entre eles, a resposta imune humoral de frangos de corte, não observou diferenças significativas aos 42 dias de idade para a resposta vacinal contra o Newcastle. Melhorias no desempenho das aves têm sido descritas e também desafiadas com o uso de MOS em dietas. Alguns autores, trabalhando com probióticos e prebióticos, obtiveram uma melhora no desempenho de frangos de corte com o uso desses aditivos (FRITTS et al., 2000; SARTORI et al., 2007; STANLEY; GRAY; CHUKWU, 1996). No entanto, Lima et al. (2003) não encontraram efeitos significativos da adição de probiótico na dieta de frangos de corte sobre o desempenho.

Loddi et al. (2000) verificaram que a suplementação prebiótica influenciou negativamente o peso corporal, ganho de peso e consumo de ração de aves. Por outro lado, Dimovelis et al. (2003), Garcia et al. (2004) e Ribeiro et al. (2010) observaram melhoria no desempenho após a inclusão de MOS associada ou não a ácidos orgânicos para galinhas poedeiras. Ao avaliar os efeitos do melhor nível de inclusão de MOS sobre a dieta de codornas japonesas em produção, Lemos et al. (2014) também observaram melhoria no desempenho de aves alimentadas com 1,5 kg/tonelada quando comparadas ao controle (sem inclusão de prebiótico).

Melhora na integridade intestinal de frangos de corte e aves poedeiras têm sido relatadas em vários estudos que mostraram o efeito benéfico do uso da parede celular de *Saccharomyces cerevisiae* no desenvolvimento de vilosidades intestinais com aumento da altura das vilosidades nos três segmentos do intestino que pode ser revertida na melhor absorção de nutrientes com consequente melhora no desempenho e qualidade dos produtos finais de frangos e poedeiras (MACARI; FURLAN, 2005; MACARI; MAIORKA, 2000; YANG et al., 2007). Essa capacidade do MOS em expandir a área de absorção intestinal é um dos fatores predisponentes para a melhoria da qualidade da casca do ovo, uma vez que, segundo Kruger et al. (2003) e Zafar et al. (2004), quando a MOS atinge o intestino grosso, é fermentada pela microbiota intestinal e convertida em ácidos graxos de cadeia curta, o que causaria hipertrofia das células da mucosa intestinal, aumentando a superfície de absorção. Segundo Suzuki e Hara (2004), a inclusão de oligossacarídeos também pode resultar em aumento da absorção de cálcio no intestino delgado pela via paracelular, por meio de estimulação direta no epitélio do intestino delgado, consequentemente melhorando a qualidade da casca.

O uso de prebióticos como aditivos na alimentação de frangos de corte e poedeiras, especialmente a MOS, tornou-se uma alternativa natural, substituindo o uso indiscriminado de antibióticos, além de promover dois pilares da avicultura hoje em produção: biossegurança e sustentabilidade. Essa tecnologia é baseada em processos preventivos que atuam através de diferentes mecanismos visando não apenas a manutenção da saúde intestinal, mas também um melhor status imunológico das aves, promovendo resultados em seu desempenho produtivo e/ou qualidade de ovos, além da ativação de seu sistema imunológico.

É importante salientar que os prebióticos exercem uma importante função de estimular o crescimento de diversas bactérias intestinais benéficas, cujos metabólitos atuam, também, reduzindo o pH através do aumento de quantidade de ácidos orgânicos presentes nos cecos. Por outro lado, atuam bloqueando os sítios de aderência

(principalmente a D-Manose), imobilizando e reduzindo a capacidade de fixação de algumas bactérias patogênicas na mucosa intestinal.

O uso dos oligossacarídeos pode reduzir o crescimento de diversas bactérias intestinais, patogênicas ou não, pela redução do pH, devido ao aumento da quantidade de ácido láctico presente nos cecos (CHOI; NAMKUNG; PAIK, 1994). Algumas bactérias podem reconhecer sítios de ligação nos oligossacarídeos, como sendo da mucosa intestinal, reduzindo-se a colonização intestinal por bactérias patogênicas. Isto feito, além da menor incidência de infecções, teremos a mucosa intestinal inteiramente apta às suas funções de secreção, digestão e absorção de nutrientes (IJI; TIVEY, 1998). Especula-se que os oligossacarídeos possam atuar também estimulando o sistema imune, através da redução indireta da translocação intestinal por patógenos, que determinariam infecções após atingir a corrente sanguínea (MONSAN; PAUL, 1995; IJI; TIVEY, 1998).

Monsan e Paul (1995), demonstraram que com o equilíbrio proporcionado pelos oligossacarídeos à microbiota intestinal, este pode se traduzir em maior ganho de peso em animais. Entretanto, paralelamente ao aumento no ganho de peso corporal em frangos de corte e perus, o uso de alguns oligossacarídeos pode proporcionar aumento no consumo de ração, redundando em uma conversão alimentar não significativamente eficiente (IJI; TIVEY, 1998).

2.4.1 Prebióticos a base de leveduras

Os co-produtos derivados da fermentação alcoólica da produção de etanol de cana-de-açúcar vem sendo estudados desde o final dos anos 70, quando houve a criação do Programa Nacional do Álcool (Proálcool) um estímulo ao desenvolvimento da produção de etanol em larga escala, alavancando o beneficiamento do creme de leveduras, como um de seus principais co-produtos.

Ao longo das décadas de 70 e 80, diversos trabalhos zootécnicos foram realizados, porém, tendo como único objetivo viabilizar as leveduras como um ingrediente nutricional alternativa a fontes de proteínas tradicionais como o farelo de soja. Com isso, até o início dos anos 90, as leveduras permaneceram “esquecidas”, tendo seu uso viabilizado na alimentação animal apenas quando o custo se tornava interessante em função de sua composição nutricional.

A partir dos anos 90, o crescente interesse por parte dos produtores de ração para criação de camarões e para o desmame de leitões, tanto da Europa como da Ásia, fez com que as usinas brasileiras produtoras, adequassem seus procedimentos industriais,

buscando processar as leveduras de maneira a garantir produtos com alta qualidade, possibilitando o crescimento do mercado.

Leveduras são microrganismos unicelulares, pertencentes à classe Ascomycetos, que se reproduzem sexuada ou assexuadamente por brotamento ou cissiparidadee, dentre as culturas existentes, destaca-se a *Saccharomyces cerevisiae* que geralmente possui um formato elipsoidal, variando de 5 a 10 μm no diâmetro maior e 1 a 7 μm no diâmetro menor, sendo seu tamanho aumentado conforme a idade da célula. As médias de volume celular são de 29 ou 55 μm^3 para células haploides ou diploides, respectivamente (WALKER, 1998). Apresentam membrana celular definida, pouco espessa em células jovens e rígidas em células adultas e seus constituintes macromoleculares compreendem em proteínas, glicoproteínas, polissacarídeos, polifosfatos, lipídeos e ácidos nucleicos.

As leveduras apresentam em sua composição química básica: de 33,0 a 46,0% de carboidratos, 38,0 a 50,0% de proteínas, 3,0% de bases nitrogenadas, 1,0% de amônia, 2,0% de lipídeos e esteróis, 6,0 a 8,0% de nitrogênio (MARTINS; HORII; PIZZIRANI-KLEINER, 1997) e de 5,0 a 10,0% de minerais, sendo o potássio e o fósforo seus principais componentes, além do cálcio, magnésio, sódio e enxofre na forma de sulfitos (GAMBOA, 2008). Contém também, elevado teor de nitrogênio não proteico (20,0 a 30,0% do nitrogênio total) representado basicamente por ácidos nucleicos (8,0 a 12,0% do nitrogênio total). O seu nível de lipídeos (2,0 a 7,0%) varia em função do substrato utilizado para o crescimento (BUTOLO, 1997). É rica ainda em vitaminas do complexo B, especialmente tiamina, riboflavina, niacina e ácido pantotênico e em ergosterol, o que a torna excelente fonte de vitamina (GAMBOA, 2008).

O aproveitamento da biomassa da levedura pode ser feito integralmente (ativa e inativa), ou apenas por alguns dos seus componentes como produtos derivados da parede celular e também do conteúdo celular. As células íntegras e a parede celular são utilizadas principalmente na alimentação animal, enquanto o extrato de levedura vem sendo utilizados de longa data na formulação de produtos para humanos, como complemento nutritivo e flavorizante.

Recentemente, a levedura tende a ser fortemente explorada, através do isolamento de seus principais componentes como as enzimas invertase e lactase, nucleotídeos, proteínas (manoproteínas), polissacarídeos (glucana e manana), além de lipídeos (fosfolipídios e ergosterol) (GAIOTTO, 2005). Esse fracionamento também tem atraído pesquisadores com vistas ao uso específico e na formulação de produtos com propriedades funcionais diferenciadas (VILEL; SGARBIERI; ALVIM, 2000).

Foi desenvolvido um método de fracionamento completo da biomassa de levedura e isolamento de vários componentes como invertase, fosfolipídios, ergosterol, glucanas, mananas e glicoproteínas. Métodos para isolamento do ácido ribonucleico de levedura e sua conversão em nucleotídeos e nucleosídeos já foram estabelecidos e são amplamente utilizados assim como os componentes da parede celular. A sua composição de parede celular é rica em beta glucanas (50 a 60%) e mananoligossacarídeos (30 a 40%) e comumente utilizada na nutrição das aves, pois parecem ter impacto no sistema imunológico, no estímulo do desenvolvimento da mucosa e habilidade em prevenir a colonização de bactérias patogênicas, principalmente *Salmonella* spp e *E. coli*, no trato gastrointestinal (BARBALHO, 2009). De acordo com Fairchild et al. (2001), os mananoligossacarídeos agem como sítio de aderência de alta afinidade para bactérias patogênicas com fímbrias manose-específicas ou tipo 1, impedindo-as de aderirem às células intestinais, fazendo com que se movam pelo intestino sem colonizá-lo.

Na figura 1 as setas indicam a diferença na concentração de β -glucanas de duas paredes celulares de leveduras. A parte mais escura da parede celular ImmunoWall® de fermentação de etanol, indica uma densidade maior das β -glucanas.

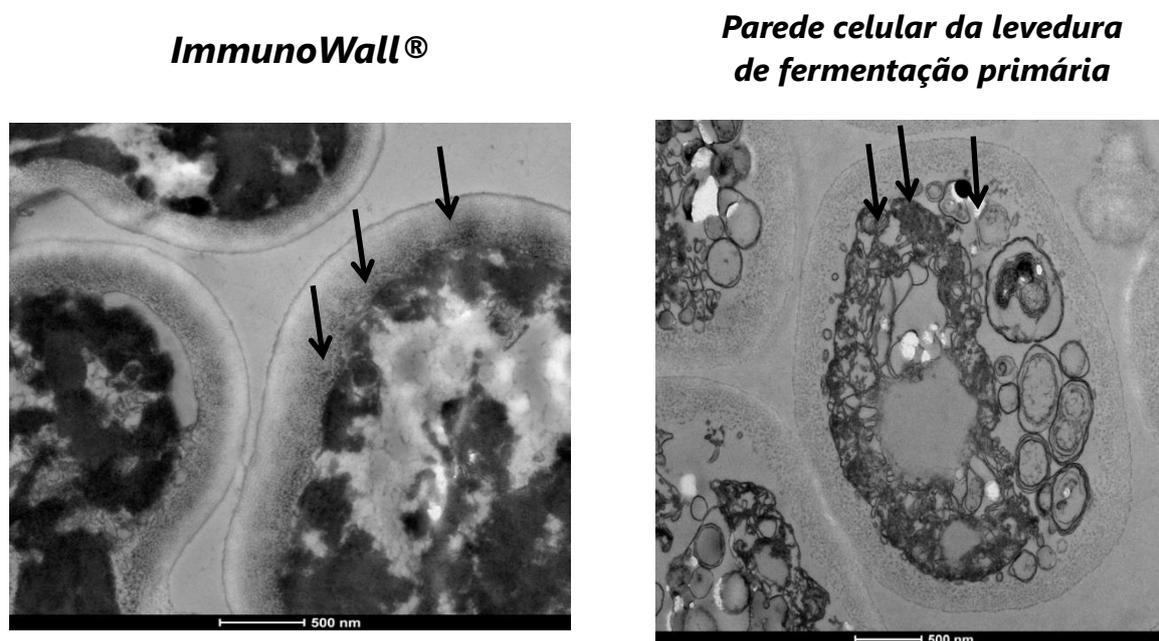


Figura 1: Imagem por microscopia de luz obtida na Electron Microscopy Facility, Cellular & Molecular Medicine, University of California San Diego – 2016

Existe uma longa lista de aditivos que atuam diretamente sobre as bactérias patogênicas ou, indiretamente, modulando a microbiota e a resposta do sistema imunológico e melhorando a integridade intestinal do hospedeiro. A parede celular de

levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) é uma das soluções que podem auxiliar no controle de *Salmonella*, reduzindo a contaminação e prevenindo o problema.

Existe uma preocupação global com a qualidade dos ingredientes e aditivos usados nas rações de animais, uma vez que o consumidor final tem consciência da relação entre “nutrição e saúde”. Mesmo com o aumento da segurança e do manejo, a *Salmonella* continua sendo uma das principais causas de intoxicação alimentar no mundo, e a salmonelose é considerada um grande problema de saúde pública. Portanto, oferecer produtos seguros, como alimentos livres de *Salmonella*, aos consumidores finais é um dos principais objetivos da tecnologia de produção de alimentos.

Com base neste conceito, a parede celular de levedura obtida através da fermentação da cana de açúcar para produção de etanol se destaca de outros produtos, pois é composto por uma densa parede celular de *Saccharomyces cerevisiae* e possui altas concentrações de mananoligossacarídeos (MOS) e β -glucanas (BG), o que o torna um produto com resultados comprovados e ótima relação custo-benefício. MOS são conhecidos por sua capacidade de aglutinar patógenos; evitam a colonização do patógeno no intestino, pois oferecem um sítio de ligação a bactérias que possuem fímbrias tipo 1 presentes no trato intestinal e são excretadas posteriormente com o material fecal.

As β -glucanas presentes modularão a resposta imune dos animais, pois são estimulantes naturais do sistema imune inato. Quando as células fagocíticas entram em contato com as β -glucanas, essas células são estimuladas e as citocinas são produzidas. A produção de citocinas desencadeará uma “reação em cadeia”, induzindo um maior status imunológico nos animais, tornando-os com uma melhor capacidade de resistir às infecções oportunistas. Assim, a suplementação com parede celular de levedura garante que as aves mantenham o equilíbrio da microbiota intestinal e melhorem as respostas do sistema imunológico, resultando na redução da contaminação e transmissão de bactérias patogênicas para outros órgãos do corpo.

As leveduras podem ser obtidas a partir do processo de fermentação primária de etanol, cerveja ou de panificação. A parede celular de levedura de cana de açúcar se destaca, pois é produzido em um ambiente desafiador durante o processo de fermentação da cana-de-açúcar para obtenção de etanol. Durante o processo fermentativo para a produção de etanol a levedura passa por numerosos ciclos, o que torna a parede celular muito mais densa, resultando em um maior teor de carboidratos e menor teor de gordura, tornando-a menos digestível no trato intestinal.

A tecnologia de processo desta parede celular envolve condições agressivas durante a fermentação do etanol, o que força a levedura a se proteger e, portanto, a

fortalecer sua parede celular. As β -glucanas são como um “esqueleto” da parede celular, desta forma, é importante observar a relação entre as β -glucanas e os MOS para medir sua eficiência. Quanto maior a concentração de β -glucanas, menor a degradação da parede celular no trato gastrointestinal e, portanto, melhor sua eficiência como “fibra funcional”. Esta parede celular tem uma razão BG:MOS próxima de 2:1, enquanto as paredes celulares de levedura primárias têm uma razão BG:MOS de 1:1.

Considerando a pressão por parte dos consumidores em todo mundo, a comunidade científica e as agências reguladoras internacionais, para remover ou diminuir o uso de melhoradores de desempenho e o uso racional da forma terapêutica na produção animal, buscam manter a produção versus segurança alimentar, o que tem sido um grande desafio. De acordo com a OMS, cerca de 600 milhões, ou quase 1 em cada 10 pessoas no mundo, adoecem depois de consumir alimentos contaminados. Destas, 420 mil pessoas morrem, incluindo 125 mil crianças com idade inferior a 5 anos. No Brasil, de 2007 a junho de 2016, 90,5% dos casos de doenças transmitidas por alimentos foram provocados por bactérias, sendo que os sorotipos mais encontrados foram a *Salmonella* spp (7,5%), seguida por *Escherichia coli* (7,2%) e *Staphylococcus aureus* (5,8%).

O impacto dos antibióticos na microbiota do intestino tem sido mais recentemente investigado e pesquisadores mostraram que, além de alterar a composição da microbiota, os antibióticos também afetam a expressão gênica, a atividade proteica e o metabolismo geral da microbiota intestinal. As alterações microbianas causadas por antibióticos, além de aumentar o risco imediato de infecção, também podem afetar a homeostase imunológica básica em longo prazo.

Com esta nova realidade, é imprescindível que a cadeia produtiva se adapte e aplique um rigoroso plano de manejo, saúde e nutrição, pois a transmissão pode se dar pela ração, ambiente ou ainda vertical (da matriz para o frango/poedeira), por isso o manejo adequado é essencial neste controle.

A parede celular de levedura *Saccharomyces cerevisiae* é uma das soluções que podem ajudar no programa de controle de patógenos, uma vez que é uma solução natural que reduz a contaminação e previne o problema.

Diversos outros estudos provaram a eficácia da parede celular de levedura em reduzir a contaminação de patógenos nas aves e ovos (HOFACRE et al., 2017); (FERREIRA et al., 2014), mortalidade e melhorar o desempenho produtivo (BONATO et al., 2016; KOIYAMA et al., 2018; RIVERA et al., 2018), principalmente sob desafio. Não existem aditivos alimentares que possam suprir problemas com manejo, plano sanitário, vacinação, nutrição, qualidade de água, entre outros. Os aditivos são

ferramentas que podem ajudar no controle e prevenção. A produção animal intensiva é um ambiente altamente desafiador, assim o fortalecimento do sistema imunológico pode ser uma das chaves para maior produtividade.

A ligação entre qualidade, valor nutricional e segurança alimentar é uma tarefa que tem exigido muita pesquisa pelas indústrias para garantir a saúde pública. A produção de aves é um ambiente desafiador onde a segurança alimentar começa na fazenda e é possível controlar patógenos sem o uso de antibióticos como promotores de crescimento. No entanto, é de suma importância que os produtores, que são o primeiro elo na cadeia de produção, se comprometam, pois está comprovado que a redução de patógenos no campo contribui significativamente para reduzir o risco de doenças transmitidas por alimentos devido à contaminação bacteriana.

Rutz et al. (2006), ao utilizarem extrato de levedura na inclusão de 2% na dieta pré-inicial (1 a 8 dias de idade) de frangos de corte, observou resultados positivos para as aves suplementadas, quando comparadas com aves controle (sem suplementação). Similar resultado foi observado por Tibbetts (2002).

Spring et al. (2000) avaliando a utilização do conteúdo celular de leveduras em rações de suínos na fase de crescimento, verificaram uma melhora na viabilidade e no desempenho dos animais alimentados com extrato de leveduras comparando com dietas sem o uso de quaisquer antibióticos. Demonstrou-se assim, a presença de componentes que agem no sistema imune e, dessa forma, podem ser uma alternativa em situações em que se necessita do fornecimento de rações sem antibióticos como promotores de crescimento.

Dados de uso de levedura como substituto ao antibiótico foram pesquisados por Grigoletti et al. (2002) ao suplementarem frangos de corte com níveis crescentes de levedura (0; 0,15; 0,45 e 0,60%). Os autores observaram que, para as condições do experimento, a levedura pode substituir os antibióticos sem perda no desempenho e índice de eficiência produtivo.

2.5 Probióticos

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 assim definidos, “os microrganismos deveriam ser produzidos em larga escala, permanecendo estáveis e viáveis em condições de estocagem, serem

capazes de sobreviver no ecossistema intestinal, possibilitando ao organismo os benefícios de sua presença”.

Para ser considerado um probiótico, uma ou mais cepas específicas devem agir como auxiliares na recomposição da microbiota intestinal dos animais, diminuindo a ocorrência dos microrganismos patogênicos ou indesejáveis. As bactérias mais comumente utilizadas na sua composição são *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus*, *Bacillus*, *Streptococcus* e algumas espécies de leveduras como a *Saccharomyces*. As bactérias produtoras de ácido láctico encontradas em grandes quantidades no intestino de animais saudáveis são as mais empregadas na produção desses aditivos. Contudo, ainda não é conhecida uma composição ideal de probiótico, mas a eficácia do mesmo é estritamente dependente da quantidade e das características das cepas bacterianas utilizadas na sua elaboração.

Aparentemente, quanto maior o número de espécies bacterianas utilizadas, mais efetivo será o probiótico. Nas misturas contendo mais de 20 espécies, a proteção tende a ser ainda mais efetiva em manter o equilíbrio da microbiota intestinal. As culturas definidas procuram combinar diversas espécies de bactérias que mostram ação sinérgica “in vitro”. Estas combinações variam de 28 até 65 espécies bacterianas. Há necessidade que as bactérias sejam hospedeiro-específicas, a fim de que a máxima eficácia do produto seja atingida. Assim, bactérias com ação probiótica em suínos pode não ter ação em aves ou outras espécies.

Para que um suplemento seja classificado como probiótico ele deve apresentar algumas características, como: resistência às enzimas digestíveis e ao pH ácido do estômago, ser uma cultura viva (bactéria ou levedura), ter capacidade de manutenção de sua viabilidade após estocagem e ter condições de permanecer no ecossistema intestinal.

Spring et al. (2000) citam outros aspectos funcionais como tolerância à atividade de hidrólise dos sais biliares, atividade antioxidante, produção de compostos antimicrobianos, capacidade de reduzir patógenos aderidos na superfície das células intestinais e habilidade de modulação da resposta imune. Dentre os aspectos tecnológicos importantes estão a capacidade de espécies probióticas de resistirem às condições de produção industrial e de sobreviverem na formulação final do produto, além da habilidade das culturas em conservarem sua função no trato gastrointestinal e coexistirem com a microbiota própria do hospedeiro.

Segundo Santos e Turnes (2005), o emprego dos probióticos na nutrição animal não introduz nenhuma substância desconhecida no trato gastrointestinal, nem leva a riscos de contaminação das carcaças ou em introduzir compostos perigosos na cadeia alimentar.

No entanto, de acordo com O'Toole e Cooney (2008), previamente ao uso comercial, os microrganismos probióticos devem ser submetidos a diferentes testes para o reconhecimento de sua segurança como aditivo alimentar para humanos e animais.

De maneira geral, os probióticos contribuem para as características produtivas dos animais, resultantes da criação de uma barreira intestinal física e química às bactérias patogênicas e suas toxinas para que o trato digestório esteja em condições adequadas para uma adequada digestão dos componentes da dieta e absorção dos nutrientes. Importante ainda considerar que para uma melhor eficiência, a adição às rações deve ser já nos primeiros dias de vida do animal, para que tenham capacidade de modular benéficamente a microbiota intestinal e contaminar benéficamente não apenas os animais, mas todo o ambiente criatório. A utilização desses produtos, particularmente na fase inicial da vida dos leitões e anteriormente a períodos de estresse, como o desmame, contribui para a manutenção da flora nativa do intestino delgado.

Existem probióticos com composições distintas e, mesmo aqueles pertencentes à mesma espécie de microrganismos, podem ser de diferentes cepas. Assim, é importante que as bactérias sejam hospedeiro-específicas para que um melhor efeito seja obtido, uma vez que em locais específicos no trato gastrointestinal estão presentes grupos de microrganismos característicos, como bactérias bífidas predominantes no cólon e lactobacilos predominantes no intestino delgado, que modulam a microbiota, através de seus produtos metabólicos (FERREIRA, 2001).

As bactérias com capacidade probiótica, quando isoladas do seu habitat natural, cultivadas ou liofilizadas, podem perder determinadas propriedades, contribuindo para esclarecer a ineficiência de alguns produtos probióticos. No entanto, acredita-se que quanto melhores forem as condições sanitárias, menor estresse para o animal e mais equilibrada for a microbiota intestinal, menor será o efeito desses aditivos. Isto implica dizer que as condições sanitárias de uma granja é o ponto fundamental quando da tomada de uma decisão sobre o uso de um complexo bacteriano probiótico.

Os *Lactobacillus* são largamente utilizados como probióticos, dentre eles, destacam-se o *L. acidophilus* *L. brevis* *L. bulgaricus* *L. casei* *L. cellobiosus* *L. curvatus* *L. plantarum* *L. delbruekii* *L. farciminis* *L. fermentum* *L. lactis* *L. rhammnosus* *L. reuterii* *L. salivarius*. Assim, vários estudos têm sido realizados para comprovar o efeito desses microrganismos na saúde intestinal.

Ao tratar aves experimentalmente desafiadas com *Salmonella Enteritidis* inoculadas in ovo, com microbiota cecal indefinida, microbiota cecal indefinida diluída e *Lactobacillus salivarius*, Andreatti Filho et al. (2006) observaram que todas as aves,

independente do tratamento, apresentaram bacteriologia positiva para *Salmonella* no ceco. Porém no fígado, os tratamentos tiveram diferenças, as aves tratadas com microbiota cecal indefinida foram 18% positivas, as tratadas com microbiota cecal indefinida diluída foram 58% positivas e nas aves tratadas com *Lactobacillus salivarius*, *Salmonella spp.* não foi detectada e concluíram que o *L. salivarius* impediu a migração para o fígado.

Em estudos com *L. reuteri* e *L. salivarius* isoladas dos cecos de galinhas foi comprovada a capacidade de inibição *in vitro* da *Salmonella Enteritidis* fagotipo 4, *Salmonella Enteritidis* fagotipo 28, *Salmonella Typhimurium*, *Salmonella Pullorum*, *Salmonella Agona*, *Salmonella Anatum*, *Salmonella Dublin* e *Salmonella Senftenberg* (BARROS et al., 2009).

Westphal et al. (2011) usaram *Lactobacillus sp.* adicionado à água, como probióticos para redução de *Salmonella* entérica, variedade minnesota, tendo observado que o probiótico foi capaz de reduzir 51,1% a excreção cecal de *Salmonella spp.* No trabalho desenvolvido por Zanini et al. (2012) utilizando óleo de aroeira vermelha em substituição ao antibiótico promotor do crescimento, obtiveram maior quantidade de *Lactobacillus Acidophilus*, melhorando a saúde intestinal.

Segundo Toledo, Rocha e Farias (2009), as espécies de *Bifidobacterium* recomendados pelo potencial ação como probióticos são *B. bifidum*, *B. breve*, *B. thermophilum*, *B. lactis*, *B. longum*, *B. animalis*, *B. infantis* e *B. adolescentis*.

Em estudo com prebiótico contendo oligossacarídeo, probiótico contendo *Bifidobacterium latis* e os dois associados, Jung et al. (2008) observaram o aumento das bactérias benéficas, nas aves que foram alimentadas com o prebiótico contendo oligossacarídeo, mas que a combinação do prebiótico com o probiótico aumentou o efeito benéfico, por aumentar a concentração das bactérias em até 21 vezes mais. Porém não houve diferença significativa para os parâmetros zootécnicos testados, o que não invalida a importância da estratégia de combinar prebióticos e probióticos, com o intuito de melhorar a microbiota intestinal.

Estudos com probióticos utilizaram a associação desses microrganismos de maneiras diferentes, geralmente com *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*. Fonseca et al. (2010) utilizaram um probiótico contendo *L. bulgaricus*, *L. acidophilus*, *L. rhamnosus*, *Enterococcus faecium*, *Bifidobacterium bifidus* e *Streptococcus thermophilus* e puderam observar que o pH do lúmen cecal baixou, ao mesmo tempo em que houve redução de enterobactérias e também aumento no comprimento dos vilos do íleo. Da mesma forma, leitões recém desmamados e recém nascidos alimentados probióticos dos gêneros

Lactobacillus, *Streptococcus* e *Bacillus*, apresentaram melhora no desempenho de crescimento e saúde geral (CHEN et al., 2005; REITER et al., 2006).

Barbé, Sacy e Hocke (2018) conduziram uma interessante pesquisa com 208 pintos de 1 dia de idade, da linhagem Ross, e estudaram o desempenho e características do trato digestório, com o uso de Levucell SB (*Saccharomyces cerevisiae boulardii*). Os resultados permitiram concluir que o ganho de peso e a conversão alimentar foram significativamente melhores com o uso do produto testado. O ganho de peso foi de 3% e 4% superior, para as fases inicial e final, respectivamente, enquanto o consumo de ração foi 7% a menos, quando do uso do Levucell SB (*Saccharomyces cerevisiae boulardii*), durante todo período experimental, em relação ao grupo de frangos que não recebeu a suplementação de Levucell SB (*Saccharomyces cerevisiae boulardii*).

2.5.1 Modo de ação dos probióticos

Os resultados zootécnicos e econômicos positivos do uso de “promotores de crescimento antibióticos” de uso contínuo se assemelham aos dos probióticos. Considerando, apenas, suas ações preventivas sobre pequenas e frequentes infecções intestinais que interferem sobre a digestão e absorção de alimentos. Estas infecções intestinais alteram o metabolismo do hospedeiro, através do aumento de atividade do sistema imune da mucosa intestinal, liberando citocinas na circulação geral. Ocorre aumento na taxa metabólica basal, aumentando os níveis de degradação de proteína e reduzindo a síntese proteica. O aumento da taxa de atividade metabólica reduz a energia metabólica disponível para o crescimento, e conseqüentemente a eficiência alimentar.

Segundo Fox (1988) e Jin et al. (1997) os probióticos agem por exclusão competitiva, ou seja, aderem a sítios específicos localizados no epitélio intestinal diminuindo assim, a colonização por microrganismos patogênicos. Este mecanismo de exclusão competitiva não está totalmente esclarecido, mas através de várias pesquisas pode-se levantar algumas formas de atuação dos probióticos:

- Dentro do intestino, os microrganismos do probiótico realizam uma rápida metabolização de substratos, que por ficarem indisponíveis aos patógenos, impedem sua proliferação;
- Provocam redução no pH intestinal, através da produção de ácido láctico, tornando o meio impróprio para a multiplicação de agentes patogênicos;
- Podem secretar proteínas (bacteriocinas) que possuem ação inibidora ou destrutiva contra uma cepa específica de bactéria;

- As bactérias produtoras de ácido lático podem estimular a produção de anticorpos e a atividade fagocítica contra patógenos no intestino e em outros tecidos do corpo;
- Tem-se o aumento de atividade enzimática no trato gastrointestinal, devido às bactérias benéficas;
- Ocorre o aumento da área de absorção do intestino delgado.

A competição por sítios de ligação é um conceito que ficou conhecido também com o nome de “Exclusão Competitiva”. As bactérias probióticas ocupam sítios de ligação (receptores ou pontos de ligação) na mucosa intestinal formando uma barreira física às bactérias patogênicas. É necessário em torno de 40 bactérias para recobrir a superfície de uma célula intestinal. Assim, as bactérias patogênicas são excluídas pela competição.

As bactérias presentes nos probióticos produzem ácidos graxos voláteis de cadeia curta que deixam um pH e/ou um ambiente químico desfavorável às bactérias patogênicas, especialmente com relação ao *Campylobacter*, *Clostridium* e *Salmonelas*. Produzem também peróxido de hidrogênio, sulfito de hidrogênio e bacteriocinas (antibióticos bacterianos de ação local) que inibem o crescimento de patógenos intestinais. Algumas bactérias secretam enzimas como a b-glucoronidase e hidrolases de sais biliares que liberam compostos como ácidos biliares com ação inibitória sobre outras bactérias.

A nutrição dessas bactérias probióticas ocorre através de nutrientes presentes nos ingredientes que não foram total ou parcialmente degradados pelas enzimas digestivas normais ou que foram intencionalmente adicionados à dieta. Estas substâncias, intencionalmente adicionadas, são conhecidas como prebióticos e serão mais detalhadas adiante. A competição por nutrientes não ocorre entre a ave e a bactéria; e sim entre as bactérias intestinais por seus nutrientes específicos. A escassez destes nutrientes disponíveis na luz intestinal que possam ser metabolizados pelas bactérias patogênicas é um fator limitante de manutenção das mesmas neste ambiente. Ou ainda, pode-se “alimentar” qualitativamente as bactérias probióticas intestinais em detrimento das patogênicas.

As bactérias probióticas têm a capacidade de modulação de respostas imunes sistêmicas aumentando o número e a atividade de células fagocíticas do hospedeiro. O animal, simplesmente, não consegue sobreviver se não desenvolver uma microbiota intestinal normal. O trato intestinal de todos os animais é o órgão com maior

responsabilidade no desenvolvimento de imunidade geral inespecífica. Diferentemente de todas as outras espécies animais, as aves não apresentam linfonodos. Seus órgãos linfóides estão espalhados ao longo do trato intestinal.

Através do estímulo imunológico de mucosa, há a produção de anticorpos tipo IgA que bloqueiam os receptores e reduzem o número de bactérias patogênicas na luz intestinal. O estímulo imune, também, produz ativação de macrófagos, proliferação de células T, produção de interferon, entre outros. Assim, há aumento da imunidade de mucosas refletindo em maior resistência à problemas respiratórios.

Várias ações intestinais dos probióticos podem ser classificadas como “nutricionais”, podendo a microbiota atuar tanto no metabolismo intermediário quanto no final. No primeiro caso, atua sobre substratos que as enzimas naturais das aves não agem, produzindo substâncias que são absorvidas ou secundariamente metabolizadas, melhorando o aproveitamento dos alimentos e reduzindo a excreção de nutrientes. No segundo caso, atua na transformação de substâncias que, de alguma forma, interferem com o rendimento animal.

Uma vez mais, é importante ressaltar que os microrganismos probióticos produzem ácidos graxos voláteis de cadeia curta (propiónico, acético e, principalmente butírico) que podem ser utilizados como fonte de energia para as células epiteliais, na síntese de poliaminas, esperminas e spermidinas; substâncias estas que estão associadas com os ácidos nucleicos celulares na divisão celular e síntese proteica. As bactérias probióticas reduzem a produção de amoníaco e auxiliam na eliminação de aminas biogênicas tóxicas, atuam na produção de vitaminas do complexo B.

2.6 Fitogênicos, fitobióticos ou nutracêuticos

As plantas medicinais começaram a ser utilizadas em terapias medicinais pelos chineses há 5.000 anos, por volta de 1550 a.C., e os egípcios as usavam para preservação de alimentos e em cerimônias de mumificação (DAVIDSON; NAIDU, 2000). No entanto as primeiras evidências científicas que descreveram suas propriedades antimicrobianas não surgiram antes do século XX (HOFFMANN; EVANS, 1911). Desde então, muitos compostos de óleos essenciais com fortes atividades antimicrobianas têm sido estudados para consumo humano e animal (BURT, 2004).

No Brasil, a utilização de plantas medicinais é uma prática comum resultante da forte influência cultural dos indígenas locais miscigenadas, das tradições africanas,

oriundas de três séculos de tráfico escravo, e da cultura europeia, trazida pelos colonizadores (ROCHA et al., 2015)

Pesquisas científicas sobre plantas medicinais associadas a dados sobre o uso tradicional de medicamentos preparados a partir de espécies endêmicas brasileiras têm garantido cada vez mais a segurança e qualidade dos fitoterápicos Brasil (2016), o que têm estimulado as empresas e instituições de pesquisa a investirem cada vez mais em estudos que visam compreender o mecanismo de ação e benefícios das plantas medicinais.

Para serem consideradas medicinais, pela ciência moderna, as plantas têm que apresentar substâncias de ação farmacológica, que atuem direta ou indiretamente como medicamento. Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária, são consideradas medicinais as plantas tradicionalmente utilizadas como remédio por uma população ou comunidade, capazes de aliviar ou curar doenças. Quando essas plantas são industrializadas para se obter um medicamento, este é chamado fitoterápico (ANVISA, 2010).

A avaliação da atividade biológica de uma planta inclui a investigação da atividade farmacológica e toxicológica de extratos brutos ou de substâncias isoladas dessas plantas (ROYER et al., 2013). Mas para obterem reconhecimento como medicinais, é necessário que a autenticidade, a integridade e pureza desses extratos ou substâncias sejam comprovadas.

Os fitoterápicos têm mostrado efeitos positivos na produção animal e esses efeitos estão associados aos princípios ativos presentes nas plantas. Os produtos originados de plantas são chamados aditivos fitogênicos, fitobióticos ou nutracêuticos. Esses produtos, quando adicionados à dieta dos animais, melhoram a qualidade da ração, aumentando a produtividade, e melhoram também a qualidade desses animais, ao serem utilizados como alimento (CATALAN et al., 2012). Os produtos químicos e fármacos sintéticos geralmente causam aumento da resistência dos parasitas e têm um elevado tempo de permanência no ambiente (TAVECHIO; GUIDELLI; PORTZ, 2009). Os extratos vegetais têm a vantagem de causar um desenvolvimento lento de resistência. Além disso, podem ser direcionados a espécies-alvo, são biodegradáveis e são inócuos ao ambiente, diminuindo a emissão de resíduos (CHAGAS, 2004). Existe a possibilidade de que a toxicidade dos extratos vegetais ocorra a concentrações bastante elevadas e/ou exposição prolongada e em dependência da espécie em questão. Dessa forma, a toxicidade deve ser um parâmetro testado.

O uso de fitoterápicos está associado a um mercado consumidor cada vez mais exigente em relação ao bem estar animal e qualidade do produto final, além de reduzir os

custos e pelos riscos ambientais proporcionados pelos medicamentos convencionais. Desta forma, as plantas medicinais se mostram eficazes em qualquer área da criação animal.

2.7 Óleos essenciais

Devido ao recente surgimento de bactérias resistentes a múltiplas drogas antimicrobianas, representando um desafio para o tratamento de infecções, e à exigência por um produto de origem animal de melhor qualidade, a necessidade de descobrir novas substâncias antimicrobianas para uso no combate a tais microrganismos torna-se primordial.

Óleos essenciais são metabólitos secundários de plantas que possuem potencial antimicrobiano (TZAKOU et al., 2001) associado aos monoterpenos. Pesquisas avançadas mostram que além desta ação antimicrobiana, os óleos possuem função imunomoduladora (MELLOR, 2000), propriedades antioxidantes e de conservação dos alimentos (BOTSOGLOU et al., 2002; FARAG et al., 1989), os óleos possuem uma grande variedade de efeitos relacionados aos processos inflamatórios nos quais a proliferação descontrolada de radicais é muito prejudicial (SANTOS, 2007). Estas propriedades dependem de sua capacidade de eliminar os radicais livres, inibir a peroxidação de lipídios de membrana, metais quelatados, e estimular a atividade de enzimas antioxidantes (GUTIEREZ; BARRY-RYAN; BOURKE, 2008; LEE; AHN, 2003). Contudo, as atividades mais importantes desses compostos são como antisépticos e antimicrobianos.

O teor do óleo essencial em uma mesma espécie de planta pode variar em função da época do ano, seu estágio de desenvolvimento (CARVALHO-FILHO et al., 2006; SIANI, 2000) de fatores geográficos (localização), ecológicos (OLIVEIRA et al., 2005) e também da variabilidade genética (TAVARES et al., 2005). Assim, para viabilizar um medicamento produzido a partir de plantas que sintetizam óleos essenciais é necessário conduzir investigações agrônomicas preliminares, que forneçam dados de produtividade e qualidade em função dos fatores mencionados anteriormente.

Além do uso de MOS, o uso de aditivos fitogênicos, como extratos de plantas ou óleos essenciais, também pode substituir antibióticos, devido à sua inibição de microrganismos patogênicos e melhorias na digestibilidade de alguns nutrientes (KOIYAMA; ROSA; PADILHA, 2014), otimizando o desempenho do animal. Além disso, essas substâncias são consideradas seguras pela indústria alimentícia, pois não

deixam resíduos em produtos de origem animal e subprodutos (BRENES; ROURA, 2010).

Esses aditivos têm a vantagem, além de serem produtos completamente naturais, são facilmente encontrados e cultivados para uma produção mais intensiva do produto. Além disso, promovem como benefícios: ação antioxidante, capaz de retardar a peroxidação lipídica, e o controle da microbiota intestinal pela ação antimicrobiana, onde há aumento da permeabilidade da membrana citoplasmática e com essa perda de íons, falha de a bomba de prótons (BAKKALI et al., 2008; BRENES; ROURA, 2010), que é responsável pela redução da produção de toxinas pelas bactérias e, conseqüentemente, aumento da digestibilidade dos alimentos pela redução da degradação das vilosidades intestinais

A principal diferença entre extratos vegetais e óleos essenciais é a técnica de extração utilizada. Extratos vegetais são obtidos de qualquer parte da planta e produzidos por maceração ou percolação com água ou etanol (ALVES et al., 2008). No entanto, os óleos essenciais podem ser obtidos a partir de diferentes partes da planta por destilação drag (AGUIAR et al., 2014).

Os óleos essenciais, típicos de plantas que possuem anéis aromáticos em sua composição química, são voláteis à temperatura ambiente e de baixa persistência no organismo animal, não deixando resíduos na carcaça do animal (SANTOS et al., 2012). O uso dos óleos tem demonstrado eficácia e segurança no controle de infecções humanas e animais (NOSTRO et al., 2004). Assim, eles podem ser incluídos como um aditivo na alimentação animal, uma vez que fornecem uma menor taxa de contaminação ambiental em comparação com o aditivo antimicrobiano. Embora muitas dessas plantas sejam usadas rotineiramente, pouco se sabe sobre sua ação de óleos essenciais, especialmente o óleo essencial de *Lippia sidoides* (figura 2).

Especificamente, os óleos essenciais de *Lippia spp.*, objeto deste estudo, podem ser utilizados como alternativas aos melhoradores de desempenho, pois possuem comprovada ação antimicrobiana (AZEVEDO et al., 2015; SOUZA et al., 2015). Esta planta tem um anel aromático, possuindo de acordo com a sua espécie β -myrene, timol, carvacrol, cymeno, terpinene, caryophyllene, farnesol, pipeno, canfeno, borneol, cineol, lineol, tanino, rosmarinol, rosmarinina, como compostos majoritários (GUIDOTTI-TAKEUCHI; CAFE, 2016; LEITÃO; LEITÃO, 2008; SOUZA, 2014). Estes compostos possuem atividade antimicrobiana contra *S. aureus* e *E. coli* isolados de aves (SOUZA et al., 2015). Atua também como nutracêutico quando adicionado à dieta, promovendo o desempenho e rendimento de carcaça em frangos de corte (AZEVEDO et al., 2015).



Figura 2: Espécie *L. sidoides* é uma planta endêmica do Cerrado e Caatinga brasileiros e apresenta comprovada atividade antimicrobiana e anti-inflamatória, sendo os monoterpenos timol e carvacrol os principais compostos ativos desta espécie.

No trabalho de Kuçukyilmaz et al. (2017), onde os frangos foram alimentados com 24 e 48mg / kg de óleo essencial de lavanda, tiveram um aumento de 9% no ganho de peso em comparação aos frangos que não utilizaram melhoradores de performance durante os 39 dias de vida, indicando maior digestibilidade dos nutrientes. Neste mesmo trabalho, os autores observaram que não houve diferença estatística no consumo de ração e mortalidade dos animais alimentados com a ração sem aditivo e a ração contendo o óleo essencial, possibilitando sua utilização como um potencial promotor de crescimento aditivo. No trabalho realizado por Batista et al. (2013), foi demonstrado que a pimenta alecrim, que possui em sua composição timol e carvacrol, princípios ativos semelhantes aos de *Lippia gracilis*, e que estes apresentam ação antifúngica, indicando ação antimicrobiana deste gênero. Assim, o óleo essencial de alecrim, *Lippia gracilis*, por conter timol e carvacrol como principais compostos ativos, torna-se um potencial promotor de crescimento aditivo para aves, necessitando de estudos sobre suas propriedades e sua interação no organismo das aves. Embora estas espécies de plantas possuam ações antimicrobianas, poucos estudos com óleos essenciais como aditivos naturais na nutrição animal foram realizados. Portanto, se faz necessário aprofundar o conhecimento sobre suas ações na microbiota intestinal dentro da indústria avícola.

Ainda, recente pesquisa com o uso do timol sobre o sistema imunitário de frangos de corte, Placha et al. (2019) conduziram um experimento utilizando três tratamentos, com 0%, 0,05% e 0,1% de óleo essencial de *Thymus vulgaris*. Como resultados, os autores verificaram que a concentração de timol no plasma e na parede duodenal aumentou significativamente quando 0,1% de timol foi adicionado à ração. Verificaram ainda que

a atividade da superóxido dismutase aumentou enquanto a concentração de malonaldeído diminuiu significativamente no sangue dos frangos que foram alimentados com a maior concentração de timol. Como conclusão, o nível de timol foi suficiente para expressar suas propriedades antioxidantes.

Trabalho mais recente, conduzido por Ibrahim et al. (2021), o qual envolveu 2400 pintos de corte, objetivou estudar níveis de timol e de uma emulsão de nanoemulsão de timol, na proteção contra frangos infectados por *Salmonella Typhimurium*. Durante todo período experimental as aves alimentadas com 1% de nanoemulsão de timol apresentaram melhor desempenho, mesmo aquelas que foram infectadas pela *S. Typhimurium*. Finalmente, concluíram que as suplementações de 1% de timol, e de 0,5% e 1% de nanoemulsão de timol foram eficientes no aumento de *Lactobacillus* e diminuição da população de *S. Typhimurium*.

Bosetti et al. (2020), conduziram um sugestivo experimento com o objetivo de estudar a substituição do promotor de crescimento virginiamicina por um produto microencapsulado contendo 60% de cinamaldeído e 30% de carvacrol. O nível de virginiamicina foi de 30 mg/kg de ração enquanto que os níveis do produto encapsulado foi de 100, 200 e 400mg/kg de ração. Foi ainda mantido um grupo controle sem a adição de virginiamicina e ou mistura dos óleos essenciais. Os resultados de desempenho permitiram concluir que as aves que receberam o produto à base dos óleos de carvacrol e cinamaldeído apresentaram o mesmo desempenho quando comparadas ao grupo que foi alimentado com o antibiótico virginiamicina. No entanto os resultados foram significativamente superiores em relação ao grupo que foi alimentado sem qualquer dos promotores de crescimento. Nenhuma diferença foi encontrada para os parâmetros peso dos órgãos, mucosa intestinal e qualidade da carne. No entanto, observou-se um aumento da relação vilosidade:cripta quando se usou a virginiamicina e os dois maiores níveis da mistura de óleos essenciais. Concluiu-se que a mistura dos óleos essenciais pode substituir o promotor de crescimento antibiótico em rações de frangos de corte, sem prejuízo do desempenho, integridade intestinal e qualidade da carne.

3 OBJETIVOS

O objetivo deste estudo foi o de avaliar a parede celular de levedura como fonte de β -glucanas e MOS, óleos essenciais e probiótico como melhoradores de desempenho na produção de frangos de corte desafiados com *Eimeria spp* e *Clostridium perfringens.*, possibilitando a escolha por uma tecnologia correta, segura e sustentável.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Um experimento com duração de 28 dias, foi conduzido nas instalações do Departamento de Ciência Avícola da Mississippi State University (EUA). Foram utilizados 672 pintos machos de 1 dia de idade da linhagem Ross 708, alojados em baterias (figura 3). O delineamento experimental foi o em blocos ao acaso, envolvendo quatro blocos de 24 gaiolas cada um, com 7 aves por gaiola. Os tratamentos adotados foram: T1- controle negativo (CN) sem aditivos; T2- controle positivo (CP) com adição de 72 g/T de Maxiban® (Nircabazina e Narasina); T3- CN com adições de 500g/T de parede celular ImmunoWall® (MOS e Beta Glucanas) e 300 g/T de óleo essencial (carvacrol e timol); T4 – CN com adições de 500g/T de parede celular ImmunoWall® (MOS e Beta Glucanas), 300 g/T de óleo essencial (carvacrol e timol) e 100 g/T de probiótico Levucell® (*Saccharomyces cerevisiae boulardii*).

O experimento foi dividido em duas fases (1 a 14 dias e 15 a 28 dias de idade). O manejo da iluminação, temperatura e consumo de ração seguiram as recomendações do manual da Ross.

Este estudo foi aprovado e conduzido sob as diretrizes do Comitê Institucional de Cuidados e Uso de Animais da Mississippi State University (MSU IACUC 19-330) onde foi conduzido.

As rações foram formuladas de acordo com as especificações da Ross 708 (Aviagen) e foram baseadas em milho e farelo de soja (Quadro 1).

Quadro 1 - Ingredientes e níveis nutricionais das rações inicial e de crescimento

Ingredientes (%)	Inicial(1-14)d	Crescimento (14-28)d
Milho moído	56.67	62.01
Farelo de soja (48%)	33.82	27.71
Far. de carne e ossos (57%)	5.00	6.00
Gordura de aves	2.46	2.62
Calcário calcítico	0.23	0.27
Fosfato bicálcico	0.66	0.25
DL metionina (99%)	0.34	0.31
Supl. vit.+microminerais	0.25	0.25
L lisina HCl, (78,8%)	0.17	0.26
L-Threonine (98,0%)	0.15	0.11
Cloreto de sódio	0.15	0.11
Inerte/Aditivo	0.09	0.09
Colina-Cl, 60%	0.01	0.01
Total	100	100
Níveis calculados		
Proteína bruta, %	22.84	21.17

EM kcal/kg	3.000	3.100
Extrato etéreo %	5.01	5.38
Cálcio %	0.81	0.72
Fósforo total%	0.64	0.57
Fósforo disponível %	0.33	0.29
Sódio %	0.16	0.16

Aminoácidos dig. %

Lisina	1.28	1.15
Treonina	0.85	0.77
Metionina	0.67	0.61
Cistina	0.26	0.26
Met + cist	0.94	0.87
Arginina	1.39	1.22
Isoleucina	0.85	0.78
Leucina	1.62	1.53
Valina	0.96	0.88

Composição (Inicial) por quilograma de ração: Vit A – 7.720 UI; Vit D3 – 2.755 UI; Vit E – 16.532 UI - Vit K – 0,8 mg; Tiamina – 5 mg; Riboflavina – 8 mg; Niacina – 55 mg; Piridoxina – 4 mg; Vit B12 – 0,01 mg; Ácido pantotênico – 16 mg; Ácido fólico – 1 mg; Biotina – 0,17 mg; Colina – 2.089 mg; Zinco – 134 mg; Manganês – 118 mg; Cobre – 19 mg; Ferro – 229 mg; Selênio – 0,3 mg; Cobalto – 0,02 mg; Flúor – 13 mg; Enxofre – 733 mg

Composição (Crescimento) por quilograma de ração: Vit A – 7.717 UI; Vit D3 – 2.755 UI; Vit E – 16.532 UI; Vit K – 0,8 mg; Tiamina – 5 mg; Riboflavina – 8 mg; Niacina – 54 mg; Piridoxina – 4 mg; Vit B12 – 0,01 mg; Ácido pantotênico – 15 mg; Ácido fólico – 1 mg; Biotina – 0,15 mg; Colina – 1.977 mg; Zinco – 132 mg; Manganês – 114 mg; Cobre – 18 mg; Ferro – 175 mg; Selênio – 0,3 mg; Cobalto – 0,03 mg; Flúor – 5 mg; Enxofre – 802 mg



Figura 3: Baterias ABSL2 – Mississippi State University

O modelo de desafio por enterite necrótica utilizado consistiu em uma inoculação oral de *Eimeria acervulina*, seguida de inoculações orais de *Clostridium perfringens*. Para o desafio de coccidiose, no dia 14 todas as aves foram individualmente desafiadas via gavagem oral com uma dose 20 vezes de Coccivac-B52® (Intervet Inc., Omaha, NE). Cada ave recebeu 1 ml de inóculo contendo um mix de diferentes cepas de *Eimeria*. (*E. mivati*, *E. tenella*, *E. acervulina* e *E. máxima*)

Para o desafio de enterite necrótica, uma cepa #CP6 foi obtida do Southern Poultry Research Group. As colônias de *Clostridium perfringens* foram cultivadas anaerobicamente em Tryptone sulfite neomycin agar (TSN ágar; Millipore Sigma, Burlington, MA a 35°C). Uma colônia foi inoculada em um novo meio clostridial reforçado (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA) e incubada anaerobicamente durante a noite. A concentração de *C. perfringens* foi definida para atingir aproximadamente 10⁸ UFC/ml para inoculação. Para a inoculação oral, esta cultura de *C. perfringens* foi centrífuga a 5.000 rpm por 5 minutos (Centrífuga 5810R, Eppendorf; Hamburgo, Alemanha). A cultura foi reconstituída em água estéril e mantida no gelo até o procedimento da inoculação, que ocorreu nos dias 14 e 21 com 1 ml desta cultura usando uma seringa de 1 ml (Fisher Scientific, Waltham, MA).

As aves e as rações foram pesadas aos 1, 14 e 28 dias, para se obter os dados de ganho de peso diário (GPD), consumo de ração (CR), mortalidade e taxa de conversão alimentar corrigida pela mortalidade (CAC)

Nos dias 21 e 28, 12 aves foram escolhidas aleatoriamente de cada tratamento, pesadas, e eutanasiadas por asfixia com CO₂ e necropsiadas (figura 4). Amostras foram coletadas do baço, bursa de Fabricius, duodeno, jejuno, íleo e ceco. Foram pontuados os duodenos, jejuno, íleo e ceco para lesões de coccidiose e enterite necrótica (NE). Os escores da lesão foram avaliados com base na magnitude da patologia bruta, sendo 0 = nenhum, 1 = leve, 2 = moderado e 3 = grave. Os conteúdos do íleo e ceco foram acondicionados em pequenos sacos plásticos e mantidos no gelo para análise microbiológica.

No dia seguinte à amostragem, os conteúdos do íleo e do ceco foram diluídos 10 vezes em uma solução salina tamponada de Peptone (PBS, Millipore Sigma; Burlington, MA), para análise microbiológica. Para cada amostra, 100 µL foram espalhados em placas de ágar TSN e incubados por 24 h a 37°C em ambiente anaeróbico (Espiral Biotech Anoxomat; Norwood, MA). Após a incubação (figura 5), as colônias foram contabilizadas e registradas para posterior análise estatística.

Todas as análises foram realizadas utilizando o SAS v. 9.4 considerando o nível de 5% de significância. Os escores das lesões foram calculados como percentuais para cada tecido do intestino delgado e o teste estatístico utilizado foi o teste não paramétrico de Kruskal- Wallis. Os meios foram separados utilizando o LSD Protegido de Fisher, e as diferenças foram consideradas significativas quando $P \leq 0,05$.



Figura 4: Aves necropsiadas



Figura 5: Incubação

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados de desempenho para as variáveis ganho de peso diário (GPD), o consumo de ração (CR), conversão alimentar (CAC) e mortalidade, são apresentados na (Tabela 2),

Com relação ao ganho de peso, pode-se observar que as aves que receberam a ração contendo o coccidicida apresentaram um melhor resultado que as dos demais tratamentos no período de 1 a 14 dias, no entanto, nos períodos de 15 a 28 dias e no período total de 1 a 28 dias, as aves do tratamento em que não foi adicionado nenhum aditivo, foram as que apresentaram um pior ganho de peso, não havendo diferença significativa entre todos os outros tratamentos, o que evidencia que, quando as aves foram desafiadas com *Eimeria spp* e *C. perfringens*, os aditivos utilizados foram eficazes na proteção contra esses dois patógenos. O tratamento cujas aves receberam o agente anticoccidiano pode ter resultado em melhor ganho de peso até 14 dias, em comparação ao tratamento controle em virtude de uma possível contaminação por alguma cepa de *Eimeria* presente no galpão antes do procedimento de desafio. Silva et al (1987) verificaram a eficácia de Maxiban a 80 ppm no controle da coccidiose em frangos de corte, em relação a outros programas anticoccidianos, e verificaram que o Maxiban se mostrou eficiente em melhorar o ganho de peso das aves, muito embora neste estudo a adição tenha sido de 72g/Ton, o que corresponde a um nível 10% inferior. Diversos estudos comprovaram a eficácia da parede celular de levedura em reduzir a contaminação de patógenos nas aves (FERREIRA et al., 2014; HOFACRE et al., 2017), mortalidade e melhorar o desempenho produtivo (BONATO et al., 2016; KOIYAMA et al., 2018; RIVERA et al., 2018), principalmente sob desafio. Resultados interessantes foram obtidos por Rutz (2006), que ao utilizar extrato de levedura na inclusão em ração pré-inicial de frangos de corte, observou resultados positivos para as aves suplementadas, quando comparadas com aves controle (sem suplementação). Outros estudos com resultados promissores ao uso de leveduras foram conduzidos, citando-se aqui (GRIGOLETTI et al., 2002) ao suplementarem frangos de corte com níveis crescentes de levedura (0; 0,15; 0,45 e 0,60%), observaram que este aditivo pode substituir os antibióticos sem prejuízo do desempenho.

Barbé, Sacy e Hocke (2018) além de estudarem o desempenho, estudaram ainda as características concernentes à integridade do trato digestório. Para isso utilizaram o Levucell, com resultados que permitiram concluir que o ganho de peso e a conversão alimentar foram significativamente melhores com o uso do produto testado. O ganho de

peso foi de 3% e 4% superior, para as fases inicial e final, respectivamente, enquanto o consumo de ração foi 7% menor, quando do uso do Levucell, durante todo período experimental, em relação aos frangos que não receberam a ração com o aditivo em questão.

Com relação ao uso da mistura de carvacrol e timol, utilizado em todos os tratamentos, deve-se ressaltar que os óleos essenciais podem substituir antibióticos, devido à sua inibição a microrganismos patogênicos e melhora na digestibilidade de alguns nutrientes (KOIYAMA; ROSA; PADILHA, 2014), otimizando o desempenho das aves. Além disso, essas substâncias são consideradas seguras pela indústria alimentícia (BRENES; ROURA, 2010).

O óleo essencial, pode ser utilizado como alternativa aos melhoradores de desempenho, pois possui uma comprovada ação antimicrobiana (AZEVEDO, 2015; SOUZA, 2015). Esta planta tem um anel aromático, possuindo de acordo com a sua espécie β -myrene, timol, carvacrol, cymeno, terpinene, caryophyllene, farnesol, pipeno, canfeno, borneol, cineol, lineol, tanino, rosmarinol, rosmarinina, como compostos majoritários (GUIDOTTI-TAKEUCHI; CAFE, 2016; LEITÃO; LEITÃO, 2008; SOUZA, 2014). Souza et al. (2015) ressaltam a atividade antimicrobiana contra *S. aureus* e *E. coli* isolados de aves. Atua também como nutracêutico, melhorando o desempenho e rendimento de carcaça em frangos de corte (AZEVEDO, 2015).

Neste estudo o óleo essencial foi adicionado na proporção de 300g/T de ração, No entanto, Kuçukyilmaz et al. (2017), trabalharam com adições que variaram de 24 a 48g/T e obtiveram um aumento de 9% no ganho de peso em comparação aos frangos que não utilizaram melhoradores de desempenho até os 39 dias de idade, indicando maior digestibilidade dos nutrientes. Ainda, os autores observaram que não houve diferença estatística no consumo de ração e mortalidade dos frangos alimentados com a ração sem aditivo e a ração contendo o óleo essencial, possibilitando sua utilização como um potencial promotor de crescimento.

É interessante observar que embora o ganho de peso e a conversão alimentar tivessem apresentados resultados proporcionais, ou seja, melhores ganhos e melhores conversões alimentar, os consumos de ração nos diferentes tratamentos diferiram no período total, mas foram iguais nos períodos de 1 a 14 e 15 a 28 dias. No período total de 1 a 28 dias, os menores consumos foram por parte dos frangos que não receberam qualquer aditivo e daqueles que receberam a ração contendo parede celular e o óleo essencial na proporção de 300g/T, no entanto há que se considerar que em termos numéricos o resultado entre o menor e o maior consumo foi de apenas 2,3%.

A conversão alimentar é o parâmetro que melhor mensura o aproveitamento da ração, por ser uma razão entre o consumo de ração e o ganho de peso. Os resultados deste estudo mostram claramente, que à exceção da fase inicial de criação em que o tratamento controle resultou em resultado estatisticamente igual ao tratamento onde foram utilizados todos os aditivos, na fase de crescimento e no período total de 1 a 28 dias, a conversão alimentar foi pior no tratamento controle sem adição de qualquer aditivo, o que denota a necessidade de se utilizar um aditivo de comprovada eficiência para melhores resultados no aproveitamento das rações.

Os dados de mortalidade foram bastante semelhantes e as médias não diferiram entre os tratamentos adotados, o que sugere uma incidência de patógenos incapazes de causar alta taxa de mortalidade no local onde as aves foram criadas.

Tabela 2 - Efeito da suplementação de diferentes aditivos sobre o desempenho de frangos de corte nas fases inicial, crescimento e período total

Tratamentos	GPD (g)	CR (g)	CAC	Mortalidade (%)
Inicial (1- 14 dias)				
T1	353 b	433	1.21 a	0,59
T2	378 a	425	1.15 c	1,19
T3	361 b	418	1.17 bc	0,59
T4	358 b	429	1.19 ab	1,19
SEM	0,022	0,020	0,049	3,42
(P-value)	0,002	0,084	0,003	0,86
Crescimento (15 - 28 dias)				
T1	721 b	1106	1.53 a	2,61
T2	805 a	1138	1.40 b	0,00
T3	792 a	1120	1.40 b	1,66
T4	826 a	1121	1.36 b	1,66
SEM	0,064	0,039	0,097	6,16
(P-value)	0,0001	0,0690	0,0001	0,52
Período total (1 – 28 dias)				
T1	1075 b	1533 c	1.43 a	3,21
T2	1185 a	1569 a	1.32 b	1,19
T3	1155 a	1540 bc	1.32 b	2,26
T4	1184 a	1559 ab	1.31 b	2,85
SEM	0,064	0,040	0,076	7,14
(P-value)	0,0001	0,0142	0,0001	0,7760

T1 - Controle negativo (CN); T2 - Controle positivo (CP) – com coccidicida (Maxiban® da Elanco) – 72 g/ton; T3 - CN + Parede celular de levedura 500 g/ton (ImmunoWall® da ICC) + Óleo Essencial 300 g/ton (carvacrol e timol); T4 - CN + Parede celular de levedura 500 g/ton (ImmunoWall® da ICC) + Óleo Essencial 300 g/ton (carvacrol e timol) + Saccharomyces Boulardi 10ME 100g/ton (Levucell, probiótico da Lallemand).

Na (Tabela 3) são apresentados os resultados obtidos para os escores de lesão no duodeno, jejuno, ileo e ceco aos 21 e 28 dias de idade. Muito embora as diferenças entre as médias não tenham sido significativas estatisticamente, é importante ressaltar a

tendência numérica bem acentuada de maior lesão branca aos 21 dias de idade, quando as aves foram alimentadas com a ração denominada controle, sem adição de qualquer aditivo, seja o agente anticoccidiano, parede celular ou óleo essencial. No entanto, os óleos essenciais tem sido relatados como benéficos pelo potencial antimicrobiano que possuem (FARAG et al., 1989; TZAKOU et al., 2001). Pesquisas mostram que além desta ação antimicrobiana, os óleos possuem função imunomoduladora (MELLOR, 2000) e propriedades antioxidantes (BOTSOGLOU et al., 2002; FARAG et al., 1989).

Com relação ao uso da parede celular de levedura, vale ainda considerar que embora não tenha neste estudo demonstrado um efeito benéfico sobre o escore de lesão nos diferentes locais do trato digestório, a sua composição é rica em beta glucanas (30 a 50%) e mananoligossacarídeos (20 a 30%) e comumente utilizada na nutrição das aves, pois parecem ter impacto no sistema imunológico, no estímulo do desenvolvimento da mucosa e habilidade em prevenir a colonização de bactérias patogênicas, principalmente *Salmonella* spp e *E. coli* (BARBALHO, 2009). De acordo com Fairchild et al. (2001), os mananoligossacarídeos agem como sítio de aderência de alta afinidade para bactérias patogênicas com fímbrias manose-específicas ou tipo 1, impedindo sua aderência às células intestinais.

Tabela 3 – Escore de lesão do trato digestório aos 21 e 28 dias

Duodeno				
Tratamentos	21 dias		28 dias	
	Branças	Vermelhas	Branças	Vermelhas
T1	0.9167	0.5833	0.2500	0.7500
T2	0.5000	0.9167	0.1667	0.3333
T3	0.5833	0.7500	0.1667	0.6667
T4	0.6667	0.7500	0.5000	0.2500
P value*	0,6750	0,5830	0,2175	0,1752
Jejuno				
Tratamentos	21 dias		28 dias	
	Branças	Vermelhas	Branças	Vermelhas
T1	1.0000	0.5833	0.0833	1.2500
T2	0.5833	0.8333	0.0833	1.1667
T3	0.5833	0.6667	0.3333	1.0000
T4	0.7500	0.7500	0.4167	1.0000
P value	0,6022	0,7845	0,1505	0,8091
Ileo				
Tratamentos	21 dias		28 dias	
	Branças	Vermelhas	Branças	Vermelhas
T1	0.5000	0.4167	0.0000	0.3333
T2	0.3333	0.5000	0.0833	0.5000
T3	0.5000	0.6667	0.0833	0.1667
T4	0.4167	1.0000	0.0000	0.1667
P value	0,8478	0,1016	0,5634	0,6826

Ceco				
Tratamentos	21 dias		28 dias	
	Branças	Vermelhas	Branças	Vermelhas
T1	0.9167	0.2500	0.2500	0.2500
T2	0.5000	0.5833	0.0000	0.1667
T3	0.6667	0.6667	0.0833	0.1667
T4	0.2500	0.5833	0.0000	0.2500
P value	0,1532	0,3047	0,2599	0,7589

T1 - Controle negativo (CN); T2 - Controle positivo (CP) – com coccidiostático (Maxiban® da Elanco) – 72 g/ton; T3 - CN + Parede celular de levedura 500 g/ton (ImmunoWall® da ICC) + Óleo Essencial 300 g/ton (carvacrol e timol); T4 - CN + Parede celular de levedura 500 g/ton (ImmunoWall® da ICC) + Óleo Essencial 300 g/ton (carvacrol e timol) + Saccharomyces Boulardi 10ME 100g/ton (Levucell, probiótico da Lallemand). *Kruskal- Wallis Test

Com relação às medidas de unidades formadoras de colônia, (Tabela 4) não houve diferenças significativas nos dias 14 e 21 e os valores de P também foram bastante elevados (0,50 e 0,13, nos dias 14 e 21, respectivamente), da mesma forma que o erro padrão da média (0,68 e 0,65, nos dias 14 e 21, respectivamente, torna-se difícil detectar uma diferença estatística entre as médias.

Tabela 4 - Efeitos dos tratamentos para concentração de Clostridium no ceco aos 14 e 21 dias expressos em log UFC/g

Tratamentos	14 dias	21 dias
T1	7.1891	8.1726
T2	7.3602	7.9492
T3	6.9355	8.0165
T4	7.1259	8.5380
SEM	0,6837	0,6547
P value	0,5061	0,1373

T1 - Controle negativo (CN); T2 - Controle positivo (CP) – com coccidiostático (Maxiban® da Elanco) – 72 g/ton; T3 - CN + Parede celular de levedura 500 g/ton (ImmunoWall® da ICC) + Óleo Essencial 300 g/ton (carvacrol e timol); T4 - CN + Parede celular de levedura 500 g/ton (ImmunoWall® da ICC) + Óleo Essencial 300 g/ton (carvacrol e timol) + Saccharomyces Boulardi 10ME 100g/ton (Levucell, probiótico da Lallemand).

Apesar de os resultados não ter sido verificado efeito dos aditivos estudados, é importante salientar que os probióticos constituídos por xilose, frutose, galactose, manose e glicose, recebem atenção especial e se mostram particularmente promissores no campo de estudo de carga bacteriana (GIBSON; ROBERFROID, 1995), alguns demonstrando capacidade de proteção contra *Salmonella* pela disponibilidade de sítios de ligação para estas bactérias e posterior expulsão do trato digestório (CHARALAMPOPOLUS; RASTALL, 2009). Spring et al. (2000) estudaram a capacidade de diversas cepas bacterianas em aglutinar mananoligossacarídeos em preparos de leveduras (*Saccharomyces cerevisiae*), e demonstraram que cinco em sete cepas de *E. coli* e sete de dez cepas de *Salmonella enteritidis* aglutinaram MOS e células íntegras de *S. cerevisiae*.

Os resultados dos tecidos imunológicos demonstraram que não houve diferença nos pesos do baço ou da bursa entre os tratamentos, no entanto, foi detectada uma tendência de efeito do dia de amostragem para a bursa, demonstrando assim que, após o desafio a bursa aumentou de tamanho quando as aves atingiram 21 dias de idade, mas foi reduzida em relação ao peso corporal aos 28 dias de idade.

Com relação ao peso de órgãos, (Tabelas 5, 6 e 7) não houve diferenças significativas nos dias 21 e 28. Houve uma diferença de peso para Ileo aos 14 dias (Tabela 5).

Tabela 5 - Peso de órgãos aos 14 dias (gramas)

Tratamentos	Bursa	Baço	Duodeno	Jejuno	Ileo	Ceco
T1	0,904 a	0,358 a	5,416 a	13,829 a	11,008ab	2,883 a
T2	0,858 a	0,441 a	6,275 a	14,495 a	11,641a	3,125 a
T3	0,816 a	0,391 a	5,679 a	14,533 a	10,328ab	3,503 a
T4	0,707 a	0,379 a	5,895 a	12,929 a	9,700b	3,347 a
CV	28,907	30,429	13,789	12,355	15,873	38,778
P value	0,2553	0,3790	0,0762	0,0933	0,0461	0,6561

T1 - Controle negativo (CN); T2 - Controle positivo (CP) – com coccidiostático (Maxiban® da Elanco) – 72 g/ton; T3 - CN + Parede celular de levedura 500 g/ton (ImmunoWall® da ICC) + Óleo Essencial 300 g/ton (carvacrol e timol); T4 - CN + Parede celular de levedura 500 g/ton (ImmunoWall® da ICC) + Óleo Essencial 300 g/ton (carvacrol e timol) + Saccharomyces Boulardi 10ME 100g/ton (Levucell, probiótico da Lallemand).

Tabela 6 - Peso de órgãos aos 21 dias (gramas)

Tratamentos	Bursa	Baço	Duodeno	Jejuno	Ileo	Ceco
T1	1,491	0,641	8,166	21,663	18,066	4,750
T2	1,675	0,637	8,129	20,221	18,045	6,350
T3	1,629	0,687	8,477	21,262	19,562	5,416
T4	1,937	0,583	8,504	21.150	20,904	4,995
CV	39,9388	31,2608	23,9059	33,6213	33,7612	38,626
P value	0,4381	0,6516	0,9478	0,9670	0,6575	0,2664

T1 - Controle negativo (CN); T2 - Controle positivo (CP) – com coccidiostático (Maxiban® da Elanco) – 72 g/ton; T3 - CN + Parede celular de levedura 500 g/ton (ImmunoWall® da ICC) + Óleo Essencial 300 g/ton (carvacrol e timol); T4 - CN + Parede celular de levedura 500 g/ton (ImmunoWall® da ICC) + Óleo Essencial 300 g/ton (carvacrol e timol) + Saccharomyces Boulardi 10ME 100g/ton (Levucell, probiótico da Lallemand).

Tabela 7 - Peso de órgãos aos 28 dias (gramas)

Tratamentos	Bursa	Baço	Duodeno	Jejuno	Ileo	Ceco
T1	2,708	1,020	11,750	32,730	28,860	7,062
T2	2,641	1,100	11,116	30,862	27,141	7,716
T3	2,637	1,170	12,283	31,381	27,093	7,983
T4	3,125	1,100	11,800	32,500	29,234	7,233
CV	22,0442	19,6383	14,2976	10,1289	12,1278	25,4069
P value	0,1958	0,4164	0,4151	0,4690	0,3139	0,6407

T1 - Controle negativo (CN); T2 - Controle positivo (CP) – com coccidiostático (Maxiban® da Elanco) – 72 g/ton; T3 - CN + Parede celular de levedura 500 g/ton (ImmunoWall® da ICC) + Óleo Essencial 300 g/ton (carvacrol e timol); T4 - CN + Parede celular de levedura 500 g/ton (ImmunoWall® da ICC) + Óleo Essencial 300 g/ton (carvacrol e timol) + Saccharomyces Boulardi 10ME 100g/ton (Levucell, probiótico da Lallemand).

6 CONCLUSÕES

Os resultados do presente estudo revelaram que os aditivos estudados são eficazes para frangos de corte desafiados com *C. perfringens* e *Eimeria spp.* Todos os tratamentos com os aditivos melhoradores de performance impactaram positivamente o desempenho das aves e no período total de 1 a 28 dias, o ganho de peso foi de até 8,5% superior quando comparado ao tratamento controle negativo sem aditivos. A parede celular de levedura como fonte de β -glucanas e MOS é um aditivo de comprovada eficiência, e o objetivo principal de seu uso reside no fato de a mesma se complexar a microrganismos patógenos facilitando a sua eliminação no trato digestório e, como consequência, ocorre uma maior área de absorção que se reflete em melhor ganho de peso e da eficiência da ração, mesmo quando os frangos foram desafiados pelos dois microrganismos, *C. perfringens* e *Eimeria spp.*

REFERÊNCIAS

- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). Resolução nº 10, de 9 de março de 2010. Dispõe sobre notificação de drogas vegetais. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, n. 46, p. 52, 10 mar. 2010.
- AGUIAR, R. W. *et al.* Fumigant antifungal activity of *Corymbia citriodora* and *Cymbopogon nardus* essential oils and citronellal against three fungal species. **The Scientific World Journal**, Boynton, v. 2014, art. 492138, 2014.
- ALBINO, L. F. T.; TAVERNARI, F. C. **Produção e manejo de frangos de corte**. Viçosa, MG: Editora UFV, 2010.
- ALVES, E. G. *et al.* Estudo comparativo de técnicas de screening para avaliação da atividade antibacteriana de extratos brutos de espécies vegetais e de substâncias puras. **Química Nova**, São Paulo, v. 31, n. 5, p. 1224-1229, 2008.
- AMIT-ROMACH, E.; SKLAN, D.; UNI, Z. Microflora ecology of the chicken intestine using 16s ribosomal DNA primers. **Poultry Science**, Champaign, v. 83, p. 1093-1098, 2004.
- ANDREATTI FILHO, R. L. *et al.* Efeito da microbiota cecal e do *Lactobacillus salivarius* inoculados in ovo em aves desafiadas com *Salmonella enterica* sorovar *Enteritidis*. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 58, n. 5, p. 467-471, 2006.
- ANDREATTI FILHO, R. L. Alimentos funcionais na produção avícola. *In*: ANDREATTI FILHO, R. L. **Saúde aviária e doenças**. São Paulo: Rocca, 2007a. cap. 6, p. 41-51.
- ANDREATTI FILHO, R. L. Paratifo aviário. *In*: ANDREATTI FILHO, R. L. **Saúde aviária e doenças**. São Paulo: Rocca, 2007b. cap. 9, p. 112-117.
- ANDREATTI FILHO, R. L.; SAMPAIO, H. M. Probióticos e prebióticos: realidade na avicultura industrial moderna. **Revista Educação Continuada CRMVSP**, São Paulo, v. 2, p. 59-71, 1999.
- ARAÚJO, J. C. *et al.* Uso de aditivos na alimentação de aves. **Acta Veterinária Brasília**, Mossoró, v. 1, n. 3, p. 69-77, 2007.
- AZEVEDO, I. L. **Uso dos óleos essenciais de capim-limão e chá-de-pedestre na alimentação de frangos de corte**. 2015. Dissertação (Mestrado em Produção Animal) - Instituto de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Minas Gerais, Montes Claros, 2015.
- BAKKALI, F. *et al.* Biological effects of essential oils - A review. **Food and Chemical Toxicology**, Oxford, v. 46, n. 2, p. 446-475, 2008.
- BARBALHO, R. L. C. **Suplementação de levedura hidrolisada (Hilyses) nas dietas de frangos de corte**. 2009. 59 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga,

- BARBÉ, F.; SACY, A.; HOCKE, N. Improvement of zootechnical performance in broilers raised in standard farm conditions and supplemented with *S. cerevisiae boulardii*. In: MEDITERRANEAN POULTRY SUMMIT, 6., 2018, Torino. **Proceedings** [...]. Torino, 2018.
- BARROS, M. R. *et al.* Transference in vitro of the resistance to the antimicrobials between *Escherichia coli*, *Lactobacillus spp.* and *Salmonella enteritidis* isolated from chickens. **Arquivos Brasileiros Medicina Veterinária Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 63, n. 5, p. 1149-1153, 2009.
- BATISTA, R. S. A. *et al.* Atividade antifúngica de alecrim-pimenta (*Lippia sidoides* Cham.) sobre *Candida spp.* **Revista Agropecuária Técnica**, Areia, v. 34, n. 1, p. 40-49, 2013.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Política e programa nacional de plantas medicinais e fitoterápicos**. Brasília: Ministério da Saúde, 2016.
- BLIKSLARGER, A. T.; ROBERTS, C. Mechanisms of intestinal mucosal repair. **Journal of American Veterinary Medical Association**, Washington, v. 211, n. 9, p. 1437-1441, 1997.
- BONATO, M. A. *et al.* Desempenho de frangos de corte alimentados com mananoligossacarídeos, parede celular de levedura e nucleotídeos de diferentes fontes. In: CONFERÊNCIA FACTA, 2016, Campinas, 2016. **Resumos** [...]. Campinas: FACTA, 2016. 1 CD-ROM.
- BOSETTI, G. E. *et al.* Carvacrol e cinamaldeído microencapsulados substituem antibióticos promotores de crescimento: efeito no desempenho e na qualidade da carne em frangos de corte. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v. 92, n. 3, 2020.
- BOTSOGLOU, N. A. *et al.* Effect of dietary oregano essential oil on performance of chickens and on iron-induced lipid oxidation of breast, thigh and abdominal fat tissues. **British Poultry Science**, Abingdon, v. 43, n. 2, p. 223-230, 2002.
- BRENES, A.; ROURA, E. Essential oils in poultry nutrition: main effects and modes of action. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 158, n. 1, p. 1-14, 2010.
- BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods - a review. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 94, p. 223-253, 2004.
- BUTOLO, J. E. Uso de levedura desidratada na alimentação de aves. In: SIMPOSIO SOBRE TECNOLOGIA DA PRODUÇÃO E UTILIZAÇÃO DE LEVEDURA DESIDRATADA NA ALIMENTAÇÃO ANIMAL, 1997, Campinas. **Anais** [...]. Campinas: CBNA, 1997. p. 51-58.
- CARVALHO-FILHO, J. L. S. *et al.* Influence of the harvesting time, temperature and drying period on basil (*Ocimum basilicum* L.) essential oil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 16, p. 24-30, 2006.

- CASTANON, J. I. R. History of the use of antibiotic as growth promoters in European Poultry Feeds. **Poultry Science**, Champaign, v. 86, p. 2466-2471, 2007.
- CASTRO, A. G. M. de. Patologias gastrointestinais: importância do controle. *In*: FORUM INTERNACIONAL DE AVICULTURA, 1., 2005, Foz do Iguaçu. **Anais [...]**. Foz do Iguaçu: Editora Animal World, 2005. v. 1.
- CATALAN, A. A. S. *et al.* Aditivos fitogênicos na nutrição: *Panax gingesng*. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, Lisboa, v. 107, n. 581-582, p. 15-21, 2012.
- CHAGAS, A. C. S. Controle de parasitas utilizando extratos vegetais. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, São Paulo, v. 13, supl. 1, p. 156-160, 2004.
- CHARALAMPOPOULOS, D.; RASTALL, R. A. **Prebiotics and probiotics science and technology**. New York: Springer Verlag, 2009. 516 p.
- CHEN, Y. J. *et al.* The effects of dietary Biotite V supplementation as an alternative substance to antibiotics in growing pigs. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, Seoul, v. 18, p. 1642-1645, 2005.
- CHOI, K. H.; NAMKUNG, H.; PAIK, I. K. Effects of dietary fructooligosaccharides on the suppression of intestinal colonization of *Salmonella typhimurium* in broiler chickens. **Korean Journal of Animal Science**, Korea, v. 36, p. 271-84, 1994.
- 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.
- CRESSMAN, M. D. *et al.* Interrelations between the Microbiotas in the Litter and in the Intestines of Commercial Broiler Chickens. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 76, n. 19, p. 6572-6582, 2010.
- CROMWELL, G. L. Safety issues, performance benefits of antibiotics for swine examined. **Feedstuffs**, Minneapolis, 7 June, 1999. p. 18.
- CUNNIGHAM, J. G. **Tratado de fisiologia veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1992. 450 p.
- DAVIDSON, P. M.; NAIDU, A. S. Phyto-phenol. *In*: NAIDU, A. S. (ed.). **Natural food antimicrobial systems**. Boca Raton, FL: CRC Press, 2000. p. 265-294.
- DEEMING, D. C. Yolk sac, body dimensions and hatchling quality of ducklings, chicks and poults. **British Poultry Science**, Abingdon, v. 46, n. 5, p. 560-564, 2005.
- DIMOVELIS, P. *et al.* Effect of Bio-Mos on growth, egg production and egg quality of Lohmann brown layers. *In*: ALLTECH'S ANNUAL NUTRITIONAL BIOTECHNOLOGY IN THE FEED AND FOOD INDUSTRIES, 19., 2003, Lexiton. **Proceedings [...]**. Lexiton, 2003.

DONALSON, L. M. *et al.* In vitro anaerobic incubation of Salmonella enterica serotype Typhimurium and laying hen cecal bacteria in poultry feed substrates and a fructooligosaccharide prebiotic. **Anaerobe**, Iowa, v. 13, n. 5-6, p. 208-214, 2007.

DUMONCEAX, T. J. *et al.* Characterization of intestinal microbiota and response to dietary virginiamycin supplementation in the broiler chicken. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 72, n. 4, p. 2815-23, 2016.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA. Embrapa suínos e aves. **Embrapa suínos e aves**, 2021. Disponível em: <https://www.embrapa.br/suinos-e-aves>. Acesso em: 10 jun. 2022.

FAIRCHILD, A. S. *et al.* Effects of hen age, Bio-Mos, and flomoxacin on poult susceptibility to oral *Escherichia coli* challenge. **Poultry Science**, Champaign, v. 80, n. 5, p. 562-571, 2001.

FARAG, R. S. *et al.* Antimicrobial activity of some Egyptian spice essential oils. **Journal of Food Protection**, Ames, v. 52, n. 9, p. 665-667, 1989.

FERREIRA, A. P.; ASTOLFI-FERREIRA, C. S. Medidas inespecíficas para o controle bacteriano. *In*: SIMPÓSIO BRASIL SUL DE AVICULTURA, 2006, Chapecó. **Anais [...]**. Chapecó, 2006. p. 56-66.

FERREIRA, C. L. L. F. Tecnologia para produtos lácteos funcionais: probióticos. *In*: PORTUGAL, J. A. B. *et al.* **O agronegócio do leite e os alimentos funcionais**. Juiz de Fora: EPAMIG, 2001. p. 181-203.

FERREIRA, A. J. P. *et al.* Uso da associação de levedura e fonte de nucleotídeos na redução da colonização entérica por Salmonella Hiedelberg em frangos. *In*: CONFERÊNCIA FACTA, 2014, Atibaia. **Resumos [...]**. Campinas: FACTA, 2014. 1 CD-ROM

FONSECA, B. B. *et al.* Microbiota of the cecum, ileum morphometry, pH of the crop and performance of broiler chickens supplemented with probiotics. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 39, n. 8, p. 1756-1760, 2010.

FOX, S. M. Probiotics: intestinal inoculants for production animals. **Veterinary Medicine**, Edwardsville, v. 83, n. 8, p. 806-829, 1988.

FRITTS, C. A. *et al.* Bacillus subtilis C-3102 (Calsporin) improves live performance and microbiological status of broiler chickens. **Journal of Applied Poultry Research**, Athens, v. 9, n. 2, p. 149-155, 2000.

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

GAIOTTO, J. R. **Utilização de levedura de cana de açúcar e seus subprodutos na alimentação de juvenis de pintado**. 2005. 87 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2005.

- GAMBOA, B. S. P. **Digestibilidade de macronutrientes e disponibilidade de minerais, pela tilapia do Nilo, das leveduras íntegras e autolisada**. 2008. 58 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, 2008.
- GARCIA, N. L. *et al.* Effect of mannanoligosaccharides supplementation to laying hen diets. **Poultry Science**, Champaign, n. 83, supl. 1, p. 397, 2004.
- GARCIA, G. D. *et al.* Isolation, identification and antimicrobial susceptibility of *Bacteroides fragilis* group strains recovered from broiler faeces. **British Poultry Science**, Abingdon, v. 53, n. 1, p. 71-76, 2012.
- GIBSON, G. R.; ROBERFROID, M. B. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. **The Journal of Nutrition**, Rockville, v. 125, n. 6, p. 1401-12, 1995.
- GHADBAN, G. S. Probiotics in broiler production: a review. **Archiv für Geflügelkunde**, [s.l.], v. 66, n. 2, p. 49-58, 2002.
- GODOI, M. J. S. *et al.* Utilização de aditivos em rações formuladas com milho normal e de baixa qualidade para frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 37, n. 6, p. 1005-1011, 2008.
- GOMES, A. M. P.; MALCATA, F. *Bifidobacterium spp.* and *Lactobacillus acidophilus* biological, biochemical, technological and therapeutical properties relevant for use as probiotics. **Trends in Food Science & Technology**, Oxford, v. 10, p. 139-157, 1999.
- GRIGOLLETI, C. *et al.* *Saccharomyces Cerevisiae* na alimentação de frangos de corte. **Archives of Veterinary Science**, Curitiba, v. 7, n. 2, p. 151-157, 2002.
- GUIDOTTI-TAKEUCHI, M.; CAFE, M. B. **Aditivos fitogênicos na alimentação de aves de produção**. Uberlândia: Navegando, 2016. 48 p.
- GUTIERREZ, J.; BARRY-RYAN, C.; BOURKE, P. The antimicrobial efficacy of plant essential oil combinations and interactions with food ingredients. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 124, n. 1, p. 91-97, 2008.
- HAMPSON, D. J. *et al.* Gram-negative anaerobes. *In*: GYLES, C. L. *et al.* (ed.). **Pathogenesis of bacterial infections in animals**. Ames, Iowa: Wiley, 2010.
- HOFACRE, C. *et al.* Use of a yeast cell wall product in commercial layer feed to reduce S.E. colonization. *In*: WESTERN POULTRY DISEASE CONFERENCE, 66., 2017, Sacramento, CA. **Proceedings** [...]. Sacramento, CA, USA, 2017. p. 76-78.
- HOFFMAN, C.; EVANS, A. C. The uses of spices as preservatives. **Journal of Indian Engineering and Chemistry**, [s.l.], v. 3, p. 835-838, 1911.
- IBRAHIM, D. *et al.* Thymol nanoemulsion promoted broiler chickens growth, gastrointestinal barrier and bacterial community and conferred protection against *Salmonella Typhimurium*. **Scientific Reports**, London, v. 11, n. 1, art. 7742, 2021.

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

ITO, N. M. K.; MIYAJI, C. L.; OKABAYASHI, S. M. Saúde intestinal em frangos de corte. **Circular Técnica Aviagen Brasil**, [s.l.], nov. 2007. Disponível em: http://en.aviagen.com/assets/Tech_Center/BB_Foreign_Language_Docs/Portuguese/novembro2007-saudeintestinalemfrangosdecorte.pdf. Acesso em: 10 jun. 2022.

JIN, L. Z. *et al.* Probiotics in poultry: modes of action. **World's Poultry Science Journal**, Cambridge, v. 53, n. 4, p. 351-368, 1997.

JUNG, S. J. *et al.* Effects of galacto oligosaccharides and a bifidobacteria lactis-based probiotic strain on the growth performance and fecal microflora of broiler chickens. **Poultry Science**. Champaign, v. 87, n. 9, p. 1694-1699, 2008.

KANDLE, O.; WEISS, N. Regular, non-sporing gram-positive rods. *In*: SNEATH, H. A.; MAIR, N. S.; SHARPE, M. E.; HOLT, J. G. (ed.). **Manual de bacteriologia sistemática de Bergey**. Baltimore: Williams e Wilkins, 1986. p. 1208-1234.

KOGAN, G.; KOCHER, A. Role of yeast cell wall polysaccharides in pig nutrition and health protection. **Livestock Science**, Amsterdam, v. 109, p. 161-165, 2007.

KOYAMA, N. T. G.; ROSA, A. P.; PADILHA, M. T. S. Desempenho e rendimento de carcaça de frango de corte alimentado com mistura de aditivos fitogênicos na dieta. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 49, n. 3, p. 225-231, 2014.

KOYAMA, N. T. G. *et al.* Effect of yeast cell wall supplementation in laying hen feed on economic viability, egg production, and egg quality. **Journal of Applied Poultry Research**, Amsterdam, v. 27, n. 1, p. 116-123, 2018.

KRUGER, M. C. *et al.* The effect of fructooligosaccharides with various degrees of polymerization on calcium bioavailability in the growing rat. **Experimental Biology and Medicine**, Maywood, v. 228, p. 683-688, 2003.

KUÇUKYILMAZ, K. *et al.* Effect of lavender (*Lavandula Stoechas*) essential oil on growth performance, carcass characteristics, meat quality and antioxidant status of broilers. **South African Journal of Animal Science**, Pretoria, v. 47, n. 2, 2017.

LAN, Y. *et al.* The role of the commensal gut microbial community in broiler chickens. **World's Poultry Science Journal**, Cambridge, v. 61, n. 1, p. 95-104, 2005.

LEAHY, S. C. *et al.* Getting better with bifidobacteria. **Journal of Applied Microbiology**, Cambridge, v. 98, p. 1303-1315, 2005.

LEE, E. J.; AHN, D. U. Production of volatiles from fatty acids and oils by irradiation. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 68, n. 1, p. 70-75, 2003.

LEITÃO, S. G.; LEITÃO, G. G. Analysis of the chemical composition of the essential oils extracted from *Lippia lacunosa* Mart. & Schauer and *Lippia rotundifolia* Cham (Verbenaceae) by gas chromatography and gas chromatography-mass spectrometry. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, São Paulo, v. 19, n. 7, p. 1388-1393, 2008.

LEMOS, M. J. *et al.* Níveis de prebiótico na dieta sobre o desempenho e a qualidade de ovos de codornas japonesas. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v. 15, n. 3, p. 614-626, 2014.

LIMA, A. C. F. *et al.* Efeito do uso de probiótico sobre o desempenho e atividade de enzimas digestivas de frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 32, n. 1, p. 200-207, 2003.

LODDI, M. M. Probióticos e prebióticos na nutrição de aves. **Revista CFMV**, Brasília, Brasília, n. 23, p. 51-56, 2001.

LODDI, M. M. *et al.* Uso de probiótico e antibiótico sobre o desempenho, o rendimento e a qualidade de carcaça de frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 29, n. 4, p. 1124-1131, 2000.

MACARI, M.; FURLAN, R. L. Probióticos. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, Campinas, supl. 7, p. 53-71, 2005. Trabalho apresentado na Conferência APINCO de Ciência e Tecnologia Avícolas, 2005, Santos.

MACARI, M.; MAIORKA, A. Função gastrintestinal e seu impacto no rendimento avícola. *In*: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2., 2000, Campinas. **Anais** [...]. Campinas: FACTA, 2000. p. 161-174.

MAIORKA, A. Impacto da saúde intestinal na produtividade avícola. *In*: SIMPÓSIO BRASIL SUL DE AVICULTURA, 56., 2004, Chapecó. **Anais** [...]. Chapecó, 2004. p. 26-41.

MAIORKA, A.; DAHLKE, F.; MORGULIS, M. S. F. A. Broiler adaptation to post-hatching period. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 2, p. 701-708, 2006.

MARCATO, S. M. **Características do crescimento corporal, dos órgãos e tecidos de duas linhagens comerciais de frangos de corte**. 2007. 207 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Jaboticabal, 2007.

MARTINS, C. V. B.; HORII, J.; PIZZIRANI-KLEINER, A. A. Caracterização de produtos de fusão de protoplastos de leveduras e seus segregantes através de cariótipo eletroforético e RAPD. **Revista Brasileira de Genética**, Ribeirão Preto, v. 20, n. 3, supl., p. 287, 1997.

MATTAR, A. F. *et al.* Probiotics up-regulate MUC-2 mucin gene expression in a caco-2 cell-culture model. **Pediatric Surgery International**, Ann Arbor, v. 18, n. 7, p. 586-590, 2002.

MEILE, L.; BLAY, G. L.; THIERRY, A. Safety assessment of dairy microorganism: Propionibacterium and Bifidobacterium. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 126, p. 316-320, 2008.

MELLOR, S. Herbs and spices promote health and growth. **Pig Progress**, Doetinchem, v. 16, n. 4, p. 18-21, 2000.

- MONSAN, P. F.; PAUL, F. Oligosaccharide feed additives. *In*: WALLACE, R. J.; CHESSON, A. **Biotechnology in animal feeds and feeding**. Weinheim: Verlag, 1995. p. 233-45.
- NOSTRO, A. *et al.* Susceptibility of methicilin-resistant Staphylococci to orégano essential oil, carvacrol, and thymol. **FEMS Microbiology Letters**, Oxford, v. 230, n. 2, p.191-195, 2004.
- 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, Pirassununga, 2008.
- OLIVEIRA, F. P. *et al.* Effectiveness of *Lippia sidoides* Cham. (Verbenaceae) essential oil in inhibiting the growth of *Staphylococcus aureus* strains isolated from clinical mat. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 16, p. 510-516, 2005.
- OLIVEIRA, M. C. *et al.* Performance and morphology of intestinal mucosa of broilers fed mannan-oligosaccharides and enzymes. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 60, n. 2, p. 442-448, 2008.
- O'TOOLE, P. W.; COONEY, J. C. Probiotic bacteria influence the composition and function of the intestinal microbiota. **Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases**, [s.l.], v. 2008, art. 175285, 2008.
- PEDROSO, A. A. Microbiota do trato digestório: transição do embrião ao abate. *In*: CONFERÊNCIA APINCO FACTA, 2011, Santos. **Anais [...]**. Santos, 2011. p. 123-130.
- PELICIA, K. **Efeito de promotores biológicos e químicos sobre o desempenho, rendimento de carcaça e qualidade da carne em frangos de corte tipo colonial**. 2004. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2004.
- PLACHA, I. *et al.* Effect of thyme essential oil and selenium on intestine integrity and antioxidant status of broilers. **British Poultry Science**, Abingdon, v. 55, n. 1, p. 105-114, 2019.
- QUINTEIRO FILHO, W. M. Probióticos: mecanismo de ação, eficiência e custo-benefício. *In*: CURSO FACTA SAÚDE E INTEGRIDADE INTESTINAL, 2014, Campinas. **Anais [...]**. 2014. p. 1-21.
- REITER, K. *et al.* Effect of *Enterococcus faecium* and *Bacillus cereus* var. *toyoi* on the morphology of the intestinal mucous membrane in piglets. **Biologia Bratislava**, [s.l.], n. 61, p. 1-7, 2006.
- RIBEIRO, C. L. G. *et al.* Efeito da utilização de mananoligossacarídeos (MOS) e de ácidos orgânicos associados à MOS, com e sem antibióticos, na dieta de poedeiras produtoras de ovos avermelhados. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 11, n. 2, p. 292-300, 2010.

- RIVERA *et al.* Yeast cell wall and hydrolyzed yeast as a source of nucleotides effects on immunity, gut integrity, and performance of broilers. *In: INTERNATIONAL POULTRY SCIENTIFIC FORUM*, 2018, Atlanta-GA, USA. **Proceedings** [...]. 2018. p. 49.
- ROCHA, F. A. *et al.* Uso Terapêutico da flora na história mundial. **Holos**, Natal, v. 1, p. 49-61, 2015.
- ROYER, A. F. B. *et al.* Fitoterapia aplicada à avicultura industrial. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v. 9, n. 17, p. 1466-1484, 2013.
- ROSEN, G. D. Feed additive nomenclature. **World's Poultry Science Journal**, Cambridge, v. 52, p. 53-57, 1996.
- RUTZ, F. *et al.* Desempenho e características de carcaças de frangos de corte recebendo extrato de leveduras na dieta. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 7, n. 4, p. 349-355, 2006.
- SALYERS, A. A. Agricultural use of antibiotics and antibioticresistance in human pathogens: is there a link? *In: ALLTECH ANNUAL SYMPOSIUM*, 15., 1999, Nottingham. **Proceedings** [...]. Nottingham: Alltech, 1999. p. 155-171.
- SANTOS, R. I. Metabolismo básico e origem dos metabolismos secundários. *In: SIMÕES, C. M. O. et al. Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 3. ed. Porto Alegre: Editora UFRGS, 2007. p. 209-216.
- SANTOS, I. I. *et al.* Microbiota ileal de frangos de corte submetidos a diferentes dietas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 41, n. 3, p. 643-647, 2012.
- SANTOS, J. R. G.; TURNES, C. G. Probióticos em avicultura. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n. 3, p. 741-747, 2005.
- SARTORI, J. R. *et al.* Enzima e simbiótico para frangos criados nos sistemas convencional e alternativo. **Ciência Rural**, Santa Maria, 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. 46 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2002.
- SIANI, A. C. Óleos essenciais. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, [s.l.], v. 2, p. 38-43, 2000.
- SILVA, E. M.; ANDREATTI FILHO, R. L. Probióticos e prebióticos na avicultura. *In: SIMPÓSIO DE SANIDADE AVÍCOLA*, 2000, Santa Maria. **Anais** [...]. Santa Maria, 2000.
- SINDICATO NACIONAL DA INDÚSTRIA DE ALIMENTAÇÃO ANIMAL – SINDIRAÇÕES. **Compêndio brasileiro de alimentação animal**. São Paulo: Sindirações, 1998. 371 p.

SOUZA, A. V. V. Estudos dos constituintes químicos e atividade antibacteriana do óleo essencial de *Lippia gracilis* a *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* "in vitro". **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 40, n. 3, 2014.

SOUZA, D. S. *et al.* Atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Lippia organoides* e *Lippia roduntifolia* frente à enterobactérias isoladas de aves. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 67, n. 3, p. 940-944, 2015.

SPRING, P.; PIRVULESCU, M. Mannan oligosaccharide: Its logical role as natural feed additive for piglets. *In: BIOTECHNOLOGY IN THE FEED INDUSTRY ANNUAL SYMPOSIUM*, 13., Notttingham. **Proceedings** [...]. Notttingham: Notttingham University Press, 1998. p. 553.

SPRING, P. *et al.* The effects of dietary mannan oligosaccharides on cecal parameters and the concentrations of enteric bacteria in the ceca of Salmonella-challenged broiler chicks. **Poultry Science**, Champaign, v. 79, p. 205-211, 2000.

STANLEY, V. G.; GRAY, C.; CHUKWU, H. Effects of mannan oligosaccharide (Bio-MOS) on liver and egg cholesterol and tissue protein concentration in chickens. **Poultry Science**, Champaign, v. 75, p. 61, 1996.

SUZUKI, T.; HARA, H. Various non-digestible saccharides increase intracellular calcium ion concentration in rat small-intestinal enterocytes. **British Journal Nutrition**, Cambridge, v. 92, p. 751-755, 2004.

TANNOCK, G. W. Studies of the intestinal microflora: a prerequisite for the development of probiotics. **International Dairy Journal**, Barking, v. 8, n. 5-6, p. 527-533, 1998.

TAVARES, E. S. *et al.* Análise do óleo essencial de folhas de três quimiotipos de *Lippia alba* (Mill.) N.E.Br. (Verbenaceae) cultivados em condições semelhantes. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 15, p. 1-5, 2005.

TAVECHIO, W. L. G.; GUIDELLI, G.; PORTZ, L. Alternativas para a prevenção e o controle de patógenos em piscicultura. **Boletim Instituto de Pesca**, São Paulo, v. 35, n. 2, p. 335-341, 2009.

TIBBETTS, G. W. Nucleotides from yeast extract: potential to replace animal protein sources in food animal diets. *In: ANNUAL SYMPOSIUM*, 18., 2002, Nottingham. **Proceedings** [...]. Nottingham: Nottingham University Press, 2002. p. 225-232.

TOLEDO, R. S.; ROCHA, A. G.; FARIAS, L. C. Uso de aditivos na produção avícola da teoria a prática. *In: SIMPÓSIO BRASIL SUL DE AVICULTURA*, 10., 2009, Chapecó. **Anais** [...]. Chapecó, 2009. p. 15-31.

TORTUERO, F. Influence of the implantation of *Lactobacillus acidophilus* in chicks on the growth, feed conversion, malabsorption of fats syndrome and intestinal flora. **Poultry Science**, Champaign, v. 52, p. 197-203, 1973.

TZAKOU, O. *et al.* Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Salvia ringens*. **Planta Medica**, Stuttgart, v. 67, n. 1, p. 81-83, 2001.

- UNFPA. Fundo de Populações das Nações Unidas. <https://brazil.unfpa.org/2021>.
- UNI, Z.; FERKET, R. P. Methods for early nutrition and their potential. **World's Poultry Science Journal**, Cambridge, v. 60, n. 1, p. 101-111, 2004.
- UNI, Z.; GANOT, S.; SJLAN, D. Posthach development of mucosal function in the broiler small intestine. **Poultry Science**, Champaign, v. 77, p. 75-82, 1998.
- VILELA, E. S.; SGARBIERI, V. C.; ALVIM, I. D. Determinação do valor proteico de células íntegras, autolisado total e extrato de levedura. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 13, n. 3, p. 185-192, 2000.
- WISEK, W. J. A mode of growth promotion by antibiotics. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 46, p. 1447-1469, 1978.
- WALKER, G. M. **Yeast physiology and biotechnology**. London: Wiley Editorial Offices, 1998. 350 p.
- WESTPHAL, P. *et al.* Utilização de produto probiótico à base de *Lactobacillus* adicionado na água para o controle de *Salmonella* Minnesota em frangos de corte. *In*: CONGRESSO LATINO-AMERICANO DE AVICULTURA, 22., 2011, Buenos Aires. **Proceedings** [...]. Buenos Aires, 2011.
- YAN, F.; POLK, D. B. Commensal bacteria in the gut: learning who our friends are. **Current Opinion Gastroenterology**, London, v. 20, p. 565-571, 2004.
- YANG, Y. *et al.* 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**, Berlin, v. 16, p. 280-288, 2007.
- YIN, Y. *et al.* Exposure of different bacterial inocula to newborn chicken affects gut microbiota development and ileum gene expression. **The ISME Journal**, London, v. 4, p. 367-376, 2010.
- ZAFAR, T. A. *et al.* Non digestible oligosaccharides increase calcium absorption and suppress bone resorption in ovariectomized rats. **Journal of Nutrition**, Rockville, v. 134, p. 399-402, 2004.
- ZANINI, S. F. *et al.* Identificação bioquímica e molecular de *Lactobacillus* spp. isolados do íleo de frangos de corte tratados ou não com antimicrobianos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 42, n. 9, p. 1648- 1654, 2012.
- ZOCCO, M. A. *et al.* *Bacteroides thetaiotaomicron* in the gut: molecular aspects of their interaction. **Digestive and Liver Disease**, Roma, v. 39, n. 8, p. 707-712, 2007.