

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CAMPUS DE MARECHAL CÂNDIDO RONDON
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

EDINAN HAGDON CIRILO

**PROBIÓTICO COMO ALTERNATIVA A ANTIBIÓTICO PARA FRANGOS DE
CORTE DESAFIADOS COM *SALMONELLA* HEIDELBERG**

MARECHAL CÂNDIDO RONDON

2022

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CAMPUS DE MARECHAL CÂNDIDO RONDON
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

EDINAN HAGDON CIRILO

**PROBIÓTICO COMO ALTERNATIVA A ANTIBIÓTICO PARA FRANGOS DE
CORTE DESAFIADOS COM *SALMONELLA HEIDELBERG***

Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Oeste do Paraná como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de concentração em Nutrição e Produção Animal, para a obtenção do título de “Mestre”.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Vianna Nunes

MARECHAL CÂNDIDO RONDON

2022

Ficha de identificação da obra elaborada através do Formulário de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da Unioeste.

Cirilo, Edinan Hagdon
Probiótico como alternativa a antibiótico para frangos de corte desafiados com Salmonella Heidelberg / Edinan Hagdon Cirilo; orientador Ricardo Vianna Nunes. -- Marechal Cândido Rondon, 2022.
59 p.

Dissertação (Mestrado Acadêmico Campus de Marechal Cândido Rondon) -- Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, 2022.

1. Nutrição animal. 2. Avicultura. 3. Cepas probióticas. 4. Promotor de crescimento . I. Nunes, Ricardo Vianna, orient. II. Título.

EDINAN HAGDON CIRILO

Probiótico como alternativa a antibiótico para frangos de corte desafiados com *Salmonella* Heidelberg

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia em cumprimento parcial aos requisitos para obtenção do título de “Mestre em Zootecnia” Área de Concentração “Produção e Nutrição Animal”, Linha de Pesquisa “Produção e Nutrição de Não-Ruminantes/Aquicultura”, APROVADO pela seguinte Banca Examinadora:

Orientador / Presidente – Prof. Dr. Ricardo Vianna Nunes

Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Unioeste) - *Campus* de Mal. Cândido Rondon

Membro – Prof.^a Dr.^a Cinthia Eyng

Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Unioeste) - *Campus* de Mal. Cândido Rondon

Membro – Prof. Dr. José Geraldo de Vargas Junior

Universidade Federal do Espírito Santo (UFES) – *Campus* de Alegre

Membro – Prof. Dr. Bruno Serpa Vieira

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Mato Grosso (IFMT) – *Campus* Alta Floresta

Marechal Cândido Rondon, 22 de junho de 2022.



unioeste

Universidade Estadual do Oeste do Paraná

Campus de Marechal Cândido Rondon - CNPJ 78680337/0003-46

Rua Pernambuco, 1777 - Centro - Cx. P. 91 - <http://www.unioeste.br>

Fone: (45) 3284-7878 - Fax: (45) 3284-7879 - CEP 85960-000

Marechal Cândido Rondon - PR.



PARANÁ

GOVERNO DO ESTADO

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

DECLARAÇÃO E PARECER DE PARTICIPAÇÃO EM BANCA EXAMINADORA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO REALIZADA À DISTÂNCIA, DE FORMA SÍNCRONA, POR VIDEOCONFERÊNCIA

Eu, **Prof. Dr. Ricardo Vianna Nunes**, declaro como **ORIENTADOR** que presidi os trabalhos de defesa à **distância, de forma síncrona e por videoconferência**, da Banca Examinadora de Defesa de Dissertação do candidato **Edinan Hagdon Cirilo**, aluno de Mestrado deste Programa de Pós-Graduação.

Considerando o trabalho entregue, a apresentação e a arguição dos membros da Banca Examinadora, **formalizo como Orientador**, para fins de registro, por meio desta declaração, a decisão da Banca Examinadora de que o candidato foi considerado **APROVADO** na banca realizada em 22/06/2022, com o trabalho intitulado **“Probiótico como alternativa a antibiótico para frangos de corte desafiados com *Salmonella* Heidelberg”**.

Descreva abaixo observações e/ou restrições (se julgar necessárias):

Prof. Dr. Ricardo Vianna Nunes – ORIENTADOR/PRESIDENTE

Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Unioeste) / *Campus* de Mal. Cândido Rondon

Programa de Pós-Graduação em Zootecnia

Modelo 2 – Para orientador(a) da Banca Examinadora de Programa de Pós-graduação da UNIOESTE



Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Campus de Marechal Cândido Rondon - CNPJ 78680337/0003-46
Rua Pernambuco, 1777 - Centro - Cx. P. 91 - <http://www.unioeste.br>
Fone: (45) 3284-7878 - Fax: (45) 3284-7879 - CEP 85960-000
Marechal Cândido Rondon - PR.



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

DECLARAÇÃO E PARECER DE PARTICIPAÇÃO EM BANCA EXAMINADORA DE DEFESA DE MESTRADO REALIZADA À DISTÂNCIA, DE FORMA SÍNCRONA, POR VIDEOCONFERÊNCIA

Eu, **Prof.^a Dr.^a Cinthia Eyng**, declaro que **participei à distância, de forma síncrona e por videoconferência**, da Banca Examinadora de Defesa de Dissertação do candidato **Edinan Hagdon Cirilo**, aluno de Mestrado deste Programa de Pós-Graduação.

Considerando o trabalho entregue, apresentado e a arguição realizada, **formulizo como Membro Interno**, para fins de registro, por meio desta declaração, minha decisão de que o candidato pode ser considerado APROVADO na banca realizada em 22/06/2022, com o trabalho intitulado "**Uso de probiótico em rações e na cama de frangos de corte desafiados com *Salmonella Heidelberg***".

Descreva abaixo observações e/ou restrições (se julgar necessárias):

O título da dissertação foi modificado para: "Probiótico como alternativa a antibiótico para frangos de corte desafiados com *Salmonella Heidelberg*".

Prof.^a Dr.^a Cinthia Eyng
Unioeste / Campus de Mal. Cândido Rondon
Centro de Ciências Agrárias



Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Campus de Marechal Cândido Rondon - CNPJ 78680337/0003-46
Rua Pernambuco, 1777 - Centro - Cx. P. 91 - <http://www.unioeste.br>
Fone: (45) 3284-7878 - Fax: (45) 3284-7879 - CEP 85960-000
Marechal Cândido Rondon - PR.



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

DECLARAÇÃO E PARECER DE PARTICIPAÇÃO EM BANCA EXAMINADORA DE DEFESA DE MESTRADO REALIZADA À DISTÂNCIA, DE FORMA SÍNCRONA, POR VIDEOCONFERÊNCIA

Eu, **Prof. Dr. José Geraldo de Vargas Junior**, declaro que **participei à distância, de forma síncrona e por videoconferência**, da Banca Examinadora de Defesa de Dissertação do candidato **Edinan Hagdon Cirilo**, aluno de Mestrado deste Programa de Pós-Graduação.

Considerando o trabalho entregue, apresentado e a arguição realizada, **formalizo como Membro Externo**, para fins de registro, por meio desta declaração, minha decisão de que o candidato pode ser considerado **APROVADO** na banca realizada em 22/06/2022, com o trabalho intitulado "**Uso de probiótico em rações e na cama de frangos de corte desafiados com *Salmonella Heidelberg***".

Descreva abaixo observações e/ou restrições (se julgar necessárias):

Conforme deliberação da banca foi sugerido a alteração do título para: **Probiótico como alternativa a antibiótico para frangos de corte desafiados com *Salmonella Heidelberg***

Prof. Dr. José Geraldo de Vargas Junior
Universidade Federal do Espírito Santo (UFES) – *Campus* de Alegre

Modelo 1 – Para membros de Banca Examinadora de Programa de Pós-graduação da UNIOESTE



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO

PROTOCOLO DE ASSINATURA



O documento acima foi assinado digitalmente com senha eletrônica através do Protocolo Web, conforme Portaria UFES nº 1.269 de 30/08/2018, por JOSE GERALDO DE VARGAS JUNIOR - SIAPE 1457341 - Departamento de Zootecnia - DZ/CCAE Em 22/06/2022 às 16:29

Para verificar as assinaturas e visualizar o documento original acesse o link:
<https://api.lepisma.ufes.br/arquivos-assinados/499711?tipoArquivo=O>



unioeste

Universidade Estadual do Oeste do Paraná

Campus de Marechal Cândido Rondon - CNPJ 78680337/0003-46

Rua Pernambuco, 1777 - Centro - Cx. P. 91 - <http://www.unioeste.br>

Fone: (45) 3284-7878 - Fax: (45) 3284-7879 - CEP 85960-000

Marechal Cândido Rondon - PR.



PARANÁ

GOVERNO DO ESTADO

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

DECLARAÇÃO E PARECER DE PARTICIPAÇÃO EM BANCA EXAMINADORA DE DEFESA DE MESTRADO REALIZADA À DISTÂNCIA, DE FORMA SÍNCRONA, POR VIDEOCONFERÊNCIA

Eu, **Prof. Dr. Bruno Serpa Vieira**, declaro que **participei à distância, de forma síncrona e por videoconferência**, da Banca Examinadora de Defesa de Dissertação do candidato **Edinan Hagdon Cirilo**, aluno de Mestrado deste Programa de Pós-Graduação.

Considerando o trabalho entregue, apresentado e a arguição realizada, **formalizo como Membro Externo**, para fins de registro, por meio desta declaração, minha decisão de que o candidato pode ser considerado **APROVADO** na banca realizada em 22/06/2022, com o trabalho intitulado "**Uso de probiótico em rações e na cama de frangos de corte desafiados com *Salmonella Heidelberg***".

Descreva abaixo observações e/ou restrições (se julgar necessárias):

Foi sugerida alteração de título para: **Probiótico como alternativa a antibiótico para frangos de corte desafiados com *Salmonella Heidelberg***



Prof. Dr. Bruno Serpa Vieira

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Mato Grosso (IFMT) – *Campus Alta Floresta*

DEDICATÓRIA

Aos meus pais Roseli Hagdon Cirilo e Silvio Fernando Cirilo

Minha irmã Fernanda Cirilo

Meu tio Gary Hughes

A toda minha família

A todos os amigos que fiz,

nestes anos acadêmicos...

*Com todo amor e gratidão dedico este trabalho
e todas as conquistas que virão...*

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais Silvio e Roseli, minha irmã Fernanda e aos meus tios Gary e Sandra por todo apoio, compreensão, amor, dedicação e ensinamentos, obrigado por tudo!

Ao meu orientador e professor Dr. Ricardo Vianna Nunes, por todo apoio, conhecimento passado, paciência, conselhos, dedicação e amizade ao longo dessa etapa.

À Universidade Estadual do Oeste do Paraná, em especial ao programa de pós-graduação em Zootecnia pelo espaço e disponibilidade para realização dos projetos.

À Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio durante o mestrado.

À professora Dr.^a Cinthia Eyng pela parceria, conselhos e ensinamentos.

Ao Paulo Henrique Morsch, secretário do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Unioeste, por toda ajuda, dedicação, paciência e disponibilidade, a qual sempre nos auxilia nas horas de maior dificuldade.

Aos amigos, Nilton Rohloff Junior, Lucas Wachholz, Guilherme Tesser, Cleison de Souza, Clauber Polese, Tânia Kohler e Cristine Kaufmann pela ajuda nos momentos difíceis, pelo apoio, compreensão, momentos de diversão, enfim, pela oportunidade de compartilhar com vocês momentos muito importantes durante o mestrado.

Aos funcionários da Fazenda Experimental da Linha Guará, em especial ao zootecnista Emerson Schmidt, que está sempre disposto a nos ajudar no que for preciso.

A todos os colegas e amigos do grupo GEMADA que me auxiliaram nas escalas de trabalho, análises laboratoriais. A toda e qualquer ajuda prestada, meu muito obrigado.

Aos amigos Rafael Rodrigo, Eduardo Trento, Tiago Brolin, Alexandre Klein, Alexandre Foss, Rafael Bazi, Franciele de Oliveira, Iandra Daiane e Judite Raimundo por todo companheirismo nos últimos anos, churrascos, diversão, mas acima de tudo, amizade, conselhos e apoio.

A todos os meus professores, desde a escola, graduação e pós-graduação, que me ensinaram e me estimularam a crescer e a sempre procurar mais conhecimento. Vocês são parte indispensável da minha trajetória acadêmica. Muito obrigado!

A todos que passaram em minha vida e que de alguma maneira, direta ou indiretamente, contribuíram para que eu pudesse chegar até aqui, meus sinceros agradecimentos.

PROBIÓTICO COMO ALTERNATIVA A ANTIBIÓTICO PARA FRANGOS DE CORTE DESAFIADOS COM *SALMONELLA* HEIDELBERG

Resumo - O objetivo do trabalho foi avaliar o uso de probiótico na cama e nas rações de frangos de corte desafiados com *Salmonella* Heidelberg (SH) sobre o desempenho, rendimento de carcaça e cortes, peso relativo do fígado e gordura, parâmetros bioquímicos do sangue, morfometria intestinal, contaminação cecal por SH e qualidade de cama. Para tanto, foram utilizados 640 pintos de corte, machos, de um dia de idade, distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado com cinco tratamentos, oito repetições e 16 aves por unidade experimental (UE). Os tratamentos consistiram em: controle negativo (CN – ração basal sem enramicina e salinomicina); controle positivo (CP – ração basal com uso de enramicina e salinomicina); tratamento 3, composto da ração CN mais inclusão de 1 kg ton⁻¹ de probiótico na ração; tratamento 4, composto da ração CN mais aplicação de 20 g m⁻² de probiótico na cama; e tratamento 5, composto da ração CN com a inclusão de 1 kg ton⁻¹ de probiótico na ração e a aplicação de 20 g m⁻² de probiótico na cama. A aplicação do probiótico na cama foi realizada 5 dias antes do alojamento. Aos 3 dias de idade, 4 aves por UE receberam por gavagem uma solução de inóculo de cultura com SH (10⁶ UFC ave⁻¹). Foram avaliados desempenho aos 21 e 42 dias (ganho de peso, consumo de ração e conversão alimentar), rendimento de carcaça e cortes, peso relativo do fígado e gordura aos 42 dias, perfil bioquímico do sangue aos 40 dias, morfometria do jejuno aos 28 dias, contagem de *Salmonella* spp. no ceco aos 14 e 28 dias, e parâmetros de qualidade de cama aos 28 e 40 dias (matéria seca, pH e amônia). Os dados foram submetidos à análise de variância e foi utilizado o teste de Tukey a 5% de probabilidade para comparar as variáveis significativas. Os resultados da contagem de *Salmonella* spp não apresentaram distribuição normal, sendo então utilizado o teste de Kruskal-Wallis para avaliação. Na fase inicial (1 a 21 dias) foi observado que as aves que receberam ração com antibiótico e as que receberam probiótico na ração apresentaram melhores resultados (P<0,05) de CA, assim como o tratamento que recebeu probióticos na ração e na cama. Ao final do período experimental, verificou-se um menor CMR (P<0,05) dos tratamentos com probiótico na ração e probióticos na ração e na cama; e um melhor resultado (P<0,05) de CA para o probiótico na ração e na cama. A utilização de probiótico não alterou o rendimento de carcaça e cortes, assim como os parâmetros bioquímicos sanguíneos e morfometria intestinal. O uso do probiótico nas rações e na cama proporcionou um melhor desempenho nas aves de 1 a 42 dias de idade, promoveu uma melhora na qualidade de cama aos 28 dias de idade, com menor concentração de amônia e menor umidade. Pode-se concluir que o probiótico melhora o

desempenho, não altera a morfometria intestinal, os metabolitos séricos, hepático e renal das aves, e melhora a qualidade da cama aos 28 dias.

Palavras-chave: cepas probióticas, promotor de crescimento, qualidade de cama, salmonelose

PROBIOTIC AS ALTERNATIVE TO ANTIBIOTIC FOR BEFORE CHICKEN CHALLENGED WITH *SALMONELLA* HEIDELBERG

Abstract – The objective of this work was to evaluate the use of probiotics in the bedding and diets of broilers challenged with *Salmonella* Heidelberg (SH) on performance, carcass and cuts yield, relative liver and fat weight, blood biochemical parameters, intestinal morphometry, cecal contamination by SH and litter quality. For that, 640 one-day-old male broiler chicks were used, distributed in a completely randomized design with five treatments, eight replications and 16 birds per experimental unit (UE). The treatments consisted of: a positive control (CP – basal chow with the use of enramycin and salinomycin), a negative control (CN – basal chow without enramycin and salinomycin), a third treatment with CN chow plus inclusion of 1 kg ton⁻¹ of probiotic in the ration, a fourth treatment with CN ration plus application of 20 g m⁻² of probiotic in the litter and a fifth treatment with CN ration with the inclusion of 1 kg ton⁻¹ of probiotic in the ration and the application of 20 g m⁻² probiotic in bed. The application of the probiotic in the bed was carried out 5 days before the accommodation. At 3 days of age, 4 birds per UE received a SH culture inoculum solution (10⁶ UFC bird⁻¹) by gavage. Performance at 21 and 42 days (weight gain, feed intake and feed conversion), carcass and cuts yield, relative liver and fat weight at 42 days, blood biochemical profile at 40 days, jejunum morphometry at 28 days were evaluated. days, *Salmonella* spp. count in the cecum at 14 and 28 days and litter quality parameters at 28 and 40 days (dry matter, pH and ammonia). Data were submitted to analysis of variance and Tukey's test at 5% probability was used to compare significant variables. The results of counting *Salmonella* spp. showed no normal distribution, so the Kruskal-Wallis test was used. In the initial phase (1 to 21 days) it was observed that the birds that received antibiotic ration and those that received probiotic in the ration presented better results (P<0.05) of CA, as well as the treatment that received probiotics in the ration and in the bed. At the end of the experimental period, there was a lower CMR (P<0.05) of the treatments with probiotic in the ration and probiotics in the ration and in the bedding and a better result (P<0.05) of CA for the probiotic in the ration and into bed. The use of probiotic did not change carcass and cuts yield, as well as blood biochemical parameters and intestinal morphometry. The use of the probiotic in the diets and in the litter provided a better performance in birds from 1 to 42 days of age, promoted an improvement in the quality of litter at 28 days of age, with lower ammonia concentration and lower humidity. It can be concluded that the probiotic improves performance, does not change intestinal morphometry, serum metabolites and hepatic and renal metabolism of birds and improves litter quality at 28 days.

Keywords: growth promoter, litter quality, probiotic strains, salmonellosis

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição percentual e calculada das rações experimentais.....	42
Tabela 2. Desempenho de frangos de corte de 1 a 21 e 1 a 42 dias de idade desafiados com <i>Salmonella</i> Heidelberg e alimentadas com dietas contendo ou não probiótico	46
Tabela 3. Rendimento de carcaça, cortes e peso relativo de órgãos de aves desafiadas com <i>Salmonella</i> Heidelberg e alimentadas com dietas contendo ou não probiótico	48
Tabela 4. Parâmetros bioquímicos do sangue de aves desafiadas com <i>Salmonella</i> Heidelberg e alimentadas com dietas contendo ou não probiótico	49
Tabela 5. Morfometria intestinal, jejuno, aos 28 dias de aves desafiadas com <i>Salmonella</i> Heidelberg e alimentadas com dietas contendo ou não probiótico	50
Tabela 6. Contagem de <i>Salmonella</i> spp. no ceco, log ₁₀ UFC g ⁻¹ , de aves desafiadas com <i>Salmonella</i> Heidelberg e alimentadas com dietas contendo ou não probiótico	52
Tabela 7. Qualidade da cama de frangos de corte desafiados com <i>Salmonella</i> Heidelberg e alimentados com dietas contendo ou não probiótico.....	53

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	17
2. REVISÃO.....	19
2.1 Avicultura	19
2.2 <i>Salmonella</i>	20
2.3 <i>Salmonella</i> Heidelberg.....	20
2.4 Uso de antibióticos na avicultura.....	21
2.5 Resistência microbiana	22
2.6 Probióticos	24
2.6.1 Bactérias probióticas	25
2.6.1.1 <i>Bacillus thuringiensis</i>	25
2.6.1.2 <i>Bacillus subtilis</i>	26
2.6.1.3 <i>Bacillus amilolyquefaciens</i>	26
2.6.2 Leveduras probióticas	27
2.6.2.1 <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	27
2.7 Probióticos no controle da <i>Salmonella</i> spp.....	27
2.8. Referências bibliográficas.....	29
3. PROBIÓTICO COMO ALTERNATIVA A ANTIBIÓTICO PARA FRANGOS DE CORTE DESAFIADOS COM <i>SALMONELLA</i> HEIDELBERG	36
3.1 Introdução	39
3.2 Material e métodos.....	40
3.3 Resultados e discussão.....	45
3.4 Conclusões	54
3.5 Referências bibliográficas.....	54

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é o terceiro maior produtor e maior exportador de carne de frango do mundo, com produtos avícolas comercializados em mais de 150 países. Dados da Associação Brasileira de Proteína Animal (ABPA) referentes ao ano de 2021 (ABPA, 2022) registraram a produção de 14.329 milhões de toneladas de carne de frango, sendo exportado 32,17% do volume produzido, totalizando 4.610 milhões de toneladas.

Apesar da elevada produtividade, a avicultura sofre cada vez mais com problemas biológicos, como enfrentamento às doenças. As aves, por exemplo, são hospedeiras e reservatórios para *Salmonella* spp., assim produtos avícolas são comumente utilizados em surtos relacionados a estas bactérias (ANDINO; HANNING, 2015; ANTUNES et al., 2016). As bactérias do gênero *Salmonella* podem sobreviver e colonizar o trato gastrointestinal (TGI) das aves e uma vez colonizado, são disseminadas através das excretas, levando à contaminação ambiental, transmissão do patógeno e contaminação cruzada das carcaças durante o processamento das aves (FOLEY et al., 2011; ANTUNES et al., 2016).

A *Salmonella* Heidelberg é um dos sorogrupos emergentes no Brasil, o que causa preocupação ao setor avícola, visto que o microrganismo patogênico é multirresistente, além de carregar determinantes moleculares de resistência aos antibióticos pertencentes à classe β -lactâmicos (BERTANI, 2020; VOSS-RECH et al., 2019). Os antibióticos têm sido amplamente utilizados, não apenas no tratamento e prevenção de doenças, mas também para melhorar o crescimento e a produtividade dos animais (HUYGHEBAERT et al., 2011). O uso de antibióticos, como moduladores de crescimento, na produção animal impulsionou a produção avícola a bater recordes de produção e sua utilização na produção animal iniciou há mais de 70 anos, quando o uso da clorotetraciclina demonstrou melhorar a saúde dos pintainhos no alojamento, bem como durante a fase de crescimento (PULICHARLA et al., 2018).

A preocupação com o aumento na resistência bacteriana levou a Organização Mundial da Saúde (OMS) a sugerir restrições de moduladores de crescimento como os antibióticos (AGPs) na produção animal. Com isso, desde 2006, alguns países europeus proibiram a comercialização e o uso de AGPs em rações para a alimentação animal (DIARRA; MALOUIN, 2014). A partir de 2005, os Estados Unidos proibiram o uso de antimicrobianos como as fluoroquinolonas para aves, o que reduziu o número de infecções por *Campylobacter* resistentes em humanos. Essa eliminação progressiva dos AGPs aumentou a pressão da indústria avícola em busca de alternativas viáveis que possam melhorar o mecanismo de defesa natural desses animais e reduzir a entrada de patógenos no ambiente de produção.

Essa restrição se deve à preocupação mundial sobre o desenvolvimento de resistência antimicrobiana e devido à transferência de genes de resistência oriundos da microbiota animal para os humanos, se tornando uma preocupação de saúde pública (MAPA, 2009; EUROPEAN PARLIAMENT AND THE COUNCIL OF THE EUROPEAN UNION, 2003; GAGGIÀ et al., 2010). Neste contexto, tem aumentado a busca por alternativas que possam substituir os antibióticos, como moduladores de crescimento, na produção animal.

Nesse sentido, o uso de microrganismos não patogênicos, como os probióticos, tem tido atenção elevada, se devendo à capacidade de melhorar o equilíbrio microbiano intestinal e a defesa natural dos animais contra as bactérias patogênicas (NEWAJ-FYZUL et al., 2014; OHASHI; USHIDA, 2009).

Probióticos são definidos como microrganismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde do animal. Quando utilizados como aditivo alimentar, esses microrganismos estão associados à manutenção de uma microbiota intestinal equilibrada, aumentando a resistência a bactérias patogênicas e melhorando a imunidade do hospedeiro (BELKAID; HAND, 2014). Tais benefícios pelas cepas probióticas podem ser decorrentes de sua capacidade de produzir ácidos graxos e ácidos orgânicos, além da síntese de compostos como vitaminas e biomoléculas antimicrobianas como as bacteriocinas, também denominadas de substância inibidora do tipo bacteriocina (BLIS), atuantes, especificamente, contra certos patógenos ou na atividade de certas enzimas (YANG et al., 2014).

Desta forma, estudos envolvendo o uso de probióticos são necessários, sendo realizados com o intuito de substituir os promotores de crescimento melhorando ou não o desempenho do animal. Neste contexto, este estudo teve como objetivo avaliar o uso de probiótico em substituição ao antibiótico nas rações e o efeito do probiótico na cama de frangos de corte desafiados com SH e seus efeitos no desempenho, rendimento de carcaça e cortes, qualidade de cama, parâmetros bioquímicos do sangue, morfometria intestinal, peso relativo de órgãos, contaminação cecal e da cama por SH.

2. REVISÃO

2.1 Avicultura

Nas últimas décadas o desenvolvimento da avicultura de corte tem sido intenso e isso está relacionado ao melhoramento genético, à nutrição, ao manejo, à ambiência e à sanidade; que proporciona alta produtividade com menor custo de produção. Segundo a Associação Brasileira de Proteína Animal, a produção brasileira de carne de frango deverá crescer cerca de 4,0% em 2022, podendo chegar a 14,9 milhões de toneladas. Quanto às exportações, as expectativas de crescimento são de 5,0% (ABPA, 2022).

Com a elevação na produção de proteína avícola, há aumento na preocupação da qualidade sanitária desta, pois as doenças causadas por alimentos contaminados têm aumentado nos últimos anos. Uma das principais doenças é a salmonelose, uma enfermidade causada por bactérias do gênero *Salmonella*, sendo considerada uma das zoonoses que mais afetam a saúde pública mundial. A presença de *Salmonella* em produtos avícolas se torna um empecilho ao comércio internacional de alimentos (BACK; ISHIZUKA, 2010).

O uso de aditivos na produção avícola é prática rotineira, que visa melhorar o desempenho dos animais, assim como garantir maior qualidade sanitária (BARROS et al., 2012). Neste sentido, o antibiótico é o aditivo mais comum para utilização, isso por ser facilmente adquirido, apresentar baixo custo e excelente resposta no animal. Eles são constituídos por antibacterianos, que fornecidos em doses subterapêuticas, melhoram a produtividade e a sanidade dos animais (LORENÇON et al., 2007).

O uso desses antibióticos como única forma de controle sanitário na nutrição das aves tem preocupado pesquisadores e a população, principalmente com relação ao aumento na resistência bacteriana em humanos que consomem produtos avícolas. Esta preocupação levou a Organização Mundial da Saúde a sugerir a redução ou não utilização de antibióticos na produção de aves, sendo esta recomendação acatada por diversos países, principalmente na União Europeia (DIARRA; MALOUIN, 2014). A restrição fez com que se aumentasse a procura por alternativas viáveis de substituição aos antibióticos que possam melhorar a saúde dos animais sem prejudicar a produtividade deles.

Uma alternativa que tem demonstrado resultados promissores é o uso de probióticos, que possuem a capacidade de melhorar o equilíbrio microbiano intestinal e a defesa natural do

animal contra as bactérias patogênicas sem prejudicar o desempenho das aves (NEWAJ-FYZUL et al., 2014; OHASHI; USHIDA, 2009).

2.2 *Salmonella*

O gênero *Salmonella* foi inicialmente caracterizado em 1985 (TORTORA et al., 2015). Pertencente à família Enterobacteriaceae (ZERO; RODRIGUES, 2017), são bacilos que não formam esporos e possuem flagelos na sua maioria (exceto os sorotipos Pullorum e Gallinarum) (ALTERTHUM, 2015). São gram negativos, anaeróbios facultativos, fermentam a glicose e outros açúcares e descarboxilam aminoácidos, como a lisina. A caracterização do gênero e diferenciação de alguns biotipos podem ser realizadas por reações bioquímicas (TERZOLO et al., 2011).

Existem mais de 2500 sorotipos de *Salmonella*, os quais podem ser diferenciados com base nos antígenos somáticos (O), capsulares (Vi) e flagelares (H) (DE JONG et al., 2012; KURTZ et al., 2017). As infecções causadas por *Salmonella* nas aves podem ser agudas e crônicas, podendo ser classificadas em três enfermidades: pulorose, causada por *S. Pullorum*, tifo aviário, causado por *S. Gallinarum* e infecções paratíficas, que geram um grande prejuízo econômico na produção (DOS SANTOS et al., 2015).

A *S. Typhimurium* e *S. Enteritidis* podem vir a colonizar o trato gastrointestinal. Não se tem sinais clínicos nas aves, mas a *Salmonella* persiste no intestino, invade a corrente sanguínea e chega a diferentes órgãos, podendo ocasionar uma possível contaminação de carcaças e ovos (REVOLLEDO; FERREIRA, 2012).

2.3 *Salmonella* Heidelberg

A *Salmonella* Heidelberg (SH) é um sorotipo pertencente à subespécie *Salmonella enterica enterica*, sorogrupo B (CURY, 2013). Está entre as cinco principais salmonelas associadas a infecções em humanos e uma das mais encontradas em galinhas, perus e suínos (FOLEY; LYNNE, 2008).

A SH é relatada, desde 1962 no Brasil, em aves e produtos de origem avícola (BORSOI et al., 2011), sendo o 2º sorotipo que mais causa infecções em humanos (DAS NEVES et al.,

2020). Segundo Perin et al. (2020), no estado do Paraná os principais sorovares encontrados são Typhimurium e Heidelberg.

Em trabalho realizado por Dickel (2018), em que a SH foi isolada em três abatedouros no Sul do Brasil, antes e depois do chiller, verificou-se, respectivamente, 31,7% e 20% de positividade, sendo 63,9% dos casos por contaminação por SH. Moraes (2014), avaliando enteropatógenos em todo o processo de produção avícola, observou resultados positivos para *Salmonella* spp. em todas as amostras estudadas, o que demonstra a importância de se combater essa bactéria nas produções avícolas. A SH também é considerada uma das mais invasivas, causando problemas com maior gravidade quando comparada aos demais sorotipos (DUTIL et al., 2010).

Segundo Borsoi et al. (2011), as alterações na mucosa intestinal causadas por SH são semelhantes à *S. Enteritidis*, visto que pintos de corte desafiados com ambos os sorotipos permaneceram excretando bactérias por mais de 20 dias. As aves infectadas com SH, contudo, excretaram menor quantidade de bactérias que aves desafiadas por *S. Enteritidis*. Ainda, em análises histológicas intestinais realizadas pelos autores, se verificou que os grupos infectados apresentaram a relação altura de vilosidade:profundidade de cripta menor se comparada ao grupo controle.

O aumento da resistência de *Salmonella* Heidelberg se tornou preocupante para a evolução da resistência bacteriana aos produtos utilizados para seu controle, como antimicrobianos e sanitizantes que são comumente usados na produção avícola (COLLA et al., 2012). Em trabalho realizado por Reis et al. (2020), a *Salmonella* Heidelberg apresentou resistência a quinolonas (enrofloxacina e ciprofloxacina), cefalosporina (ceftiofur) de terceira geração e às tetraciclina.

2.4 Uso de antibióticos na avicultura

Os antibióticos são substâncias adicionadas aos alimentos destinados à produção animal, tendo a finalidade de melhorar a taxa de crescimento e a eficiência da conversão alimentar. Possuem atuação no lúmen intestinal, onde não são absorvidos e inibem o desenvolvimento de microrganismos responsáveis por infecções subclínicas e, conseqüentemente, diminuem inflamações no epitélio intestinal através da redução do número de bactérias patogênicas, bem como inibindo sua adesão à mucosa intestinal (HAESE; SILVA, 2004). Tais mudanças proporcionam uma microbiota ideal e equilibrada, que reduz o surgimento de enfermidades e,

consequentemente, melhora a absorção de nutrientes, permitindo ao animal expressar o seu máximo potencial genético (HUYGHEBAERT et al., 2011).

O início da utilização de antibióticos como melhoradores de desempenho ocorreu em meados da década de 40, quando se notou que animais alimentados com micélios de *Streptomyces aureofaciens* e resíduos de clorotetraciclina apresentaram melhoras em seu crescimento (GONZALES et al., 2012). Com a utilização desses aditivos nas rações foi possível ter aumento na produção, com melhoras nas taxas de crescimento em 4 a 8% e na conversão alimentar de 2 a 5% (AJUWON, 2016).

O uso constante de antimicrobianos favorece o aparecimento de estirpes resistentes, acarretando risco para a saúde animal e humana (CURY, 2013; LIMA et al., 2019). O Brasil, como um dos principais exportadores de carne de frango, vem buscando atender as recomendações da Organização Mundial de Saúde Animal (OIE), Organização Mundial de Saúde (OMS), do Codex Alimentarius (CA) e da Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO) quanto às restrições no uso de antibióticos como melhoradores na avicultura (CASEWELL et al., 2003).

O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento do Brasil fez uma publicação em janeiro de 2020, uma normativa que aborda a intenção da proibição do uso de antimicrobianos promotores de crescimento como tilosina, lincomicina, e tiamulina, determinada na Portaria SDA nº 1 (MAPA, 2020). Atualmente os agentes antimicrobianos liberados e mais comumente utilizados como promotores de crescimento são a flavomicina, avilamicina e enramicina (GÓCHEZ et al., 2020).

2.5 Resistência microbiana

Alexander Fleming foi quem descobriu os antibióticos em 1928, o primeiro pesquisador a relatar a possível resistência de bactérias a antimicrobianos. Durante o discurso de premiação do Nobel de Fisiologia e Medicina, em 1945, mencionou sobre a probabilidade de doses subterapêuticas produzirem microrganismos resistentes (SHARMA et al., 2020).

A resistência dos microrganismos acontece de forma natural, mas fatores como programas deficientes ou inexistentes em controle de infecções, mau uso dos antimicrobianos na saúde humana, antimicrobianos de má qualidade, capacidade laboratorial fraca, vigilância e monitoramento inadequados, fiscalização e regulamentação do uso de antimicrobianos insuficientes agravam a situação (BRASIL, 2018).

A resistência microbiana ocorre quando as bactérias sobrevivem aos antimicrobianos presentes no meio, sendo através da diminuição da absorção do antibiótico pelas suas membranas e isso pode ocorrer quando o microrganismo metaboliza o antibiótico em produtos não prejudiciais ou o transforma em um produto com que a bactéria possa conviver (NOGUEIRA et al., 2016).

As bactérias têm uma enorme e rápida capacidade de adaptação ao ambiente em que vivem. Uma de suas grandes vantagens está na velocidade com que se reproduzem, uma bactéria pode dobrar sua população em apenas meia hora, e dar origem a quase 50 gerações de bactérias em um dia. Nessas condições, a seleção natural facilita a adaptação de uma população bacteriana a um ambiente hostil, como um ambiente com antibióticos, em um tempo muito curto. Os antibióticos atuam como agentes seletivos para aquelas mutações aleatórias que dão às bactérias a vantagem seletiva de sobreviver na presença de antibióticos (IGLESIAS, 2019).

As bactérias podem transmitir resistência adquirida para outras, podendo ser por transformação, onde utilizam o DNA presente no meio por transdução, a transferência do material genético de uma bactéria para outra por meio de um vírus; ou por conjugação, através da fímbria (pili), quando a bactéria vai transferir partes do seu DNA para outra (LIMA et al., 2017).

O uso de subdosagens dos antibióticos pode causar a seleção de colônias bacterianas, ocasionando o surgimento de organismos com maior resistência aos antimicrobianos, que podem contaminar o solo e os alimentos (SCHNEIDER et al., 2011). Cortez et al. (2006) conduziram estudos avaliando a resistência de 29 cepas de *Salmonella* que estavam presentes em águas utilizadas para escaldagem, evisceração e resfriamento de carcaças de frango, assim como nas carcaças, penas e excretas das aves. Os autores avaliaram a atuação de 12 antimicrobianos de uso convencional na avicultura e concluíram que 86,2% das amostras eram resistentes ao aztreonam e à ampicilina, 72,4% para tetraciclina e 55,2% à amoxicilina/ácido clavulânico e sulfazotrim, bem como correlacionaram os resultados obtidos ao uso inadequado dos antibióticos.

O motivo da União Europeia proibir o uso de antibióticos como promotores de crescimento foi o risco de aparecimento de resistência microbiana a vários medicamentos destinados a seres humanos, com isso começou a controlar o seu uso na formulação de rações. No período de 1970, a Council Directive 70/524EEC foi uma diretiva que surgiu para regulamentar o uso de aditivos antimicrobianos na alimentação animal, mas cada país adaptou medidas diferentes de utilização de antibióticos nas rações. A proibição do uso de antibióticos como melhoradores de desempenho teve início na Suécia em 1986, se estendendo, em seguida,

por outros países da União Europeia (UE) (BOATMAN, 1998). Entretanto, a retirada dos antibióticos como moduladores de crescimento tem gerado muitas discussões, pois ainda são encontrados relatos de resistência microbiana aos antibióticos, além do mais, a não utilização de antibióticos gerou problemas adversos para a saúde animal, desencadeando a queda do desempenho de frangos de corte (REIS; VIEITES, 2019).

Devido às novas exigências impostas pelo mercado, buscaram-se alternativas para a substituição dos promotores de crescimento (LIU et al., 2017), já que estes têm como principal função realizar a manutenção da saúde do trato gastrointestinal que está correlacionada, por sua vez, diretamente ao desempenho do animal (AMBROSIO et al., 2017). Busca-se substituir esses produtos e manter a qualidade sanitária e produtiva das aves. Produtos como probióticos, prebióticos, simbióticos, fitoterápicos, entre outros são possíveis alternativas ao uso de antibióticos e sanitizantes comumente utilizados.

2.6 Probióticos

Ilya Mechnikov foi um dos primeiros a realizar pesquisas com os probióticos. Seus estudos tiveram como base as observações realizadas por Stamen Grigorov, nas quais encontrou efeitos benéficos do iogurte para a saúde humana e identificou que o responsável por essa melhora era o organismo vivo ativo presente no alimento, o *Lactobacillus bulgaricus*, atualmente com a nomenclatura de *Lactobacillus delbrueckii* (GIBSON; ROBERFROID, 1995).

Com o passar dos anos houve um avanço dos estudos sobre a relação entre a microbiota e o hospedeiro, permitindo que a cadeia da avicultura pudesse utilizar produtos alternativos aos antibióticos. Trabalhos com os ácidos orgânicos, extratos vegetais, prebióticos, probióticos e simbióticos comprovam sua funcionalidade em substituição aos antimicrobianos (ABUDABOS et al., 2015; YUN et al., 2017).

Os probióticos podem ser definidos como microrganismos vivos, administrados em quantidades adequadas, que fornecem benefícios à saúde do hospedeiro (HILL et al., 2014). Para Ramos (2014) os probióticos são produtos não tóxicos, que aumentam a resistência ao ataque de bactérias patogênicas na produção avícola. Sua atuação se dá no controle da população de microrganismos patogênicos, melhorando assim os parâmetros de desempenho animal. Os probióticos geram um bloqueio físico que barra outras bactérias de se prenderem no

epitélio intestinal, o que está ligado à exclusão competitiva e competição por sítios de ligação de receptores no epitélio intestinal (ABUDABOS et al., 2015).

Alguns dos efeitos benéficos dos probióticos abrangem a atividade antibacteriana como bacteriocinas e ácidos orgânicos e promovem imunomodulação da microbiota intestinal (CHAMBERS; GONG, 2011; GAGGIÀ et al., 2010), a modulação do sistema imune ocorre através do reconhecimento pelos macrófagos e sua multiplicação (BARBOSA et al., 2011).

Para ser considerado probiótico, o microrganismo não deve ser tóxico e/ou patogênico, deve sobreviver à ação das enzimas digestivas, ter ação antagonista aos microrganismos patogênicos, ser cultivável em escala industrial, ser estável e viável na preparação comercial, fazer parte normal da microbiota intestinal, sobreviver e colonizar rapidamente o intestino, ser capaz de aderir ao epitélio intestinal do hospedeiro e estimular a imunidade (GAGGIÀ et al., 2010; GUARNER et al., 2012).

Alguns dos principais microrganismos utilizados como probióticos são as bactérias produtoras de ácido láctico, que incluem os *Lactobacilos*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Pediococcus* e espécies de *Leuconostoc* e *Lactococcus* (VIJAYA KUMAR et al., 2015). Além das bactérias ácido lácticas, tem-se as bifidobactérias, *Escherichia coli* e *Nissle*, *Bacillus subtilis* e *Bacillus toyoi*, e as leveduras *Saccharomyces boulardii* e *S. cerevisiae* (BARBOSA et al., 2011; SENAKA RANADHEERA et al., 2012).

2.6.1 Bactérias probióticas

2.6.1.1 *Bacillus thuringiensis*

Pertencente à família Bacillaceae, *B. thuringiensis* é um bastonete gram-positivo, aeróbico e com faixa de temperatura de crescimento entre 10 e 45°C, que produz inclusões de cristais na esporulação. A espécie *B. thuringiensis* apresenta um amplo complexo enzimático, o que permite utilizar uma variedade de substratos.

A principal característica que distingue a espécie das outras do mesmo gênero é a presença intracelular de um cristal proteico durante esporulação na fase estacionária de crescimento (VILAS-BÔAS et al., 2007).

As inclusões de cristais são compostas principalmente por proteínas cristalinas (Cry) e citotóxicas (Cyt), que são tóxicas para uma ampla gama de classes de insetos, como Lepidoptera, Diptera, Coleoptera e Nematode (ELSHAGHABEE et al., 2017). *B. Thuringiensis*

tem sido amplamente utilizado por cinco décadas em formulações de biopesticidas devido a sua segurança ambiental e com a saúde humana (BRAR et al., 2006).

2.6.1.2 *Bacillus subtilis*

O *B. subtilis* é um microrganismo em forma de bastonete, gram-positivo, aeróbio facultativo, não patogênico, produtor de ácido acético e formador de esporos, podendo ser frequentemente isolado no solo (MAZZA, 1994). O *B. subtilis* suporta temperaturas de até 100°C por alguns minutos e sobrevive em solução a 0,5% de sais biliares (TEO; TAN, 2006).

A espécie *B. subtilis* se destaca por sua capacidade natural em secretar antibióticos (ZHANG et al., 2016). Diferentes cepas de *Bacillus* podem produzir peptídeos antimicrobianos (AMP) (GRANT et al., 2018). Este AMP produzido por *B. subtilis* contém 32 aminoácidos, um anel de meso-lantionina e quatro anéis de metillantionina, uma estrutura semelhante à nisina, um antimicrobiano de *Lactococcus* (PARISOT et al., 2008).

B. subtilis cria um ambiente anaeróbico no intestino, fazendo com que tenha crescimento e proliferação dos lactobacilos da microbiota nativa, o que pode causar uma exclusão competitiva das bactérias patogênicas e produção de ácido lático para controlar e limitar o crescimento das bactérias patogênicas (LATORRE et al., 2014).

2.6.1.3 *Bacillus amyloliquefaciens*

O *B. amyloliquefaciens* é um microrganismo gram-positivo, aeróbio facultativo (LARSEN et al., 2014), eficiente contra carboidratos vegetais, também resiste a altas temperaturas, altas pressões e condições ácidas e alcalinas (OLIVIER et al., 2011).

Produz grandes quantidades de enzimas extracelulares, como alfa-amilase, protease e substâncias bioativas com funções antibacteriana, imunitária e antioxidante e pode liberá-las no conteúdo intestinal (ELSHAGHABEE et al., 2017) e aumentar a eficiência da digestão (LARSEN et al., 2014).

O *B. amyloliquefaciens* é uma bactéria de ação probiótica sendo até então apenas reconhecida como bactéria filogeneticamente próxima ao *B. subtilis* (*B. subtilis* subsp. *amyloliquefaciens*) devido à sua semelhança em termos de propriedades fenotípicas (CHUN et al., 2019).

2.6.2 Leveduras probióticas

2.6.2.1 *Saccharomyces cerevisiae*

A levedura *S. cerevisiae* é um microrganismo aeróbio facultativo com capacidade de se modificar metabolicamente em condições de aerobiose e anaerobiose (WILL et al., 2010). Há uma grande variação genética, incluindo a capacidade de crescer em diferentes meios, a diferentes temperaturas e sob diferentes condições de estresse (DA SILVA et al., 2012).

A parede celular de *S. cerevisiae* contém quitina, manana e glucanas, que funciona como estimulante imunológico (LI; GATLIN, 2003). Além disso, a parede celular de levedura contém 1,3~1,6 D glucana e mananoglicosacarídeos que atuam como promotores de crescimento natural (GHOSH et al., 2007).

2.7 Probióticos no controle da *Salmonella* spp.

Estudos têm demonstrado resultados positivos com o uso de probióticos no controle das *Salmonellas*, em que a utilização de uma única dose de cepa probiótica *B. subtilis* pode diminuir a eliminação fecal de *S. enterica* e a concentração de salmonelas no conteúdo cecal de frangos de corte (KNAP et al., 2011). Estes autores destacaram que as aves que consumiram ração contendo *B. subtilis* apresentaram uma redução de 58% em swabs e esfregaços positivos para *Salmonella* spp. quando comparados com as aves do tratamento controle, onde foi detectada a presença de 100% do patógeno. Semelhante ao observado, outros estudos com o uso de bactérias ácido lácticas proporcionam reduções de 95% de *S. Heidelberg* (MENCONI et al., 2011), 4 a 76% de *S. enterica* (HIGGINS et al., 2010) e 92 a 96% de *S. Typhimurium* (HIGGINS et al., 2007) em frangos de corte.

Em uma avaliação imunológica sobre a ação dos probióticos *versus* a colonização do intestino de frangos por *Salmonella* Typhimurium, em que aves receberam probióticos por sonda oral com 1 dia de vida, e infecção com *S. Typhimurium* no 2º dia de vida, foi possível observar que nas aves tratadas com probióticos antes da contaminação, o nível de interleucina IL-12 foi análogo ao observado no grupo controle (aves não infectadas), sendo sugerida uma redução da colonização intestinal por *S. Typhimurium* após o uso de probiótico (HAGHIGHI et al., 2008).

O uso de probióticos também já demonstrou eficácia em frangos desafiados com *S. enterica*, em que os resultados sorológicos apontaram níveis baixos de IgA específico e IgG

contra a *S. enterica* sistêmica nas aves tratadas com probiótico, sendo diferente da resposta humoral das aves isentas de probiótico, que demonstraram respostas mais acentuadas em razão do maior número de antígenos intestinais (MOUNTZOURIS et al., 2009). Adhikari et al. (2004) verificaram a regulação positiva da interleucina IL -1 β , -6, -10, interferon gama (IFN- γ) e expressão do receptor Toll-like (TLR) -4 mRNA, e elevação da expressão do gene IL-6 e IL-10 no íleo em aves que receberam 0,1% de *Lactobacillus plantarum* desafiadas com *S. Enteritidis*.

Aves recebendo ração contendo 250 ou 500 g ton⁻¹ de *B. subtilis* apresentaram um aumento da mobilização de macrófagos para o fígado e, como consequência, uma redução da colonização por *Salmonella enterica* sorovar Heidelberg, além da modulação da microbiota intestinal (HAYASHI et al., 2018). Zhen et al. (2018) conduziu um trabalho com o objetivo de avaliar a eficácia da suplementação dietética de *B. coagulans* em aves desafiadas com *S. Enteritidis*. Apesar dos resultados terem mostrado que a infecção não afetou o desempenho, foi possível observar que o patógeno causou uma inflamação intestinal e ocasionou um comprometimento da função de barreira devido à redução das células intestinais e número de bactérias benéficas, aumentando a colonização de *Salmonella*.

Estudos *in vitro* têm demonstrado, em sua maioria, que as bactérias ácido lácticas são capazes de controlar patógenos como a *Salmonella* spp., podendo ser pela redução do pH do intestino (FRIZZO et al., 2010), pela realização da modulação do sistema imune (ADHIKARI et al., 2004) ou pela exclusão competitiva (DANKOWIAKOWSKA et al., 2013; DÍAZ-LÓPEZ et al., 2017).

Uma forma de cultura probiótica da microbiota é a aplicação de uma única dose no animal neonatal, um pintainho com um dia de vida, que é chamada de probiótico de exclusão competitiva (EC), a fim de antecipar o processo de amadurecimento da microbiota dos pintainhos e assim aumentar sua resistência à colonização por *Salmonella* spp. (BERGE; WIERUP, 2012; DÍAZ-LÓPEZ et al., 2017; MOUNTZOURIS et al., 2009).

Os probióticos são considerados como uma das principais alternativas para combater patógenos presentes nos alimentos oriundos da avicultura, até os sorovares mais patogênicos de *Salmonella* spp. Outra vantagem de se utilizar probióticos é por serem suplementos naturais e não precisarem de um período de carência (DANKOWIAKOWSKA et al., 2013), facilitando sua aplicação na dieta das aves sem oferecer riscos à saúde humana.

2.8 Referências bibliográficas

- ABPA. Relatório Anual 2022. **Associação Brasileira de Proteína Animal**, p. 144, 2022. Disponível em: <https://abpa-br.org/wp-content/uploads/2022/05/Relatorio-Anual-ABPA-2022-1.pdf >.
- ABUDABOS, A. M.; AL-BATSHAN, H. A.; MURSHED, M. A. Effects of prebiotics and probiotics on the performance and bacterial colonization of broiler chickens. **South African Journal of Animal Sciences**, v. 45, n. 4, p. 419–428, 2015.
- ADHIKARI, K.; KEENE, M. P.; HEYMANN, H.; LORENZEN, C. L. Optimizing beef chuck flavor and texture through cookery methods. **Journal of Food Science**, v. 69, n. 4, p. 174–180, 2004.
- AJUWON, K. M. Toward a better understanding of mechanisms of probiotics and prebiotics action in poultry species. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 25, n. 2, p. 277–283, 2016.
- ALTERTHUM, F. **Microbiologia**. 6. ed. São Paulo: Trubulsi, 2015. 577–584 p.
- AMBROSIO, C. M. S.; DE ALENCAR, S. M.; DE SOUSA, R. L. M.; MORENO, A. M.; DA GLORIA, E. M. Antimicrobial activity of several essential oils on pathogenic and beneficial bacteria. **Industrial Crops and Products**, v. 97, p. 128–136, 2017.
- ANDINO, A.; HANNING, I. Salmonella enterica: Survival, Colonization, and Virulence Differences among Serovars. **The Scientific World Journal**, v. 2015, p. 1–16, 2015.
- ANTUNES, P.; MOURÃO, J.; CAMPOS, J.; PEIXE, L. Salmonellosis: the role of poultry meat. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 22, n. 2, p. 110–121, 2016.
- BACK, A.; ISHIZUKA, M. M. Principais Doenças de notificação obrigatória da Organização Mundial de Saúde. In: Salmonelose aviária. 1 ed. São Paulo: **Fundação Cargill**, p. 120–189, 2010.
- BARBOSA, F.; HENRIQUE, F.; BARBOSA, J. de L.; PAULA, L.; BAMBIRRA, S.; HENRIQUE, L.; ABURJAILE, F.; FLÁVIA. Probióticos- microrganismos a favor da vida. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v. 11, n. 1, p. 11–21, 2011.
- BARROS, M. R.; SILVEIRA, WANDERLEY D, D.; ARAÚJO, J. M. DE; COSTA, E. P.; OLIVEIRA, A. A. DA F.; SANTOS, A. P. DA S. F.; SILVA, V. A. S.; MOTA, R. A. Resistência antimicrobiana e perfil plasmidial de Escherichia coli isolada de frangos de corte e poedeiras comerciais no Estado de Pernambuco. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, n. 5, p. 405–410, 2012.
- BELKAID, Y.; HAND, T. W. Role of the Microbiota in Immunity and Inflammation. **Cell**, v. 157, n. 1, p. 121–141, 2014.
- BERGE, A. C.; WIERUP, M. Nutritional strategies to combat Salmonella in monogastric food animal production. **Animal**, v. 6, n. 4, p. 557–564, 2012.
- BERTANI, A. M. de J. **Caracterização fenotípica e genotípica de cepas de Salmonella spp. e subtipagem molecular de plasmídeos carreando genes de beta-lactamases de espectro estendido e AmpC**. 2020. Dissertação (Mestrado em Ciências)-Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo, 2020.
- BOATMAN, M. Survey of antimicrobial usage in animal health in the European union. Boatman consulting. **FEDESA**, 1998.

BORSOI, A.; RUSCHEL DO SANTOS, L.; BEATRIZ RODRIGUES, L.; LUIZ DE SOUZA MORAES, H.; TADEU PIPPI SALLE, C.; PINHEIRO DO NASCIMENTO, V. Behavior of salmonella heidelberg and salmonella enteritidis strains following broiler chick inoculation: evaluation of cecal morphometry, liver and cecum bacterial counts and fecal excretion patterns. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 42, p. 266–273, 2011.

BRAR, S. K.; VERMA, M.; TYAGI, R. D.; VALÉRO, J. R. Recent advances in downstream processing and formulations of Bacillus thuringiensis based biopesticides. **Process Biochemistry**, v. 41, n. 2, p. 323–342, 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de vigilância em saúde. Departamento de vigilância das doenças transmissíveis. **Plano de ação nacional de prevenção e controle da resistência aos antimicrobianos no âmbito da saúde única 2018-2022.** (PAN – BR)/ Ministério da saúde. Secretaria de vigilância em saúde. Departamento de vigilância em doenças transmissíveis. Brasília: Ministério da Saúde, 2018.

CASEWELL, M. The European ban on growth-promoting antibiotics and emerging consequences for human and animal health. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 52, n. 2, p. 159–161, 2003.

CHAMBERS, J. R.; GONG, J. The intestinal microbiota and its modulation for Salmonella control in chickens. **Food Research International**, v. 44, n. 10, p. 3149–3159, 2011.

CHUN, B. H.; KIM, K. H.; JEONG, S. E.; JEON, C. O. Genomic and metabolic features of the Bacillus amyloliquefaciens group– B. amyloliquefaciens, B. velezensis, and B. siamensis– revealed by pan-genome analysis. **Food Microbiology**, v. 77, n. September 2018, p. 146–157, 2019.

COLLA, F. L.; RODRIGUES, L. B.; DICKEL, E. L.; BORSOI, A.; NASCIMENTO, V. P. do; SANTOS, L. R. dos. Avaliação in vitro de clorexidina, amônia quaternária e ácido peracético frente a amostras de Salmonella Heidelberg isoladas de abatedouro avícola em 2005 e 2009. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, n. 4, p. 289–292, 2012.

CORTEZ, A. L. L.; DE, A. C.; DE CARVALHO, F. B.; IKUNO, A. A.; BÜRGER, K. P.; VIDAL-MARTINS, A. M. C. Resistência Antimicrobiana De Cepas De Salmonella Spp. Isoladas De Abatedouros De Ave. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 73, n. 2, p. 157–163, 2006.

CURY, H. S. **Avaliação de aditivos na água de bebida para controle de Salmonella enterica subespécie Enterica Sorovar Heidelberg em frangos de corte.** 2013. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2013.

DA SILVA, N. A.; SRIKRISHNAN, S. Introduction and expression of genes for metabolic engineering applications in Saccharomyces cerevisiae. **FEMS Yeast Research**, v. 12, n. 2, p. 197–214, 2012.

DANKOWIAKOWSKA, A.; KOZŁOWSKA, I.; BEDNARCZYK, M. Probiotics, prebiotics and synbiotics in poultry - Mode of action, limitation, and achievements. **Journal of Central European Agriculture**, v. 14, n. 1, p. 467–478, 2013.

DAS NEVES, G.; PICK, E.; GIURIATTI, J.; ARAUJO, D.; STEFANI, L. A Comparative Study on Salmonella Enteritidis, S. Heidelberg and S. Typhimurium of Poultry Origin from Southern Brazil. **Annals of Medicine and Medical Research**, v. 3, n. 3, p. 1–5, 2020.

DE JONG, H. K.; PARRY, C. M.; VAN DER POLL, T.; WIERSINGA, W. J. Host–

Pathogen Interaction in Invasive Salmonellosis. **PLoS Pathogens**, v. 8, n. 10, p. e1002933, 2012.

DIARRA, M. S.; MALOUIN, F. Antibiotics in Canadian poultry productions and anticipated alternatives. **Frontiers in Microbiology**, v. 5, n. JUN, p. 1–15, 2014.

DÍAZ-LÓPEZ, E. A.; ÁNGEL-ISAZA, J.; ÁNGEL B., D. Probióticos en la avicultura: una revisión. **Revista de Medicina Veterinaria**, n. 35, p. 175–189, 2017.

DICKEL, E. L. Utilização Da técnica microbiológica Convencional, Reação Em Cadeia Pela Polimerase (PCR) E Ensaio imunoenzimático (ELISA) No Monitoramento De Salmonella Em carcaças De Frango Para O Controle Higiênico-sanitário Do Processo De Abate. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 32, n. 3, p. 247-248, 2018.

DOS SANTOS, L. A.; MION, L.; MAROTZKI, M.; PARIZOTTO, L.; RODRIGUES, L. B.; DO NASCIMENTO, V. P.; DOS SANTOS, L. R. Número mais provável miniaturizado e microbiologia convencional para isolamento de Salmonella spp. em abatedouros de frangos de corte. **Pesquisa Veterinaria Brasileira**, v. 35, n. 3, p. 223–229, 2015.

DUTIL, L.; IRWIN, R.; FINLEY, R.; NG, L. K.; AVERY, B.; BOERLIN, P.; BOURGAULT, A.-M.; COLE, L.; DAIGNAULT, D.; DESRUISSEAU, A.; DEMCZUK, W.; HOANG, L.; HORSMAN, G. B.; ISMAIL, J.; JAMIESON, F.; MAKI, A.; PACAGNELLA, A.; PILLAI, D. R. Ceftiofur Resistance in Salmonella enterica Serovar Heidelberg from Chicken Meat and Humans, Canada. **Emerging Infectious Diseases**, v. 16, n. 1, p. 48–54, 2010.

ELSHAGHABEE, F. M. F.; ROKANA, N.; GULHANE, R. D.; SHARMA, C.; PANWAR, H. Bacillus As Potential Probiotics: Status, Concerns, and Future Perspectives. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, n. AUG, p. 1–15, 2017.

EUROPEAN PARLIAMENT AND THE COUNCIL OF THE EUROPEAN UNION. Regulation (EC) No 1831/2003. **Official Journal of the European Union**, v. 4, n. L 268/29-42, p. 29–43, 2003.

FOLEY, S. L.; LYNNE, A. M. Food animal-associated Salmonella challenges: Pathogenicity and antimicrobial resistance1. **Journal of Animal Science**, v. 86, n. suppl_14, p. E173–E187, 2008.

FRIZZO, L. S.; SOTO, L. P.; ZBRUN, M. V.; BERTOZZI, E.; SEQUEIRA, G.; ARMESTO, R. R.; ROSMINI, M. R. Lactic acid bacteria to improve growth performance in young calves fed milk replacer and spray-dried whey powder. **Animal Feed Science and Technology**, v. 157, n. 3–4, p. 159–167, 2010.

GAGGIÀ, F.; MATTARELLI, P.; BIAVATI, B. Probiotics and prebiotics in animal feeding for safe food production. **International Journal of Food Microbiology**, v. 141, n. Supplement, p. S15–S28, 2010.

GHOSH, H. K.; HALDER, G.; SAMANTA, G.; KOLEY, S. Effect of Dietary Supplementation of Organic Acid and Mannan Oligosaccharide on the Plasma Minerals and Carcass Traits of Japanese Quail (*Coturnix coturnix japonica*). **Research Journal of Veterinary Sciences**, v. 1, n. 1, p. 44–49, 2007.

GIBSON, G. R.; ROBERFROID, M. B. Dietary Modulation of the Human Colonic Microbiota: Introducing the Concept of Prebiotics. **The Journal of Nutrition**, v. 125, n. 6, p. 1401–1412, 1995.

GÓCHEZ, D.; MOULIN, G.; JEANNIN, M.; ERLACHER-VINDEL, E. OIE Annual Report on Antimicrobial Agents Intended for Use in Animals: Methods Used. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 6, n. 317, p. 1-9, 2019.

GONZALES, E.; MELLO, H. H. D. C.; CAFÉ, M. B. Uso de antibióticos promotores de crescimento na alimentação e produção animal. **Revista UFG**, v. 13, p. 48–53, 2012.

GRANT, A.; GAY, C. G.; LILLEHOJ, H. S. Bacillus spp. as direct-fed microbial antibiotic alternatives to enhance growth, immunity, and gut health in poultry. **Avian Pathology**, v. 47, n. 4, p. 339–351, 2018.

GUARNER, F.; KHAN, A. G.; GARISCH, J.; ELIAKIM, R.; GANGL, A.; THOMSON, A.; KRABSHUIS, J.; LEMAIR, T.; KAUFMANN, P.; DE PAULA, J. A.; FEDORAK, R.; SHANAHAN, F.; SANDERS, M. E.; SZAJEWSKA, H.; RAMAKRISHNA, B. S.; KARAKAN, T.; KIM, N. World Gastroenterology Organisation Global Guidelines. **Journal of Clinical Gastroenterology**, v. 46, n. 6, p. 468–481, 2012.

HAESE, D.; SILVA, B. A. N. Antibióticos como promotores de crescimento em monogástricos. **Nutritime**, v. 1, n. 1, p. 07–19, 2004.

HAGHIGHI, H. R.; ABDUL-CAREEM, M. F.; DARA, R. A.; CHAMBERS, J. R.; SHARIF, S. Cytokine gene expression in chicken cecal tonsils following treatment with probiotics and Salmonella infection. **Veterinary Microbiology**, v. 126, n. 1–3, p. 225–233, 2008.

HAYASHI, R. M.; LOURENÇO, M. C.; KRAIESKI, A. L.; ARAUJO, R. B.; GONZALEZ-ESQUERRA, R.; LEONARDECZ, E.; DA CUNHA, A. F.; CARAZZOLLE, M. F.; MONZANI, P. S.; SANTIN, E. Effect of feeding bacillus subtilis spores to broilers challenged with Salmonella enterica serovar Heidelberg Brazilian strain UFPR1 on performance, immune response, and gut health. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 5, n. FEB, p. 1-12, 2018.

HIGGINS, J. P.; HIGGINS, S. E.; WOLFENDEN, A. D.; HENDERSON, S. N.; TORRES-RODRIGUEZ, A.; VICENTE, J. L.; HARGIS, B. M.; TELLEZ, G. Effect of lactic acid bacteria probiotic culture treatment timing on Salmonella Enteritidis in neonatal broilers. **Poultry Science**, v. 89, n. 2, p. 243–247, 2010.

HIGGINS, S. E.; ERF, G. F.; HIGGINS, J. P.; HENDERSON, S. N.; WOLFENDEN, A. D.; GAONA-RAMIREZ, G.; HARGIS, B. M. Effect of Probiotic Treatment in Broiler Chicks on Intestinal Macrophage Numbers and Phagocytosis of Salmonella Enteritidis by Abdominal Exudate Cells. **Poultry Science**, v. 86, n. 11, p. 2315–2321, 2007.

HILL, C.; GUARNER, F.; REID, G.; GIBSON, G. R.; MERENSTEIN, D. J.; POT, B.; MORELLI, L.; CANANI, R. B.; FLINT, H. J.; SALMINEN, S.; CALDER, P. C.; SANDERS, M. E. Expert consensus document: The international scientific association for probiotics and prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. **Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology**, v. 11, n. 8, p. 506–514, 2014.

HUYGHEBAERT, G.; DUCATELLE, R.; IMMERSEEL, F. Van. An update on alternatives to antimicrobial growth promoters for broilers. **The Veterinary Journal**, v. 187, n. 2, p. 182–188, 2011.

IGLESIAS, O. J. Comprendiendo la resistencia a antibióticos. **Revista de Investigación y Educación En Ciencias de La Salud (RIECS)**, v. 4, n. 2, p. 84–89, 2019.

KNAP, I.; KEHLET, A. B.; BENNEDSEN, M.; MATHIS, G. F.; HOFACRE, C. L.; LUMPKINS, B. S.; JENSEN, M. M.; RAUN, M.; LAY, A. Bacillus subtilis (DSM17299) significantly reduces Salmonella in broilers. **Poultry Science**, v. 90, n. 8, p. 1690–1694, 2011.

KURTZ, J. R.; GOGGINS, J. A.; MCLACHLAN, J. B. Salmonella infection: Interplay between the bacteria and host immune system. **Immunology Letters**, v. 190, p. 42–50, 2017.

LARSEN, N.; THORSEN, L.; KPIKPI, E. N.; STUER-LAURIDSEN, B.; CANTOR, M. D.; NIELSEN, B.; BROCKMANN, E.; DERKX, P. M. F.; JESPERSEN, L. Characterization of *Bacillus* spp. strains for use as probiotic additives in pig feed. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 98, n. 3, p. 1105–1118, 2014.

LATORRE, J. D.; HERNANDEZ-VELASCO, X.; KALLAPURA, G.; MENCONI, A.; PUMFORD, N. R.; MORGAN, M. J.; LAYTON, S. L.; BIELKE, L. R.; HARGIS, B. M.; TÉLLEZ, G. Evaluation of germination, distribution, and persistence of *Bacillus subtilis* spores through the gastrointestinal tract of chickens. **Poultry Science**, v. 93, n. 7, p. 1793–1800, 2014.

LI, P.; GATLIN, D. M. Evaluation of brewers yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) as a feed supplement for hybrid striped bass (*Morone chrysops*×*M. saxatilis*). **Aquaculture**, v. 219, n. 1–4, p. 681–692, 2003.

LIMA, C. C.; BENJAMIM, S. C.; DOS SANTOS, R. F. S. Bacterial Resistance Mechanism Drugs: A Review. **Cuidarte Enfermagem**, v. 11, n. 1, p. 105–13, 2017.

LIMA, T.; DOMINGUES, S.; DA SILVA, G. Plasmid-Mediated Colistin Resistance in *Salmonella enterica*: A Review. **Microorganisms**, v. 7, n. 2, p. 55, 2019.

LIU, Y.; YANG, X.; XIN, H.; CHEN, S.; YANG, C.; DUAN, Y.; YANG, X. Effects of a protected inclusion of organic acids and essential oils as antibiotic growth promoter alternative on growth performance, intestinal morphology and gut microflora in broilers. **Animal Science Journal**, v. 88, n. 9, p. 1414–1424, 2017.

LORENÇON, L.; NUNES, R. V.; POZZA, P. C.; SOARES DOS SANTOS POZZA, M.; DJALMA, M.; THIAGO, W. Utilização de promotores de crescimento para frangos de corte em rações fareladas e peletizadas. **Animal Sciences**, v. 29, n. 2, p. 151–158, 2007.

MAPA. Portaria Nr 1/13 De Jan/2020 - Intenção de proibição de antimicrobianos. **Diário Oficial Da União**, p. 6, 2020. Disponível em: <<https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/instrucao-normativa-n-1-de-13-de-janeiro-de-2020-239402385>>

MAPA. Portaria Nr 15/2009 De Maio/2009 - Regulamentar o registro dos estabelecimentos e dos produtos destinados à alimentação animal. **Diário Oficial Da União**, p. 8, 2009. Disponível em: <<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-pecuarios/alimentacao-animal/arquivos-alimentacao-animal/legislacao/instrucao-normativa-no-15-de-26-de-maio-de-2009.pdf/view>>

MAZZA P. The use of *Bacillus subtilis* as an antidiarrhoeal microorganism. **Bollettino Chimico Farmaceutico**, v. 6, n. 133, p. 3–18, 1994.

MENCONI, A.; WOLFENDEN, A. D.; SHIVARAMAIAH, S.; TERRAES, J. C.; URBANO, T.; KUTTEL, J.; KREMER, C.; HARGIS, B. M.; TELLEZ, G. Effect of lactic acid bacteria probiotic culture for the treatment of *Salmonella enterica* serovar Heidelberg in neonatal broiler chickens and Turkey poults. **Poultry Science**, v. 90, n. 3, p. 561–565, 2011.

MORAES, D. M. C.; ANDRADE, M. A.; MINAFRA-REZENDE, C. S.; BARNABÉ, A. C. de S.; JAYME, V. de S.; NUNES, I. A.; BATISTA, D. de A. Fontes de infecção e perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos de *Salmonella* sp. isoladas no fluxo de produção de frangos de corte. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 81, n. 3, p. 195–201, 2014.

MOUNTZOURIS, K. C.; BALASKAS, C.; XANTHAKOS, I.; TZIVINIKOU, A.; FEGEROS, K. Effects of a multi-species probiotic on biomarkers of competitive exclusion efficacy in broilers challenged with *Salmonella enteritidis*. **British Poultry Science**, v. 50, n. 4, p. 467–478, 2009.

NEWAJ-FYZUL, A.; AL-HARBI, A. H.; AUSTIN, B. Review: Developments in the

use of probiotics for disease control in aquaculture. **Aquaculture**, v. 431, p. 1–11, 2014.

NOGUEIRA, H. S.; XAVIER, A. R. E. de O.; XAVIER, M. A. de S.; CARVALHO, A. A.; MONÇÃO, G. A.; BARRETO, N. A. P. Antibacterianos: principais classes, mecanismos de ação e resistência. **UNIMONTES CIENTÍFICA**, v. 18, n. 2, p. 13, 2016.

OHASHI, Y.; USHIDA, K. Health-beneficial effects of probiotics: Its mode of action. **Animal Science Journal**, v. 80, n. 4, p. 361–371, 2009.

OLIVIER, S. A.; BULL, M. K.; STONE, G.; VAN DIEPENBEEK, R. J.; KORMELINK, F.; JACOPS, L.; CHAPMAN, B. Strong and Consistently Synergistic Inactivation of Spores of Spoilage-Associated *Bacillus* and *Geobacillus* spp. by High Pressure and Heat Compared with Inactivation by Heat Alone. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 77, n. 7, p. 2317–2324, 2011.

PARISOT, J.; CAREY, S.; BREUKINK, E.; CHAN, W. C.; NARBAD, A.; BONEV, B. Molecular Mechanism of Target Recognition by Subtilin, a Class I Lanthionine Antibiotic. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 52, n. 2, p. 612–618, 2008.

PERIN, A.P.; MARTINS, B.T.F.; BARREIROS, M.A.B.; YAMATOOGI, R.S.; NERO, L.A.; DOS SANTOS BERSOT, L. Occurrence, quantification, pulse types, and antimicrobial susceptibility of *Salmonella* sp. isolated from chicken meat in the state of Paraná, Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 51, n. 1, p. 335–345, 2020.

PULICHARLA, R.; ZOLFAGHARI, M.; BRAR, S. K.; DROGUI, P.; AUGER, S.; VERMA, M.; SURAMPALLI, R. Y. Acute Impact of Chlortetracycline on Nitrifying and Denitrifying Processes. **Water Environment Research**, v. 90, n. 7, p. 604–614, 2018.

RAMOS, L. de S. N.; LOPES, J. B.; RIBEIRO, M. N.; SILVA, F. E. S.; MERVAL, R. R.; ALBUQUERQUE, D. M. de N. Alternative additives for antibiotics for broiler chickens from 22 to 42 days of age. **Revista Brasileira de Saude e Producao Animal**, v. 15, n. 4, p. 897–906, 2014.

REIS, T. L.; VIEITES, F. M. Antibiótico, prebiótico, probiótico e simbiótico em rações de frangos de corte e galinhas poedeiras. **Ciência Animal**, v. 29, n. 3, p. 133–147, 2019.

REVOLLEDO, L.; FERREIRA, A. J. P. Erratum to “Current perspectives in avian salmonellosis: Vaccines and immune mechanisms of protection”. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 21, n. 3, p. 717, 2012.

SCHNEIDER, R. N.; NADVORNY, A.; SCHMIDT, V. Perfil de resistência antimicrobiana de isolados de *Escherichia coli* obtidos de águas superficiais e subterrâneas, em área de produção de suínos. **Biotemas**, v. 22, n. 3, 2011.

SENAKA RANADHEERA, C.; EVANS, C. A.; ADAMS, M. C.; BAINES, S. K. Probiotic viability and physico-chemical and sensory properties of plain and stirred fruit yogurts made from goat's milk. **Food Chemistry**, v. 135, n. 3, p. 1411–1418, 2012.

SHARMA, K.; ABDALI, B.; KESHARWANI, P.; MITTAL, N.; BISHT, H. Antimicrobial Resistance: Then and Now. **International Journal Of Pharmaceutical Education And Research (IJPER)**, v. 2, n. 02, p. 50–55, 2020.

TERZOLO, H.R. Estudio bacteriológico de las salmonelosis de las aves (*S. pullorum*, *S. gallinarum*, *S. Enteritidis* y *S. Typhimurium*) em La América Latina. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE SALMONELOSE AVIÁRIA, 2011, Rio de Janeiro. **Anais...** Rio de Janeiro, 2011.

TEO, A. Y. L.; TAN, H. M. Effect of *Bacillus subtilis* PB6 (CloSTAT) on broilers

infected with a pathogenic strain of *Escherichia coli*. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 15, n. 2, p. 229–235, 2006.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CHRISTINE L CASE. **Microbiology: An Introduction**. 12. ed. [s.l.] Pearson, 2015. 960 p.

VIJAYA KUMAR, B.; VIJAYENDRA, S. V. N.; REDDY, O. V. S. Trends in dairy and non-dairy probiotic products - a review. **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, n. 10, p. 6112–6124, 2015.

VILAS-BÔAS, G. T.; PERUCA, A. P. S.; ARANTES, O. M. N. Biology and taxonomy of *Bacillus cereus*, *Bacillus anthracis*, and *Bacillus thuringiensis*. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 53, n. 6, p. 673–687, 2007.

VOSS-RECH, D.; KRAMER, B.; SILVA, V. S.; REBELATTO, R.; ABREU, P. G.; COLDEBELLA, A.; VAZ, C. S. L. Longitudinal study reveals persistent environmental *Salmonella* Heidelberg in Brazilian broiler farms. **Veterinary Microbiology**, v. 233, p. 118–123, 2019.

WILL, J. L.; KIM, H. S.; CLARKE, J.; PAINTER, J. C.; FAY, J. C.; GASCH, A. P. Incipient Balancing Selection through Adaptive Loss of Aquaporins in Natural *Saccharomyces cerevisiae* Populations. **PLoS Genetics**, v. 6, n. 4, p. e1000893, 2010.

YANG, S.-C.; LIN, C.-H.; SUNG, C. T.; FANG, J.-Y. Antibacterial activities of bacteriocins: application in foods and pharmaceuticals. **Frontiers in Microbiology**, v. 5, n. MAY, 2014.

YUN, W.; LEE, D. H.; CHOI, Y. I.; KIM, I. H.; CHO, J. H. Effects of supplementation of probiotics and prebiotics on growth performance, nutrient digestibility, organ weight, fecal microbiota, blood profile, and excreta noxious gas emissions in broilers. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 26, n. 4, p. 584–592, 2017.

ZERO, R. C.; RODRIGUES, J. D. O. *Salmonella*: Riscos, transmissão e controle na cadeia de produção suína - Revisão da literatura. **Nucleus Animalium**, v. 9, n. 1, p. 129–141, 2017.

ZHANG, J.; XUE, Q.; GAO, H.; LAI, H.; WANG, P. Production of lipopeptide biosurfactants by *Bacillus atrophaeus* 5-2a and their potential use in microbial enhanced oil recovery. **Microbial Cell Factories**, v. 15, n. 1, p. 168, 2016.

ZHEN, W.; SHAO, Y.; GONG, X.; WU, Y.; GENG, Y.; WANG, Z.; GUO, Y. Effect of dietary *Bacillus coagulans* supplementation on growth performance and immune responses of broiler chickens challenged by *Salmonella enteritidis*. **Poultry Science**, v. 97, n. 8, p. 2654–2666, 2018.

3. PROBIÓTICO COMO ALTERNATIVA A ANTIBIÓTICO PARA FRANGOS DE CORTE DESAFIADOS COM *SALMONELLA HEIDELBERG*

Resumo - O objetivo do trabalho foi avaliar o uso de probiótico na cama e nas rações de frangos de corte desafiados com *Salmonella* Heidelberg (SH) sobre o desempenho, rendimento de carcaça e cortes, peso relativo do fígado e gordura, parâmetros bioquímicos do sangue, morfometria intestinal, contaminação cecal por SH e qualidade de cama. Para tanto, foram utilizados 640 pintos de corte, machos, de um dia de idade, distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado com cinco tratamentos, oito repetições e 16 aves por unidade experimental (UE). Os tratamentos consistiram em: controle positivo (CP – ração basal com uso de enramicina e salinomicina); controle negativo (CN – ração basal sem enramicina e salinomicina); CN + 1 kg ton⁻¹ de probiótico na ração; CN + aplicação de 20 g m⁻² de probiótico na cama e CN + 1 kg ton⁻¹ de probiótico na ração e aplicação de 20 g m⁻² de probiótico na cama. A aplicação do probiótico na cama foi realizada 5 dias antes do alojamento. Aos 3 dias de idade, 4 aves por UE receberam por gavagem uma solução de inóculo de cultura com SH (10⁶ UFC ave⁻¹). Foram avaliados desempenho aos 21 e 42 dias (ganho de peso, consumo de ração e conversão alimentar), rendimento de carcaça e cortes, peso relativo do fígado e gordura aos 42 dias, perfil bioquímico do sangue aos 40 dias, morfometria do jejuno aos 28 dias, contagem de *Salmonella* spp no ceco aos 14 e 28 dias e parâmetros de qualidade de cama aos 28 e 40 dias (matéria seca, pH e amônia). Os dados foram submetidos à análise de variância e foi utilizado o teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os resultados da contagem de *Salmonella* spp não apresentaram distribuição normal, sendo então utilizado o teste de Kruskal-Wallis. Na fase inicial (1 a 21 dias) foi observado que as aves que receberam ração com antibiótico e as que receberam probiótico na ração apresentaram melhores resultados (P<0,05) de CA, assim como o tratamento que recebeu probiótico na ração e na cama. Ao final do período experimental verificou-se um menor CMR (P<0,05) dos tratamentos com probiótico na ração e probiótico na ração e na cama; e um melhor resultado (P<0,05) de CA para o probiótico na ração e na cama. A utilização do probiótico não alterou rendimento de carcaça e cortes, assim como os parâmetros bioquímicos sanguíneos e morfometria intestinal. O uso do probiótico nas rações e na cama proporcionou um melhor desempenho nas aves de 1 a 42 dias de idade, promoveu uma melhora na qualidade de cama aos 28 dias de idade, com menor concentração de amônia e menor umidade. Pode-se concluir que o probiótico melhora o desempenho, não altera a morfometria intestinal, os metabolitos séricos e o metabolismo hepático e renal das aves, e melhora a qualidade de cama aos 28 dias.

Palavras-chave: antibiótico, cepas probióticas, resistência microbiana, salmonelose

PROBIOTIC AS ALTERNATIVE TO ANTIBIOTIC FOR BEFORE CHICKEN CHALLENGED WITH *SALMONELLA* HEIDELBERG

Abstract - The objective of this work was to evaluate the use of probiotics in the bedding and diets of broilers challenged with *Salmonella* Heidelberg (SH) on performance, carcass and cuts yield, relative liver and fat weight, blood biochemical parameters, morphometry intestinal infection, cecal contamination by SH and litter quality. For that, 640 one-day-old male broiler chicks were used, distributed in a completely randomized design with five treatments, eight replications and 16 birds per experimental unit (UE). The treatments consisted of: positive control (PC – basal ration with use of enramycin and salinomycin); negative control (NC – basal diet without enramycin and salinomycin); CN + 1 kg ton⁻¹ of probiotic in the diet; NC + application of 20 g m⁻² of probiotic in the litter and NC + 1 kg ton⁻¹ of probiotic in the ration and application of 20 g m⁻² of probiotic in the litter. The application of the probiotic in the bed was carried out 5 days before the accommodation. At 3 days of age, 4 birds per UE received a SH culture inoculum solution (10⁶ UFC bird⁻¹) by gavage. Performance at 21 and 42 days (weight gain, feed intake and feed conversion), carcass and cuts yield, relative liver and fat weight at 42 days, blood biochemical profile at 40 days, jejunum morphometry at 28 days were evaluated. days, *Salmonella* spp. count in the cecum at 14 and 28 days and litter quality parameters at 28 and 40 days (dry matter, pH and ammonia). Data were submitted to analysis of variance and Tukey's test at 5% probability was used. The results of counting *Salmonella* spp. showed no normal distribution, so the Kruskal-Wallis test was used. In the initial phase (1 to 21 days) it was observed that the birds that received ration with antibiotic and those that received probiotic in the ration presented better results (P<0.05) of CA, as well as the treatment that received probiotic in the ration and in the bed. At the end of the experimental period, there was a lower CMR (P<0.05) of the treatments with probiotic in the ration and probiotic in the ration and in the bedding and a better result (P<0.05) of CA for the probiotic in the ration and into bed. The use of the probiotic did not change carcass and cuts yield, as well as blood biochemical parameters and intestinal morphometry. The use of the probiotic in the diets and in the litter provided a better performance in birds from 1 to 42 days of age, promoted an improvement in the quality of litter at 28 days of age, with lower ammonia concentration and lower humidity. It can be concluded that the probiotic improves performance, does not change intestinal morphometry, serum metabolites and hepatic and renal metabolism of birds and improves litter quality at 28 days.

Keywords: antibiotic, microbial resistance, probiotic strains, salmonellosis

3.1 Introdução

Mundialmente há uma demanda crescente na produção de alimentos, e o controle de riscos microbiológicos durante a cadeia de produção é um desafio constante (RUBY et al., 2019). Com o aumento na produção para atingir os níveis de consumo, os riscos microbiológicos aumentam (SHANG; TONSOR, 2017).

A utilização, de forma inadequada, de antibióticos pode resultar em resistência residual pelos patógenos, que pode ser prejudicial à saúde dos animais e do homem. Visando a restrição ou até exclusão do uso desses produtos em dietas para animais, como melhoradores de desempenho, surge como alternativa potencial o uso de aditivos probióticos (MIN et al., 2016).

O uso de probióticos nas dietas de aves pode melhorar a microbiota intestinal devido a efeitos como a redução no pH intestinal causada pela fermentação microbiana ácida (SARANGI et al., 2016). Esta, por sua vez, reduz o pH através da ação dos probióticos em aves em uma manutenção da microbiota intestinal normal por exclusão competitiva antagonista, competindo pela fixação da mucosa e nutrientes, produzindo bacteriocinas, estimulando o sistema imunológico associado ao intestino, aumentando a produção de ácidos graxos de cadeia curta (FERKET, 2011), modulando as funções bioquímicas associadas à quebra de nutrientes, fortalecendo a morfologia e fisiologia intestinal (PAN; YU, 2014).

Estudos relatam que os probióticos têm efeitos benéficos no desempenho de frangos de corte (SEN et al., 2012), neste sentido estão espécies probióticas pertencentes aos gêneros *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Bacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus*, *Aspergillus*, *Candida*, e *Saccharomyces* (ASHAYERIZA et al., 2009).

Os probióticos são utilizados como alimentos funcionais, pois promovem melhoria da saúde do hospedeiro e auxiliam no combate de doenças. Bactérias probióticas fazem parte da microbiota normal das aves e são produtos naturais, porém não apresentam todas as ações correspondentes aos antimicrobianos, também não geram resíduos nos produtos de origem animal e não estimulam a resistência às drogas utilizadas em humanos (SILVA; ANDREATTI FILHO, 2000). Atuam na microbiota intestinal pela produção de substâncias com ação antimicrobiana, competição por sítio de ligação e estímulo ao sistema imunológico (LEE et al., 2010). Também, são utilizados para corrigir disfunções do sistema imunológico, impedir a fixação de microrganismos patogênicos e estabilizar a função da barreira da mucosa intestinal (HOLZAPPELL et al., 1998).

Embasada nessas informações, a hipótese deste trabalho é de que os probióticos podem ser uma alternativa aos promotores de crescimento em rações de frangos de corte. Bem como

sua inclusão pode favorecer o desenvolvimento das vilosidades intestinais e proporcionar um melhor desempenho.

Desta forma, o presente estudo teve como objetivo avaliar o uso de probiótico em substituição ao antibiótico nas rações e o efeito do probiótico na cama de frangos de corte desafiados com SH e seus efeitos no desempenho, rendimento de carcaça e cortes, qualidade de cama, parâmetros bioquímicos do sangue, morfometria intestinal, peso relativo de órgãos, contaminação cecal e da cama por SH.

3.2 Material e métodos

O trabalho foi realizado no Centro de Pesquisa em Avicultura da Universidade Estadual do Oeste do Paraná – Unioeste, *campus* de Marechal Cândido Rondon/PR, em conformidade com a Resolução Normativa nº 37 de 15 de fevereiro de 2018 do Conselho Nacional de Controle e Experimentação Animal (CONCEA) e aprovação do Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UNIOESTE (Protocolo nº 20/2020).

As aves foram alojadas em um aviário de alvenaria com ventilação sob pressão negativa, em forma de túnel e resfriamento evaporativo. O aviário experimental utilizado possui 25 metros de comprimento e 8 metros de largura com divisões em boxes de 1,76m² contendo um comedouro tubular, bebedouro tipo nipple, fonte para aquecimento (resistência 250 watts) e piso de concreto, o qual foi recoberto com maravalha de pinus reutilizada por cinco lotes após período de descanso de 21 dias.

O programa de iluminação utilizado foi estruturado de acordo com recomendação do manual de linhagem, sendo nos 0 dias 24h de luz, 1º dia 1h de escuro, do 2º até 7º dia 10h de escuro, 8º até 22º dia 9h de escuro, 23º até 28º dia 8h de escuro e do 29º até 42º dia 6h de escuro. O resfriamento do ambiente e renovação do ar foi realizado por exaustores e placas evaporativas. A temperatura e umidade relativa média, mínima e máxima foram monitoradas diariamente e mantidas dentro da faixa de conforto térmico recomendada para cada fase.

Ao todo, 640 pintos de corte, machos, da linhagem comercial Cobb 500, com um dia de idade e peso médio inicial de $47,89 \pm 0,72g$ foram distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado, com 5 tratamentos, 8 repetições e 16 aves UE.

Os tratamentos foram compostos de:

CN – Ração controle sem antibiótico (Controle negativo);

CP – Ração controle com antibiótico (Controle positivo);

PROBR – Ração CN com a inclusão de 1 kg ton⁻¹ de probiótico na ração;

PROBC – Ração CN com a aplicação de 20 g m⁻² de probiótico na cama;

PROBRC – Ração CN com a inclusão de 1 kg ton⁻¹ de probiótico na ração e aplicação de 20 g m⁻² de probiótico na cama.

As dietas (isoproteicas e isocalóricas) foram formuladas à base de milho e farelo de soja, mediante a composição dos alimentos e exigências recomendadas por Rostagno et al. (2017) para as fases de 1 a 21 (inicial), 22 a 35 (crescimento) e de 36 a 42 (final) dias de idade (Tabela 1). As aves receberam ração na forma farelada e água *ad libitum* por todo o período experimental. A utilização do antibiótico (enramicina 8%), anticoccidiano (salinomicina 24%) e do probiótico foi realizada em substituição peso por peso (g g⁻¹) pelo material inerte da ração (caulim). Para a enramicina 8% foi utilizada a inclusão de 80 g ton⁻¹ nas rações inicial e crescimento. O anticoccidiano, salinomicina 24% foi utilizado na inclusão de 150 e 200 g ton⁻¹ nas fases inicial e crescimento, respectivamente. Na ração de fase final o tratamento CP não recebeu a inclusão de nenhum promotor de crescimento.

O produto probiótico utilizado continha açúcar, maltodextrina, cultura de *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus amilolyquefaciens*, *Bacillus subtilis*, levedura à base de *Saccharomyces cerevisiae*, soro de leite e caulim. Em análise de contagem, a concentração de microrganismos para cada grama de produto probiótico foi de 1,0 x 10⁶ UFC/g (*Bacillus thuringiensis*), 2,5 x 10⁶ UFC/g (*Bacillus amilolyquefaciens*), 2,0 x 10⁶ UFC/g (*Bacillus subtilis*) e 7,0 x 10⁸ UFC/g (*Saccharomyces cerevisiae*).

Para a aplicação do probiótico na cama, foi utilizada a quantidade de 35 g do produto por boxe (20 g m⁻² de cama), cinco dias antes do alojamento. O produto foi diluído em 2 litros de água destilada e aplicado na superfície da cama utilizando uma bomba costal previamente desinfetada com amônia quaternária. Após a aplicação, a cama foi revolvida para melhor distribuição do produto e antes do alojamento foi realizada a coleta de cama para avaliação de matéria seca, pH e amônia.

Aos 3 dias de idade, 4 aves por unidade experimental foram selecionadas, ao acaso, para receberem uma solução de inóculo de cultura com *Salmonella* Heidelberg (10⁶ UFC mL⁻¹). Cada ave selecionada recebeu diretamente no esôfago, próximo ao papo, 0,5 mL deste inóculo, sendo que após a gavagem todas as aves inoculadas foram identificadas com marcador (tinta à base de água), a fim de não serem utilizadas durante a seleção das aves para contagem de *Salmonella* spp. no ceco.

Tabela 1. Composição percentual e calculada das rações experimentais

Ingredientes g/kg	1 a 21 dias	22 a 35 dias	36 a 42 dias
Milho (7,88%)	528,6	581,2	642,8
Farelo de soja (46%)	401,6	344,0	293,2
Óleo de soja degomado	32,40	39,20	35,50
Fosfato bicálcico	16,40	14,40	10,60
Calcário calcítico	7,60	7,00	5,80
Sal pecuário	3,70	3,90	3,10
Bicarbonato de sódio	1,50	1,50	2,00
Lisina sulfato (54,7%)	1,90	2,90	2,40
DL-Metionina (99%)	3,10	2,70	2,30
L-Treonina (99%)	0,40	0,30	0,20
Cloreto de colina (60%)	0,50	0,50	-
Antioxidante (BHT)	0,10	0,10	0,10
Premix vitamínico ¹	0,50	0,50	0,50
Premix mineral ²	0,50	0,50	0,50
Inerte (caulim) ³	1,20	1,30	1,00
Composição nutricional calculada			
Energia metabolizável (kcal kg ⁻¹)	3.050	3.150	3.200
Proteína bruta (g kg ⁻¹)	231,90	209,20	189,90
Lisina digestível (g kg ⁻¹)	12,50	11,24	10,14
Met. + Cist. digestível (g kg ⁻¹)	9,25	8,32	7,50
Treonina digestível (g kg ⁻¹)	8,25	7,42	6,69
Valina digestível (g kg ⁻¹)	9,63	8,65	7,81
Triptofano digestível (g kg ⁻¹)	2,68	2,37	2,11
Arginina digestível (g kg ⁻¹)	14,56	12,91	11,48
Cálcio (g kg ⁻¹)	8,38	7,48	5,92
Fósforo disponível (g kg ⁻¹)	4,19	3,74	2,96
Sódio (g kg ⁻¹)	2,00	2,00	1,90
Potássio (g kg ⁻¹)	9,04	8,15	7,40

¹Suplemento vitamínico, composição por kg de produto: Vitamina A (min) 11000000U.I.; Vitamina D3 (min) 4000000U.I.; Vitamina E (min) 55000U.I.; Vitamina K3 (min) 3000mg; Vitamina B1 (min) 2300mg; Vitamina B2 (min) 7000mg; Ácido pantotênico (min) 12g; Vitamina B6 (min) 4000mg; Vitamina B12 (min) 25000mcg; Ácido nicotínico (min) 60g; Ácido fólico (min) 2000mg; Biotina (min) 250mg; Selênio (min) 300 mg;

²Suplemento mineral, composição por kg de produto: Ferro (min) 100g; Cobre (min) 20g; Manganês (min) 130g; Zinco (min) 130g; Iodo (min) 2000mg.

³Inerte. O inerte utilizado foi à base de caulim, sendo a inclusão do Probiótico (1 kg ton⁻¹) em função da substituição de peso por peso pelo inerte. A utilização do anticoccidiano foi realizada em substituição de peso por peso pelo inerte, sendo utilizado o coxistac 24% (salinomicina) na inclusão de 150 e 200 g ton⁻¹ nas fases inicial e crescimento, respectivamente. A utilização do modulador de crescimento foi realizada em substituição de peso por peso pelo inerte, sendo utilizado o Enradin 8% (enramicina) na inclusão de 80 g ton⁻¹ nas rações inicial e crescimento.

A cultura utilizada foi produzida por cepa de *Salmonella* Heidelberg isolada a campo, tornada resistente aos antibióticos (ácido nalidíxico e novobiocina), os quais foram incorporados ao ágar verde brilhante para inibir e facilitar a contagem. A bactéria (SH) foi

multiplicada em caldo BHI (*Brain Heart Infusion*) por 18 a 24 horas a 37 °C até alcançar a concentração de 10^{-9} UFC mL⁻¹. Posteriormente, foram diluídas para a concentração de 10^{-6} UFC mL⁻¹, sendo esta concentração utilizada a campo.

O peso e o consumo de ração foram registrados aos 21 e 42 dias de idade, para avaliação do ganho de peso (GP), consumo médio de ração (CMR) e conversão alimentar (CA). A mortalidade foi observada diariamente e os comedouros foram pesados para a realização das correções no consumo de ração e conversão alimentar (SAKOMURA; ROSTAGNO, 2016).

Aos 42 dias de idade, duas aves por unidade experimental foram selecionadas aleatoriamente, pesadas, marcadas e abatidas. As carcaças foram pesadas e espotejadas, obtendo as pernas (coxa e sobrecoxa), asa, filé de peito e sassami, os quais foram pesados individualmente. O rendimento de carcaça foi determinado pelo peso da carcaça em função do peso vivo da ave. O rendimento de cortes foi determinado em função do peso dos cortes e o peso da carcaça.

O fígado e a gordura abdominal (constituída pelo tecido adiposo presente ao redor da cloaca, moela, proventrículo e dos músculos abdominais adjacentes) foram separados e pesados para determinar o peso relativo deles em função do peso vivo da ave.

Aos 40 dias de idade foram coletadas amostras de sangue de duas aves por unidade experimental. Tais aves foram submetidas a um jejum de 6 horas e, posteriormente, o sangue foi colhido via punção ulnar, com as aves em posição de decúbito lateral, utilizando-se tubos específicos de coleta a vácuo com capacidade de 4 mL, adaptadores específicos e agulhas de 25 x 0,8 mm.

Após a colheita, os tubos permaneceram 15 minutos em decúbito horizontal e, posteriormente, os tubos foram centrifugados a 2500 rpm (1050g) por 10 minutos em temperatura ambiente. Após a separação do soro, as amostras foram identificadas e acondicionadas em microtubos de 2 mL, sendo armazenados em freezer a -20°C, até o momento da realização das análises (NUNES et al., 2018).

As leituras realizadas foram para glicose, colesterol, triglicérides, AST (aspartato aminotransferase), ALT (alanina aminotransferase), GGT (gamma glutamiltransferase), proteínas totais, albumina e creatinina, utilizando analisador bioquímico automático flexor EL200 (Elitech group, Netherlands) utilizando reagentes, calibradores (Elical II) e padrões de aferição (Elitrol I) da marca Elitech®.

Para avaliação da morfometria intestinal (altura de vilosidade, profundidade de cripta, relação altura de vilosidade: profundidade de cripta e área de absorção) uma ave por unidade experimental foi abatida por deslocamento cervical para retirada do aparelho digestivo aos 28

dias. O intestino delgado foi exposto, separado em duodeno, jejuno e íleo, sendo identificado o divertículo de Meckel e realizada a coleta de um fragmento com aproximadamente 2 cm a 5 cm antes do divertículo de Meckel. Os fragmentos de jejuno foram fixados em solução de formalina tamponada (10%), desidratados em séries crescentes de etanol e incluídos em parafina. Cortes semisseriados de 5 µm de cada segmento foram dispostos em lâmina de vidro e corados pela técnica de hematoxilina-eosina, de acordo com Luna (1968).

As mensurações foram realizadas utilizando o sistema de imagens PROPLUS IMAGE 4.1. Para cada lâmina, foram mensurados o comprimento e a largura de 20 vilos e a profundidade e largura de 20 criptas. Estas medidas morfométricas foram utilizadas para o cálculo da área da superfície de absorção da mucosa intestinal, através da fórmula proposta por (KISIELINSKI et al., 2002). Em adição, foi calculada a relação altura de vilo: profundidade de cripta, dividindo-se o valor da altura do vilo pelo valor de profundidade de cripta.

Para avaliação da contaminação cecal por SH, foi realizada a contagem de *Salmonella* spp. Para tanto, duas aves por unidade experimental foram eutanasiadas por deslocamento cervical aos 14 e 28 dias de idade. Após o abate foi retirado o ceco de cada ave e realizado um pool de amostra contendo o conteúdo de dois cecos (sendo cada ceco proveniente de uma repetição de seu respectivo tratamento). As amostras foram mantidas em refrigeração e imediatamente encaminhadas ao laboratório. Para a detecção de *Salmonella* spp. nas amostras coletadas, as mesmas foram maceradas, homogeneizadas e diluídas de forma seriada com solução salina na proporção de 1:10 até a diluição 10^{-4} . Cada diluição foi semeada com alça de Drigalski em ágar verde brilhante (acrescido de ácido naldíxico e novobiocina) e incubados a $37 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24-48 horas. Após a incubação foi realizada a leitura das placas e contagem das colônias. As colônias suspeitas de *Salmonella* foram selecionadas para confirmação bioquímica e sorológica, conforme White Kauffman – Le Minor Scheme 2007 (GUIBOURDENCHE et al., 2010).

Para avaliação da qualidade de cama foram coletadas amostras de cama das unidades experimentais aos 28 e 40 dias em 5 pontos diferentes, evitando as regiões embaixo dos comedouros e bebedouros. O material coletado foi homogeneizado e acondicionado em sacos plásticos identificados.

Para determinação da matéria seca, as amostras de cama foram pesadas em pratos de alumínio para posteriormente serem secas em estufa a 85°C por 72 horas, e então novamente pesadas, sendo a matéria seca determinada pela razão entre a diferença do peso antes da estufa menos o peso pós-estufa, dividido pelo peso antes da estufa, segundo Silva e Queiroz (2002).

Para análise do potencial hidrogeniônico (pH), foi pesado em torno de 30g de amostra de cama in natura, a qual foi macerada em um béquer adicionando 250 mL de água deionizada e então agitada por um período de 5 minutos. Dada amostra repousou por 30 minutos para posterior leitura de pH com auxílio de um pHmetro digital (TEDESCO et al., 1995).

Para a determinação de amônia na cama foi pesado aproximadamente 100 gramas de amostra de cama em um frasco de capacidade de 500 mL. Sobre essa amostra foi colocado um frasco menor contendo 10 mL de solução de ácido bórico a 2%. Os frascos foram então fechados e suas tampas lacradas para evitar a perda de amônia. Posteriormente, os frascos foram incubados por 24 horas em estufa a 30°C. Após esse período o frasco contendo o ácido bórico foi retirado e titulado com solução de ácido sulfúrico a 0,05N. A quantidade de amônia volatilizada foi determinada utilizando a equação: $A = V \times 0,05 \times 17$, onde: A= amônia volatilizada (mg 100g⁻¹ de amostra); V= volume de ácido sulfúrico utilizado na titulação (mL); 0,05 = normalidade do ácido sulfúrico e 17 = peso molecular da amônia (HERNANDES; CAZETTA, 2001).

Os dados foram submetidos à análise de normalidade e de variância. Havendo efeito significativo, foi realizado o teste de Tukey a 5% de probabilidade para comparar as médias. Na variável de contagem de *Salmonella* spp. os dados foram transformados em valores log₁₀ UFC g⁻¹ e não apresentaram distribuição normal, para tanto foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis a 5% de probabilidade. Todos os procedimentos estatísticos foram realizados utilizando o programa estatístico SAS (SAS, 2014).

3.3 Resultados e discussão

Aos 21 dias de idade as aves que receberam a suplementação de aditivo alimentar (CP; PROBR; PROBRC) apresentaram as melhores CA e os maiores ganho de peso. O uso do probiótico nas dietas das aves e sua combinação com a utilização deste na cama proporcionaram os melhores resultados de CA aos 42 dias de idade. A CA das aves do grupo CN e das aves que receberam o probiótico apenas na cama (PROBC) foram os piores valores observados durante todo o período experimental (1 a 42 dias de idade).

Tabela 2. Desempenho de frangos de corte de 1 a 21 e 1 a 42 dias de idade desafiados com *Salmonella* Heidelberg e alimentados com dietas contendo ou não probiótico

Tratamento	1 a 21 dias			1 a 42 dias		
	GPM (g)	CMR (g)	CA	GPM (g)	CMR (g)	CA
CP	916 ^a	1275	1,393 ^c	3274 ^a	5165 ^a	1,578 ^{bc}
CN	860 ^{ab}	1250	1,437 ^b	3138 ^c	5056 ^{ab}	1,611 ^a
PROBR	895 ^a	1250	1,396 ^c	3212 ^{abc}	5023 ^b	1,564 ^{cd}
PROBC	833 ^b	1227	1,474 ^a	3178 ^{bc}	5069 ^{ab}	1,596 ^{ab}
PROBRC	914 ^a	1264	1,383 ^c	3242 ^{ab}	5005 ^b	1,544 ^d
EPM	41,15	49,22	0,02	59,60	78,83	0,02
CV (%)	4,65	3,93	1,48	1,86	1,56	1,23
P	0,001	0,417	0,0001	0,001	0,003	0,0001

CP= Controle Positivo; CN= Controle Negativo; PROBR= Probiótico na ração; PROBC= Probiótico na cama; PROBRC= Probiótico na ração e na cama; EPM= erro padrão da média; CV (%) = coeficiente de variação; CMR= consumo médio de ração; GPM= ganho de peso médio; CA= conversão alimentar ^{a,b,c}; Médias seguidas de letras diferentes diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

O desafio ocasionado pela ação da SH foi eficiente ao prejudicar o desempenho das aves, contudo com a utilização de antibiótico e o probiótico na ração foi possível inibir os efeitos deletérios da *Salmonella* Heidelberg, promovendo um melhor desempenho e uma melhor conversão alimentar. Este efeito benéfico pode estar relacionado à modulação da microbiota intestinal, melhor utilização dos nutrientes e menor gasto energético pelo sistema imune.

A melhoria no peso médio dos animais com o uso de probiótico nas rações pode estar associada ao tipo de microrganismos utilizados. O efeito de *B. subtilis* no aumento do desempenho pode estar relacionado ao aumento na produção de enzimas digestivas, fato que tende a melhorar a digestão dos nutrientes da dieta (LARSEN et al., 2014).

O uso de diferentes doses de probióticos também pode causar variações nas respostas do desempenho e parâmetros de carcaça, sendo que a concentração ideal de probióticos a serem usados em rações de frangos tende a variar dependendo dos microrganismos utilizados na elaboração do produto (POURAKBARI et al., 2016). A variabilidade de cepas utilizadas na elaboração dos probióticos pode afetar de forma benéfica o desempenho das aves, as quais podem modular a microbiota intestinal e proporcionar efeitos benéficos aditivos, como aumento na digestibilidade de nutrientes (LARSENS et al., 2014), melhoria na morfometria intestinal e na microbiota cecal (LEI et al., 2015). O uso do probiótico pode explicar o estabelecimento precoce de microbiota benéfica e inibir patógenos, potencializando um efeito protetor e aumentando a resistência do hospedeiro à infecção, reduzindo a necessidade de uso profilático de medicamentos (PATTERSON; BURKHOLDER, 2003).

Supriyat et al. (2015) ao utilizarem *B. amyloliquefaciens* com farelo de arroz fermentado na alimentação de frango de corte, observaram melhora para ganho de peso e conversão alimentar. Correa et al. (2003), estudando frangos de corte alimentados com dietas contendo *B. subtilis*, observaram redução no consumo de ração de 6,03% na fase inicial. Essa melhora pode ser devido a uma crescente população de microrganismos não patogênicos no intestino, melhorando o desempenho das aves (KOMPIANG et al., 2002). Cao e Zhan (2018) encontraram índices positivos no desempenho, melhoras na imunidade, inibição de patógenos, disponibilidade enzimática e melhora na digestibilidade de alimentos ao utilizar *Bacillus amyloliquefaciens* nas dietas.

Em trabalho realizado por Gharib-Naseri et al. (2020) constataram que a suplementação de *B. amyloliquefaciens* pode melhorar o ganho de peso e conversão alimentar em aves de corte. Lei et al. (2015) encontraram resultados que indicam que a suplementação com 30 mg kg⁻¹ e 60 mg kg⁻¹ de *B. amyloliquefaciens* melhorou o desempenho de frangos de corte. Essa melhora foi associada ao efeito positivo da utilização de nutrientes e da morfologia intestinal.

A *Saccharomyces cerevisiae* também pode ter influenciado positivamente nos resultados, os quais foram semelhantes quando se utilizou o probiótico na ração de controle positivo, demonstrando que o uso de probióticos é uma alternativa que pode vir a substituir os antibióticos. Hana et al. (2015) relataram que frangos de corte alimentados com dietas contendo 3,0 g de produto de levedura probiótica por kg de dieta apresentaram peso corporal (P<0,05) maior do que as aves nos grupos controle e suplementados com neomicina (antibiótico).

Diversos fatores podem influenciar os efeitos com o uso dos probióticos. De Souza et al. (2018) não observaram melhor ganho de peso ou conversão alimentar em frangos suplementados com probióticos contendo *B. subtilis* por 42 dias. Segundo esses autores, o desafio sanitário a que as aves foram submetidas pode não ter sido suficiente para verificar os efeitos benéficos dos probióticos. Sarangi et al. (2016) alimentaram frangos de corte de um dia de idade com dietas de controle e basais suplementadas com prebióticos e probióticos. Os resultados observados por esses autores não demonstraram aumento no peso corporal dos frangos alimentados com dietas suplementadas com probióticos e prebióticos, em contraponto àqueles alimentados com dietas controle.

Para características de rendimento de carcaça, rendimentos de corte e peso relativo do fígado e gordura (Tabela 3), não foram encontradas diferenças (P>0,05) entre os tratamentos.

Tabela 3. Rendimento de carcaça, cortes e peso relativo de órgãos de aves desafiadas com *Salmonella* Heidelberg e alimentados com dietas contendo ou não probiótico

Tratamento	RC (%)	RF (%)	RP (%)	RA (%)	RS (%)	PRF (%)	PRGA (%)
CP	68,49	18,48	21,17	6,97	3,64	2,03	1,23
CN	68,45	19,70	20,83	6,52	3,93	2,08	1,27
PROBR	69,07	19,93	20,57	6,37	3,86	2,05	1,20
PROBC	68,94	19,40	20,48	6,59	3,78	2,09	1,16
PROBRC	69,04	18,91	20,61	6,30	3,67	1,96	1,34
EPM	1,42	1,11	0,76	0,48	0,31	0,17	0,28
CV (%)	2,07	5,74	3,65	7,31	8,14	8,46	22,83
P	0,836	0,082	0,395	0,068	0,308	0,635	0,744

CP= Controle Positivo; CN= Controle Negativo; PROBR= Probiótico na ração; PROBC= Probiótico na cama; PROBRC= Probiótico na ração e na cama; EPM= erro padrão da média; CV (%) = coeficiente de variação; RC= Rendimento de carcaça; RF= Rendimento de filé do peito; RP= Rendimento de pernas; RA= Rendimento de asas; RS= Rendimento de sassami; PRF= peso relativo do fígado; PRGA= peso relativo da gordura abdominal; P= probabilidade pelo teste de Tukey a 5%.

A ausência de diferenças entre as características de carcaças das aves submetidas aos diferentes tratamentos, indica que a utilização do produto probiótico não foi suficiente para influenciar as variáveis analisadas. Assemelhando-se ao apresentado nos estudos de Abdel-Hafeez et al. (2017), Hidayat et al. (2016) e Nosrati et al. (2017), os quais utilizaram melhoradores de desempenho alternativos e convencionais nas dietas para aves.

Da Silva et al. (2011) avaliaram o uso de diferentes promotores de crescimento para frangos de corte, e não observaram qualquer efeito em rendimento de carcaça ou percentual de gordura abdominal com 42 dias de idade.

Ashayeriza et al. (2009) ao utilizarem probiótico comercial para frangos de corte, composto por *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus*, *Enterococcus faesium* e *Bifidobacterium thermophilum*, não observaram diferença no rendimento de carcaça para as aves que receberam probiótico e antibiótico. No entanto, estes autores verificaram diferença pelo emprego desses aditivos em relação ao grupo controle, formulado de acordo com o NRC 1994.

Deleco et al. (2010) observaram maior rendimento de peito em frangos alimentados com dieta suplementada com uma mistura de probióticos, comparado com a dieta sem promotor de crescimento, aos 43 dias.

Para parâmetros bioquímicos e atividade enzimática de metabolitos do sangue (Tabela 4) não foram encontradas diferenças ($P > 0,05$) entre os tratamentos. As condições de saúde, nutrição, clima e manejo a que os animais são submetidos podem refletir nos resultados dos seus constituintes bioquímicos séricos (MINAFRA et al., 2010).

Tabela 4. Parâmetros bioquímicos do sangue de aves desafiadas com *Salmonella* Heidelberg e alimentadas com dietas contendo ou não probiótico

Tratamento	AU	ALT	ALB	AST	COL	CREA	GGT	GLI	PT	TRI
CP	4,64	9,45	16,45	354,79	120,51	0,17	17,34	226,38	29,24	32,69
CN	4,44	9,41	16,27	375,34	121,18	0,16	17,86	235,66	29,53	32,32
PROBR	4,64	9,48	16,13	367,56	119,46	0,18	16,31	229,90	29,64	36,78
PROBC	3,49	9,98	16,04	392,34	117,53	0,17	16,10	232,63	29,65	32,17
PROBRC	3,79	9,84	16,08	379,42	117,63	0,16	16,59	231,44	29,62	34,42
EPM	1,60	2,60	1,17	85,80	13,40	0,03	3,10	15,23	2,36	6,98
CV (%)	38,15	26,97	7,22	22,95	11,24	20,21	18,42	6,59	7,98	20,72
P	0,164	0,958	0,866	0,792	0,919	0,432	0,503	0,554	0,990	0,300

CP= Controle Positivo; CN= Controle Negativo; PROBR= Probiótico na ração; PROBC= Probiótico na cama; PROBRC= Probiótico na ração e na cama; EPM= erro padrão da média; CV (%) = coeficiente de variação; AU= Ácido úrico; ALT= Alanina aminotransferase; ALB= Albumina; AST= Aspartato aminotransferase; COL= Colesterol; CREA= Creatinina; GGT= Gamma glutamiltransferase; GLI= Glicose; PT= Proteínas totais; Tri= Triglicerídeos; P= probabilidade pelo teste de Tukey a 5%.

O desafio da SH realizado no presente estudo não alterou o metabolismo das aves, pois não há alterações nas respostas metabólicas, hepática e renal. Assim como a utilização do probiótico não causou efeitos tóxicos, sendo possível o utilizar sem alterar os metabólitos séricos, hepático e renal.

A não diferença na creatinina indica que não houve comprometimento das funções renais, assim como nas pesquisas de Konan et al. (2007). Alterações nas atividades das enzimas ALT e AST podem ser usadas para diagnósticos de doenças hepáticas. Não haver diferenças entre os tratamentos indica que o uso de probióticos não comprometeu o funcionamento do fígado, o que corrobora com o estudo realizado por Schmidt et al. (2007), os quais utilizaram *Lactobacillus*, *Acetobacter* e leveduras do gênero *Pichia* na dieta de frangos de corte e não verificaram alterações nas atividades da ALT e AST.

Segundo Al-Saad et al. (2014), o uso de probiótico *Bacillus subtilis* na dieta de frangos de corte pode reduzir o valor do colesterol e triglicerídeos devido a maior hidrólise bacteriana dos sais biliares no intestino, porém essa redução não foi observada no presente estudo.

Para morfometria intestinal (Tabela 5) não foram encontradas diferenças ($P > 0,05$) entre os tratamentos. Aves que não receberam antibiótico e probiótico na alimentação tendem a apresentar maior relação vilos:cripta e uma maior área de absorção, pois demandam maior densidade energética para desenvolvimento das criptas e vilos, o que pode ocasionar um menor desempenho das aves até os 28 dias de idade.

Tabela 5. Morfometria intestinal, jejuno, aos 28 dias de aves desafiadas com *Salmonella* Heidelberg e alimentadas com dietas contendo ou não probiótico

Tratamento	Altura de Vilo (µm)	Profundidade de Cripta (µm)	Relação V:C	Área de absorção (µm ²)
CP	859,58	157,38	5,88	12,73
CN	844,38	139,50	6,24	13,56
PROBR	886,00	162,50	5,67	11,90
PROBC	889,50	126,63	6,92	13,62
PROBRC	823,05	144,25	5,95	12,80
EPM	134,58	29,45	1,39	3,44
CV (%)	15,64	20,17	22,72	26,58
P	0,843	0,133	0,481	0,850

CP= Controle Positivo; CN= Controle Negativo; PROBR= Probiótico na ração; PROBC= Probiótico na cama; PROBRC= Probiótico na ração e na cama; EPM= erro padrão da média; CV (%) = coeficiente de variação; P= probabilidade pelo teste de Tukey a 5%.

Min et al. (2016) demonstraram que a suplementação com *Bacillus subtilis* e mananoligossacarídeos, em dietas basais para frangos de corte de 21 a 42 dias de idade, aumentou o ganho de peso em 1,17% e altura de vilosidades duodenais, melhorando a superfície de absorção.

Mountzouris et al. (2015) observaram que a *Salmonella* pode reduzir o desempenho em frangos de corte por intervir na integridade intestinal. É possível que o dano que a bactéria promova na mucosa no TGI dos frangos ao lesionar o epitélio intestinal interfira na digestão e, principalmente, na absorção dos nutrientes (BORSOI et al., 2011).

A profundidade de cripta indica a renovação celular existente nos vilos em resposta à perda de células pela descamação ou inflamações de patógenos e toxinas produzidas por eles. Quando a intensidade da renovação celular é aumentada, mais energia da dieta é requerida, o que pode proporcionar menor disponibilidade energética para o crescimento do animal (SANTOS et al., 2019).

Segundo He et al. (2019) e Ramlucken et al. (2020), a composição probiótica é importante porque certas bactérias, como o *B. subtilis*, são aeróbias e fornecem um ambiente adequado para *Lactobacilos* e Bifidobactérias em condições anaeróbias, que subsequentemente produzem ácidos e reduzem o pH intestinal, prevenindo o crescimento de microrganismos patogênicos.

A suplementação probiótica em aves pode favorecer a histomorfometria intestinal, tendo assim resultados positivos, pois tende a apresentar um aumento da superfície intestinal de absorção de nutrientes (Muthusamy et al., 2011). Wang et al. (2016) relataram que a

suplementação dietética de levedura probiótica (*S. cerevisiae*) foi capaz de aliviar a inflamação induzida por *Salmonella* em frangos de corte.

Os probióticos conseguem gerar ácidos orgânicos, dificultando a sobrevivência e multiplicação de patógenos, diminuindo o risco de infecção, garantindo a homeostase da mucosa intestinal, mantendo-a em boas condições (SAINT-CYR et al., 2017).

As bactérias probióticas também protegem os vilos e as superfícies absorptivas contra toxinas produzidas pelos microrganismos patogênicos, permitindo, assim, a regeneração da mucosa intestinal lesada (DOBROGOSZ et al., 1991). Tamanho e densidade das vilosidades estão diretamente relacionados com perda de células (extrusão) e renovação celular (turnover) pelo epitélio da mucosa intestinal (MAIORKA et al., 2002). O equilíbrio entre esses dois processos determina um *turnover* constante, a manutenção do tamanho dos vilos, manutenção da capacidade digestiva e de absorção intestinal.

O aumento da profundidade de cripta favorece uma maior proliferação celular garantindo assim uma renovação epitelial, compensando perdas que ocorrem nas extremidades das vilosidades (PLUSKE et al., 1997). As divisões mitóticas nas criptas respondem por cerca de 60% da proliferação celular, a região média dos vilos por 32% e a região apical por 8% (HERDT et al., 2004).

O aumento na relação vilos:cripta pode ser um indicativo de melhor capacidade digestiva e absorptiva do intestino delgado, porém ela não é um fator determinante, a altura de vilo e o tipo celular são fatores mais relevantes, assim como a quantidade de muco que essas células produzem (AGYEKUM; NYACHOTI, 2017; PICKLER et al., 2012).

O muco é produzido por células caliciformes, quando produzido em grande quantidade significa que pode haver algum tipo de desafio sanitário que demande maior produção, esse muco em excesso pode trazer prejuízos para as aves, pois aumenta o trânsito intestinal, reduzindo a absorção dos nutrientes (PICKLER et al., 2012).

Para a contagem de *Salmonella* spp. no ceco, \log_{10} UFC g^{-1} , aos 14 e 28 dias (Tabela 6), não foram encontradas diferenças ($P > 0,05$) entre os tratamentos. O principal local de colonização da *Salmonella* em aves é o ceco, elas se infectam por via oral em função da presença da bactéria no ambiente, e quando esse patógeno chega ao intestino, invade as células epiteliais e os leucócitos são atraídos para o local, iniciando assim a fase sistêmica da infecção (MUNIZ, 2012).

Tabela 6. Contagem de *Salmonella* spp. no ceco, \log_{10} UFC g^{-1} , de aves desafiadas com *Salmonella* Heidelberg e alimentadas com dietas contendo ou não probiótico

Tratamento	14 dias	28 dias
CP	3,88	1,76
CN	3,48	1,57
PROBR	3,41	1,45
PROBC	3,25	1,75
PROBRC	3,51	1,59
EPM	1,26	0,74
CV (%)	35,87	45,77
P	0,894	0,912

CP= Controle Positivo; CN= Controle Negativo; PROBR= Probiótico na ração; PROBC= Probiótico na cama; PROBRC= Probiótico na ração e na cama; EPM= erro padrão da média; CV (%) = coeficiente de variação; P: probabilidade pelo teste de Kruskal-Wallis a 5%.

Quando se tem redução da quantidade de *Salmonella* Heidelberg nos cecos das aves mostra que há alguma substância responsável pela comunicação entre as bactérias (ADAK et al., 2011), sendo que Zhen et al. (2018) verificaram maior incidência de *Lactobacilos sp.* e Bifidobacterias e menor de *Salmonella* no ceco de frangos que receberam o *Bacillus coagulans* na ração.

Estudos realizados por Menconi et al. (2011) constataram que probiótico a base de *Lactobacillus* spp. na água de bebida, reduziu a presença de *Salmonella* Heidelberg em tonsilas e conteúdo cecal em 24 e 72 horas após o desafio em frangos de corte. As bactérias probióticas podem exercer atividades imunomoduladoras através de suas interações com o sistema imunológico do hospedeiro. Essas interações podem levar ao aprimoramento de anticorpos naturais e antígenos-específicos (DAVIES et al., 2009; AMIT-ROMACH et al., 2010; CAI et al., 2010).

O controle de unidades formadoras de colônias no ceco pode estar correlacionado com a exclusão competitiva, em que o probiótico compete com os patógenos por sítios de fixação e nutrientes, impedindo sua adesão na célula alvo (CROSS, 2002). Componentes dos probióticos podem produzir e liberar bacteriocinas, ácidos orgânicos e peróxido de hidrogênio, que podem ter ação antibacteriana em relação às bactérias patogênicas (SILVA, 2000).

Aos 28 dias verificou-se menor porcentagem de matéria seca (MS) para as aves do CN e para as aves do PROBC ($P < 0,05$), enquanto para a concentração de amônia foi observada uma maior concentração ($P < 0,05$) no controle negativo quando usado o probiótico somente na cama, se comparado aos demais tratamentos. Na qualidade de cama não foram encontradas diferenças ($P > 0,05$) para MS, concentração de amônia e pH aos 40 dias do período experimental (Tabela 7).

Tabela 7. Qualidade da cama de frangos de corte desafiados com *Salmonella* Heidelberg e alimentados com dietas contendo ou não probiótico

Tratamento	28 dias			40 dias		
	MS (%)	mgNH ₃	pH	MS (%)	mgNH ₃	pH
CP	63,67 ^a	1,641 ^b	8,69	68,87	7,86	8,88
CN	58,93 ^{bc}	2,187 ^{ab}	8,43	66,35	9,58	8,90
PROBR	62,50 ^{ab}	1,707 ^b	8,67	69,08	8,74	8,87
PROBC	58,42 ^c	2,719 ^a	8,43	70,79	7,36	8,88
PROBRC	61,91 ^{abc}	1,624 ^b	8,62	67,72	7,57	8,89
EPM	2,49	0,41	0,26	6,00	1,92	0,14
CV (%)	4,07	21,18	3,07	8,76	23,52	1,59
P	0,0004	0,0001	0,1438	0,661	0,169	0,997

CP= Controle Positivo; CN= Controle Negativo; PROBR= Probiótico na ração; PROBC= Probiótico na cama; PROBRC= Probiótico na ração e na cama; EPM= erro padrão da média; CV (%) = coeficiente de variação; MS= Matéria seca; mgNH₃= Concentração de amônia ^{a,b,c}; Médias seguidas de letras diferentes, diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

A ausência de influência do uso de probióticos sobre a porcentagem de umidade na cama dos frangos de corte também foi relatada por De Cesare et al. (2017). Com a maior excreção de água pelas aves a umidade da cama tende a aumentar, podendo o fato ser ocasionado por problemas sanitários nos animais ou pela presença de substâncias que causem distúrbios intestinais nas aves (VIEIRA et al., 2015).

A umidade controla a volatilização da amônia, já o aumento da umidade na cama vai ocasionar uma maior liberação de amônia. O pH da cama também influencia a liberação de amônia, que diminui quando o pH se encontra abaixo de 7,0 (CARVALHO et al., 2011).

Estudos semelhantes também não observaram efeitos sobre as variáveis de qualidade de cama, como umidade (DE CESARE et al., 2017), pH e amônia (FURTADO et al., 2010). Melo (2018), utilizando bactérias dos gêneros *Lactobacillus* e leveduras, como probiótico para frangos de corte, não encontrou influência do probiótico sobre a volatilização da amônia, diferindo dos resultados encontrados por Sharma et al. (2017).

Em trabalho realizado por Zhang et al. (2013), utilizando suplementação dietética de *B. subtilis*, observou-se redução na emissão de NH₃ em aves, que pode estar relacionada à melhora da atividade das enzimas endógenas e à utilização de nitrogênio (SANTOSO et al., 1999; TANAKA; SANTOSO, 2000).

3.4 Conclusões

As aves desafiadas com *Salmonella* Heidelberg têm seu desempenho comprometido, e a utilização do probiótico na ração e cama composto por *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus amilolyquefaciens*, *Bacillus subtilis* e *Saccharomyces cerevisiae* mostrou-se eficaz em substituir os antibióticos, pois proporciona uma melhor conversão alimentar das aves de 1 a 42 dias de idade, melhora a qualidade de cama aos 28 dias e não altera os metabólitos séricos e o metabolismo hepático e renal das aves, assim como a morfologia intestinal.

3.5 Referências bibliográficas

ABDEL-HAFEEZ, H. M.; SALEH, E. S. E.; TAWFEEK, S. S.; YOUSSEF, I. M. I.; ABDEL-DAIM, A. S. A. Effects of probiotic, prebiotic, and synbiotic with and without feed restriction on performance, hematological indices and carcass characteristics of broiler chickens. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 30, n. 5, p. 672–682, 2017.

ADAK, S.; UPADRASTA, L.; KUMAR, S.; SONI, R.; BANERJEE, R. Quorum quenching—an alternative antimicrobial therapeutics. **Formatex.Info**, n. April 2015, p. 586–593, 2011.

AL-SAAD, S.; ABBOD, M.; YONES, A. A. Effects of some Growth Promoters on Blood Hematology and Serum Composition of Broiler Chickens. **International Journal of Agricultural Research**, v. 9, n. 5, p. 265–270, 2014.

AMIT-ROMACH, E.; UNI, Z.; REIFEN, R. Multistep mechanism of probiotic bacterium, the effect on innate immune system. **Molecular nutrition e food research**, v. 54, n. 2, p. 277-284, 2010.

ASHAYERIZA, A.; DABIRI, N.; ASHAYERIZA, O.; MIRZADEH, K. H.; ROSHANFEKR, H.; MAMOOEE, M. Effect of Dietary Antibiotic, Probiotic and Prebiotic as Growth Promoters, on Growth Performance, Carcass Characteristics and Hematological Indices of Broiler Chickens. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, v. 12, n. 1, p. 52–57, 2009.

BORSOI, A.; RUSCHEL DO SANTOS, L.; BEATRIZ RODRIGUES, L.; LUIZ DE SOUZA MORAES, H.; TADEU PIPPI SALLE, C.; PINHEIRO DO NASCIMENTO, V. Behavior of salmonella heidelberg and salmonella enteritidis strains following broiler chick inoculation: evaluation of cecal morphometry, liver and cecum bacterial counts and fecal excretion patterns. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 42, p. 266–273, 2011.

CAI, S.; BAY, B. H.; LEE, Y. K.; LU, J.; MAHENDRAN, R. Live and lyophilized Lactobacillus species elicit differential immunomodulatory effects on immune cells. **FEMS microbiology letters**, v. 302, n. 2, p. 189-196, 2010.

CAO, G.T.; ZHAN, X.A.; ZHANG, L.L.; ZENG, X.F.; CHEN, A.G.; YANG, C.M. Modulation of broilers caecal microflora and metabolites in response to a potential probiotic *Bacillus amylolyquefaciens*. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**. v.02, p.909-

917, 2018.

CORRÊA, G. S. S.; GOMES, A. V. C.; CORRÊA, A. B.; SALLES, A. S.; MATTOS, E. S. Efeito de antibiótico e probióticos sobre o desempenho e rendimento de carcaça de frangos de corte. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.55, p.467-473, 2003.

DA SILVA, W. T. M.; NUNES, R. V.; POZZA, P. C.; DOS SANTOS POZZA, M. S.; APPELT, M. D.; EYNG, C. Avaliação de inulina e probiótico para frangos de corte. **Acta Scientiarum - Animal Sciences**, v. 33, n. 1, p. 19–24, 2011.

DAVIES, J.M.; SHEIL, B.; SHANAHAN, F. Bacterial signalling overrides cytokine signalling and modifies dendritic cell differentiation. **Immunology**, v. 128, n. 1, p. 805-815, 2009.

DE CESARE, A.; SIRRI, F.; MANFREDA, G.; MONIACI, P.; GIARDINI, A.; ZAMPIGA, M.; MELUZZI, A. Effect of dietary supplementation with *Lactobacillus acidophilus* D2/CSL (CECT 4529) on caecum microbioma and productive performance in broiler chickens. **PLOS ONE**, v. 12, n. 5, p. 1–21, 2017.

DE SOUZA, L. F. A.; ARAÚJO, D. N.; STEFANI, L. M.; GIOMETTI, I. C.; CRUZ-POLYCARPO, V. C.; POLYCARPO, G.; BURBARELLI, M. F. Probiotics on performance, intestinal morphology and carcass characteristics of broiler chickens raised with lower or higher environmental challenge. **Austral journal of veterinary sciences**, v. 50, n. 1, p. 35–41, 2018.

DELECO, A. P. D. R.; ABREU, R. D.; OLIVEIRA, M. do C. M. M. da C.; OLIVEIRA, G. J. C. de. Prebióticos, ácidos orgânicos e probióticos em rações para frangos de corte. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**. v. 11, n. 3, p. 5–24, 2010.

DOS SANTOS, I. I.; KESSLER, A. DE M.; MENDES, J. F.; LABRES, R. V. Additives in the diet of broiler chickens under infectious stress by coccidian. **Archives of Veterinary Science**. v. 24, n. 3, p. 60–67, 2019.

FERKET, P. Nutrition-disease interactions regarding gut health in chickens. **18th European Symposium on Poultry Nutrition**, p. 180- 192., 2011.

FURTADO, D. A.; ROCHA, H. P.; NASCIMENTO, J. W. B.; SILVA, J. H. V. Índices de conforto térmico e concentração de gases em galpões avícolas no semiárido paraibano. **Journal of Food System Research**, v. 15, n. 2, p. 44–50, 2008.

GHARIB-NASERI, K.; DORIGAM, J. C.; DORANALLI, K.; MORGAN, N.; SWICK, R. A.; CHOCT, M.; WU, S.B. *Bacillus amyloliquefaciens* CECT 5940 improves performance and gut function in broilers fed different levels of protein and/or under necrotic enteritis challenge. **Animal Nutrition**. v.7, n.1, p. 185-197, 2021.

GUIBOURDENCHE, M.; ROGGENTIN, P.; MIKOLEIT, M.; FIELDS, P. I.; BOCKEMÜHL, J.; GRIMONT, P. A. D.; WEILL, F.-X. Supplement 2003–2007 (No. 47) to the White-Kauffmann-Le Minor scheme. **Research in Microbiology**, v. 161, n. 1, p. 26–29, 2010.

HANA, S. E.; TYFOR, M. H.; TABIDI, I. M.; NASRI, E. L.; MUKHTAR, M.A. Study of different levels of yeast on performance values and immune response in broiler chicken. **Research Journal of Animal and Veterinary Sciences**, v. 8, n. 1, p. 1-5, 2015.

HE, T.; LONG, S.; MAHFUZ, S.; WU, D.; WANG, X.; WEI, X.; PIAO, X. Effects of Probiotics as Antibiotics Substitutes on Growth Performance, Serum Biochemical Parameters,

Intestinal Morphology, and Barrier Function of Broilers. **Animals**, v. 9, n. 11, p. 985, 2019.

HERNANDES, R.; CAZETTA, J. O. Método simples e acessível para determinar amônia liberada pela cama aviária. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, n. 3, p. 824–829, 2001.

HIDAYAT, M. N.; MALAKA, R.; AGUSTINA, L.; PAKIDING, W. Abdominal Fat Percentage and Carcass Quality of Broiler Given Probiotics Bacillus spp. **Scientific Research Journal**, v. 4, n. 10, 2016.

HOLZAPFEL, W. H.; HABERER, P.; SNEL, J.; SCHILLINGER, U.; HUIS IN'T VELD, J. H. Overview of gut flora and probiotics. **International Journal of Food Microbiology**, v. 41, p. 85-101, 1998.

KISIELINSKI, K.; WILLIS, S.; PRESCHER, A.; KLOSTERHALFEN, B.; SCHUMPELICK, V. A simple new method to calculate small intestine absorptive surface in the rat. **Clinical and Experimental Medicine**, v. 2, p. 131–135, 2002.

KONAN, N. A.; BACCHI, E. M.; LINCOPAN, N.; VARELA, S. D.; VARANDA, E. A. Acute, subacute toxicity and genotoxic effect of a hydroethanolic extract of the cashew (*Anacardium occidentale* L.). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 110, n. 1, p. 30–38, 2007.

KOMPIANG, IP. Pengaruh ragi: *Saccharomyces Cerevisiae* dan ragi laut sebagai Pakan Imbuhan Probiotik terhadap kinerja unggas. **JITV**, v. 7, n. 1, p. 18-21, 2002.

LARSEN, N.; THORSEN, L.; KPIKPI, E. N.; STUER-LAURIDSEN, B.; CANTOR, M. D.; NIELSEN, B.; BROCKMANN, E.; DERKX, P. M. F.; JESPERSEN, L. Characterization of *Bacillus* spp. strains for use as probiotic additives in pig feed. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 98, n. 3, p. 1105–1118, 2014.

LEE, K.; LILLEHOJ, H. S.; SIRAGUSA, G. R. Direct-fed antimicrobials and their impact on the intestinal microflora and immune system of chickens. **Journal of Poultry Science**. v. 47, p. 106-114, 2010.

LEI, X.; XIANGSHU, P.; YNGJUM, P.; ZHANG, W.; PERON, A.; ZHANG, H. Effect of *Bacillus amyloliquefaciens* based direct fed microbial on performance, nutrient utilization, intestinal morphology and cecal microflora in broiler chicken. **Asian Australasian Journal Animal Science**. v. 28, n.2, p. 239-246, 2015.

LUNA, L. . **Manual of Histologic Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology**. 3. ed. New York: McGraw-Hill, 1968. 3277 p.

MELO, M. C. A. D. **Avaliação de microrganismos como probiótico na alimentação de frangos de corte**. 2018. 80 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

MENCONI, A. D.; WOLFENDEN, S.; SHIVARAMAIAH, J. C.; TERRAES, T.; URBANO, J.; KUTTEL, C.; KREMER, B. M.; HARGIS, G. Tellez. Effect of lactic acid bacteria probiotic culture for the treatment of *Salmonella enterica* serovar Heidelberg in neonatal broiler chickens and turkey poults. **Poultry Science**, v. 90, n. 3, p. 561-565, 2011.

MIN, Y. N.; YANG, H. L.; XU, Y. X.; GAO, Y. P. Effects of dietary supplementation of synbiotics on growth performance, intestinal morphology, sIgA content and antioxidant capacities of broilers. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 100, n. 6, p. 1073–1080, 2016.

MINAFRA, C. S.; MARQUES, S. F. F.; STRINGHINI, J. H.; ULHOA, C. J.; REZENDE, C. S. M. e; SANTOS, J. S.; MORAES, G. H. K. de. Perfil bioquímico do soro de

frangos de corte alimentados com dieta suplementada com alfa-amilase de *Cryptococcus flavus* e *Aspergillus niger* HM2003. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 12, p. 2691–2696, 2010.

MOUNTZOURIS, K. C.; DALAKA, E.; PALAMIDI, I.; PARASKEUAS, V.; DEMEY, V.; THEODOROPOULOS, G.; FEGEROS, K. Evaluation of yeast dietary supplementation in broilers challenged or not with *Salmonella* on growth performance, cecal microbiota composition and *Salmonella* in ceca, cloacae and carcass skin. **Poultry Science**, v. 94, n. 10, p. 2445–2455, 2015.

MUNIZ, E. C. Atualidades no estudo das salmoneloses aviárias. In: XIII SIMPÓSIO BRASIL SUL DE AVICULTURA E IV BRASIL SUL POULTRY FAIR, 13., 2012, Chapecó. **Anais...** Chapecó, 2012. p. 13.

MUTHUSAMY, N.; HALDAR, S.; GHOSH, T. K.; BEDFORD, M. R. Effects of hydrolysed *Saccharomyces cerevisiae* yeast and yeast cell wall components on live performance, intestinal histo-morphology and humoral immune response of broilers. **British Poultry Science**, v. 52, n. 6, p. 694–703, 2011.

NOSRATI, M.; JAVANDEL, F.; CAMACHO, L. M.; KHUSRO, A.; CIPRIANO, M.; SEIDAVI, A.; SALEM, A. Z. M. The effects of antibiotic, probiotic, organic acid, Vitamin C, and *Echinacea purpurea* extract on performance, carcass characteristics, blood chemistry, microbiota, and immunity of broiler chickens. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 26, n. 2, p. 295–306, 2017.

NUNES, R. V.; BROCH, J.; WACHHOLZ, L.; DE SOUZA, C.; DAMASCENO, J. L.; OXFORD, J. H.; BLOXHAM, D. J.; BILLARD, L.; PESTI, G. M. Choosing sample sizes for various blood parameters of broiler chickens with normal and non-normal observations. **Poultry Science**, v. 97, n. 10, p. 3746–3754, 2018.

PATTERSON, J. A.; BURKHOLDER, K. M. Application of prebiotics and probiotics in poultry production. **Poultry science**, v. 82, n. 4, p. 627-631, 2003. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0032579119449973?via%3Dihub>>

POURAKBARI, M.; SEIDAVI, A.; ASADPOUR, L.; MARTÍNEZ, A. Probiotic level effects on growth performance, carcass traits, blood parameters, cecal microbiota, and immune response of broilers. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 88, n. 2, p. 1011–1021, 2016.

RAMLUCKEN, U.; RAMCHURAN, S. O.; MOONSAMY, G.; LALLOO, R.; THANTSHA, M. S.; JANSEN VAN RENSBURG, C. A novel *Bacillus* based multi-strain probiotic improves growth performance and intestinal properties of *Clostridium perfringens* challenged broilers. **Poultry Science**, v. 99, n. 1, p. 331–341, 2020.

ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T.; HANNAS, M. I.; DONZELE, J. L.; SAKOMURA, N. S.; PERAZZO, F. G.; SARAIVA, A.; TEIXEIRA, M. L.; RODRIGUES, P. B.; OLIVEIRA, R. F.; BARRETO, S. L. T.; BRITO, C. O. **Tabelas Brasileiras Para Aves e Suínos**. 4a edição. Viçosa, MG: Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa, 2017. 488p.

SAINT-CYR, M. J.; HADDAD, N.; TAMINIAU, B.; POEZEVARA, T.; QUESNE, S.; AMELOT, M.; DAUBE, G.; CHEMALY, M.; DOUSSET, X.; GUYARD-NICODÈME, M. Use of the potential probiotic strain *Lactobacillus salivarius* SMXD51 to control *Campylobacter jejuni* in broilers. **International Journal of Food Microbiology**, v. 247, p. 9–17, 2017.

SANTOSO, U. Dried Bacillus subtilis culture reduced ammonia gas release in poultry house. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 12, n. 5, p. 806-809, 1999.

SAS Institute INC. **SAS University Edition: Installation Guide for Windows**. Cary: SAS Institute, p. 23, 2014.

SAKOMURA, N.K.; ROSTAGNO, H.S. **Métodos de pesquisa em nutrição de monogástricos**. 2.ed. Jaboticabal: Funep, 2016, 262p.

SARANGI, N. R.; BABU, L. K.; KUMAR, A.; PRADHAN, C. R.; PATI, P. K.; MISHRA, J. P. Effect of dietary supplementation of prebiotic, probiotic, and synbiotic on growth performance and carcass characteristics of broiler chickens. **Veterinary World**, v. 9, n. 3, p. 313–319, 2016.

SCHMIDT, E. M. S.; LOCATELLI-DITTRICH, R.; SANTIN, E.; PAULILLO, A. C. Patologia clínica em aves de produção – uma ferramenta para monitorar a sanidade avícola – REVISÃO. **Archives of Veterinary Science**, v. 12, n. 3, p. 9–20, 31 2007.

SEN, S.; INGALE, S. L.; KIM, Y. W.; KIM, J. S.; KIM, K. H.; LOHAKARE, J. D.; KIM, E. K.; KIM, H. S.; RYU, M. H.; KWON, I. K.; CHAE, B. J. Effect of supplementation of Bacillus subtilis LS 1-2 to broiler diets on growth performance, nutrient retention, caecal microbiology and small intestinal morphology. **Research in Veterinary Science**, v. 93, n. 1, p. 264–268, 2012.

SHARMA, N. K.; CHOCT, M.; WU, S.; SWICK, R. A. Nutritional effects on odour emissions in broiler production. **World's Poultry Science Journal**, v. 73, n. 2, p. 257–280, 2017.

SILVA, E. N.; ANDREATTI FILHO, R. L. Probióticos e prebióticos na avicultura. IN: II SIMPÓSIO DE SANIDADE AVÍCOLA, 2000, Santa Maria. **Anais...** Santa Maria, 2000.

SUPRIYAT, H.T.; SUSANTI, T.; SUGANA, W. Nutritional value of rie bran fermented by Bacillus amyloliquefaciens and humic substances and its utilization as a feed ingredient for broiler chicken. **Asian Australasian Journal of Animal Science**.v.2, p.231- 238, 2015.

TANAKA, K.; SANTOSO, S. Fermented product from Bacillus subtilis inhibits lipid accumulation and ammonia production of broiler chicks. **Asian Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 13, p. 78-80, 2000.

TEDESCO, M. J.; GIANELLO, C.; BISSANI, C.A.; BOHNEN, H. e VOLKWEISS, S.J. **Análise de solo, plantas e outros materiais**. 2.ed. Porto Alegre, Departamento de Solos da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 1995.

VIEIRA, M. DE F. A.; TINOCO, I. DE F. F.; SANTOS, B. M. DOS; INOUE, K. R. A.; MENDES, M. A. DOS S. A. Sanitary quality of broiler litter reused. **Engenharia Agrícola**, v. 35, n. 5, p. 800–807, 2015.

WANG, X.; FARNELL, Y. Z.; PEEBLES, E. D.; KIESS, A. S.; WAMSLEY, K. G. S.; ZHAI, W. Effects of prebiotics, probiotics, and their combination on growth performance, small intestine morphology, and resident Lactobacillus of male broilers. **Poultry Science**, v. 95, n. 6, p. 1332–1340, 2016.

ZHANG, Z. F.; CHO, J. H.; KIM, I. H. Effects of Bacillus subtilis UBT-MO2 on growth performance, relative immune organ weight, gas concentration in excreta, and intestinal microbial shedding in broiler chickens. **Livestock Science**, v. 155, n. 2–3, p. 343–347, 2013.

ZHEN, W.; SHAO, Y.; GONG, X.; WU, Y.; GENG, Y.; WANG, Z.; GUO, Y. Effect

of dietary *Bacillus coagulans* supplementation on growth performance and immune responses of broiler chickens challenged by *Salmonella enteritidis*. **Poultry Science**, v. 97, n. 8, p. 2654–2666, 2018.