

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

FABRIZIO MATTÉ

**DETERMINAÇÃO DA EFICÁCIA DE PROBIÓTICOS E PREBIÓTICOS
CONTRA O DESAFIO HORIZONTAL DE *Salmonella* Heidelberg EM
FRANGOS DE CORTE**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

DOIS VIZINHOS, PR
2015

FABRIZIO MATTÉ

**DETERMINAÇÃO DA EFICÁCIA DE PROBIÓTICOS E PREBIÓTICOS
CONTRA O DESAFIO HORIZONTAL DE *Salmonella* Heidelberg EM
FRANGOS DE CORTE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Zootecnia - Área de Concentração: Produção e Nutrição Animal.

Orientação: Prof^a Dr^a Sabrina Endo Takahashi

Co-orientação: Prof^a Dr^a Patrica Rossi

DOIS VIZINHOS, PR

2015

M435d Matté, Fabrizio.

Determinação da eficácia de probióticos e prebióticos contra o desafio horizontal de *Salmonella* Heidelberg em frangos de corte / Fabrizio Matté – Dois Vizinhos: [s.n], 2015. 84 f.

Orientadora: Sabrina Endo Takahashi

Co-orientadora: Patricia Rossi

Dissertação (Mestrado) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. Dois Vizinhos, 2015.

Inclui bibliografia.

1.Frango de corte. 2.Probióticos. 3.Prebióticos. I. Takahashi, Sabrina Endo, orient. II. Rossi, Patricia, co-orient.III. Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Dois Vizinhos. IV. Título

CDD: 636.513

Ficha catalográfica elaborada por Rosana da Silva CRB: 9/1745

AGRADECIMENTOS

A minha família, em especial a minha esposa Simone, pela paciência e incentivo durante todos os momentos.

A Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR) campus Dois Vizinhos/PR e ao Programa de Pós-graduação em Zootecnia (PPGZO), por fornecer as estruturas, equipamentos e insumos para o desenvolvimento do experimento.

Em especial a professora e orientadora Dra. Sabrina Endo Takahashi pelo incentivo, orientação e conselhos durante todo o programa.

Aos membros da banca avaliadora Prof. Dra. Patrícia Rossi, Prof. Dr. Ricardo Nunes, Prof. Dr. Ricardo Sado e Dra. Edna Tereza de Lima pelas considerações e sugestões de melhoria.

Ao professor Edgar de Souza Vismara pela ajuda com as análises estatísticas.

Aos colegas, Cleison de Souza, Abílio Bottega, Fabrício Philippsen, Andara Gonçalves e Cleusa Alves de Meira pela colaboração indispensável à realização deste trabalho.

À empresa que trabalho e aos colegas, que compreenderam minhas ausências e sempre me ajudaram nos momentos que precisei.

E todas as pessoas que colaboraram direta e indiretamente para que os trabalhos fossem realizados.

Muito Obrigado!



Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Câmpus Dois Vizinhos
Diretoria de Pesquisa e Pós-Graduação
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia



TERMO DE APROVAÇÃO

Título da Dissertação nº 044

Determinação da eficácia de probióticos e prebióticos contra o desafio horizontal de *Salmonella* Heidelberg em frangos de corte

Fabrizio Matté

Dissertação apresentada às nove horas do dia doze de março de dois mil e quinze, como requisito parcial para obtenção do título de MESTRE EM ZOOTECNIA, Linha de Pesquisa – Produção e Nutrição Animal, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia (Área de Concentração: Produção animal), Universidade Tecnológica Federal do Paraná, *Câmpus* Dois Vizinhos. O candidato foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho.

Banca examinadora:

Patricia Rossi
UTFPR-DV

Edna Tereza de Lima
UFPR

Ricardo Vianna Nunes
UNIOESTE

Ricardo Yuji Sado
UTFPR-DV

Prof. Dr. Ricardo Yuji Sado
Coordenador do PPGZO

*A Folha de Aprovação assinada encontra-se na Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia.

MATTÉ, Fabrizio. **Determinação da eficácia de probióticos e prebióticos contra o desafio horizontal de *Salmonella* Heidelberg em frangos de corte.** 2015. 84 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Dois Vizinhos. 2015.

RESUMO

A *Salmonella* é um dos mais importantes patógenos veiculados por alimentos. Dentre os sorotipos, a *Salmonella* Heidelberg (SH) vem se destacando nas monitorias dos plantéis avícolas devido ao fato de possuir um grande número de reservatórios, apresentar sorotipos inespecíficos quanto aos hospedeiros e possuir cepas multirresistentes aos antibacterianos. Aditivos Eubióticos, como probióticos e prebióticos vem sendo avaliados, não para substituir totalmente os antimicrobianos, mas para ser uma ferramenta estratégica para diminuir seu uso. O presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito de dois probióticos e um prebiótico contra um desafio horizontal de *Salmonella* Heidelberg em frangos de corte, através da contagem de UFC/g de conteúdo cecal e sob os parâmetros zootécnicos. Foram utilizadas 224 aves, distribuídas em 16 boxes de 2m² cada. As aves foram agrupadas em 4 tratamentos com 4 repetições de 14 aves por boxe, um total de 56 aves por grupo em um delineamento em blocos casualizado (DBC). Foi testado um prebiótico constituído por Mananoligossacarídeos (MOS) associado a um fermentado de *Bacillus subtilis* (Pre¹) fornecido no 2º e 14º dias de idade, por gavagem oral, e mais dois probióticos, um constituído por 11 cepas de *Lactobacillus* (Pro¹) fornecido no 1º, 17º e 18º dias, na água de bebida, e outro constituído de esporos de *Bacillus subtilis* (Pro²) fornecido na ração durante todo período experimental. A inoculação de SH foi aos 2 dias de idade usando (1,0x10⁶ UFC/ave) por gavagem oral em 4 aves denominadas contaminadas por boxe, as demais 10 aves foram denominadas não contaminadas para avaliar a contaminação horizontal. Semanalmente as aves foram pesadas e calculado seu consumo de ração em cada grupo. Aos 28 dias de idade, 40 aves não contaminadas por grupo foram sacrificadas e avaliado a contagem de UFC/g do conteúdo cecal. Os resultados obtidos nas contagens de UFC/g de conteúdo cecal em cada tratamento Pre¹, Pro¹ e Pro² não apresentaram diferenças significativas (P>0.05) em relação ao grupo controle. O resultado zootécnico apresentou apenas diferenças significativas (P<0.05) na conversão alimentar, com resultados favoráveis ao uso dos probióticos e prebiótico nos períodos finais de desenvolvimento das aves 14 a 21 e 21 a 28 dias de idade.

Palavras-chave: Avicultura. Aditivos. Agentes patogênicos.

MATTÉ, Fabrizio. **Determining the efficacy of probiotics and prebiotics against horizontal of *Salmonella* Heidelberg in broilers.** 2015. 84 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Dois Vizinhos. 2015.

ABSTRACT

Salmonella is one of the leading foodborne pathogens. Among the serotypes, *Salmonella* Heidelberg (SH) has been standing out in the creation of chickens because of the fact of having a large number of reservoirs, presenting non-specific serotypes and multidrug-resistant strains to antibacterial. Eubiótics additives such as probiotics and prebiotic are being evaluated not to fully replace antibiotics, but to be a strategic tool to reduce their use. This study aimed to evaluate the effect of two probiotics and prebiotic against a horizontal challenge *Salmonella* Heidelberg in broilers through count CFU/g of cecal contents and under the zootechnical parameters. 224 chickens were used, distributed in 16 boxes of 2m² every. The chickens were grouped into 4 treatments with 4 replications of 14 chickens every boxe, a total of 56 chickens per group on a design in casualized blocks (DBC). It has been tested a prebiotic consisting mananoligossacarids (MOS) associated with a fermentation of *Bacillus subtilis* (Pre¹) provided on the 2 and 14 days of age by oral gavage, and two probiotics, one composed of 11 *Lactobacillus* strains (Pro¹) provided at 1, 17 and 18 days, in drinking water, and another composed of *Bacillus subtilis* spores (Pro²) supplied the feed all through the experimental period. Inoculation with SH was at 2 days of age using (1,0x10⁶ UFC/chicken) by oral gavage for 4 chicks denominated contaminated by boxe, the other 10 chicks were denominated non contaminated to evaluate the horizontal contamination. The chickens were weighed a weekly basis, and feed consumption calculated from each group. At 28 days of age, 40 poultry non contaminated per group were sacrificed and we evaluated the counts CFU/g of cecal content. The results obtained for the count of CFU/g of cecal content in every Pre¹ treatment, Pro¹ and Pro² no significant differences (P>0.05) compared to the control group. The zootechnical results presented only significant differences (P<0.05) feed conversion, with results favorable to the use of probiotics and prebiotics in late periods of growth of the poultry 14 to 21 and from 21 to 28 days.

Keywords: Poultry. Additives. Pathogens.

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – COMPOSIÇÃO BÁSICA DA DIETA DE FRANGOS DE CORTE DE 1 A 28 DIAS DE IDADE.....	69
TABELA 2 – COMPOSIÇÃO BÁSICA DA DIETA DE FRANGOS DE CORTE DE 1 A 28 DIAS DE IDADE.....	70
TABELA 3 – RESUMO DOS TRATAMENTOS EXPERIMENTAIS	71
TABELA 4 – PESO MÉDIO (G) DOS FRANGOS DE CORTE NAS DIFERENTES IDADES AVALIADAS.....	74
TABELA 5 – MÉDIA DO CONSUMO DE RAÇÃO (G) DOS FRANGOS DE CORTE NAS DIFERENTES IDADES AVALIADAS.....	75
TABELA 6 – MÉDIA DO GANHO DE PESO (G) DOS FRANGOS DE CORTE NAS DIFERENTES IDADES AVALIADAS	75
TABELA 7 – MÉDIA DA CONVERSÃO ALIMENTAR DOS FRANGOS DE CORTE NAS DIFERENTES IDADES AVALIADAS.....	76
TABELA 8 – MÉDIA DA CONTAGEM DE UFC/G DO CONTEÚDO CECAL AOS 28 DIAS DE IDADE DAS AVES NÃO CONTAMINADAS (NÃO INOCULADAS)	78

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
2. OBJETIVOS	13
2.1 OBJETIVO GERAL.....	13
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	13
3. REVISÃO	14
3.1 CARACTERÍSTICAS DO GÊNERO <i>SALMONELLA</i>	14
3.2 <i>SALMONELLA</i> HEIDELBERG	16
3.3 <i>SALMONELLA</i> NA SAÚDE PÚBLICA	19
3.4 <i>SALMONELLA</i> NA AVICULTURA	21
3.4.1 Fontes de contaminação	22
3.4.2 Controle de <i>Salmonella</i>	24
3.5 MICROBIOTA INTESTINAL	27
3.6 ADITIVOS NA AVICULTURA	28
3.6.1 Ácidos Orgânicos	29
3.6.2 Anticoccidianos.....	30
3.6.3 Enzimas Exógenas.....	31
3.6.4 Aditivos Auxiliares	32
3.6.5 Antimicrobianos.....	33
3.7 ADITIVOS EUBIÓTICOS.....	34
3.7.1 Probióticos	35
3.7.1.1 <i>Bacillus subtilis</i>	37
3.7.1.2 <i>Lactobacillus spp.</i>	38
3.7.2 Prebióticos.....	41
3.7.2.1 Mananoligossacarídeos (MOS)	42
3.7.3 Paraprobióticos (<i>Bacterial Ghost</i>).....	44
4. REFERÊNCIAS	46
DETERMINAÇÃO DA EFICÁCIA DE PROBIÓTICOS E PREBIÓTICOS CONTRA O DESAFIO HORIZONTAL DE <i>Salmonella</i> Heidelberg EM FRANGOS DE CORTE	66
RESUMO	66
INTRODUÇÃO	67

MATERIAL E MÉTODOS	68
Animais e Dieta	68
Delineamento Experimental	70
Inóculo de <i>Salmonella</i>	72
Desempenho Zootécnico.....	72
Análises Microbiológicas	73
Análises Estatísticas dos dados	73
RESULTADOS E DISCUSSÃO	73
Desempenho Zootécnico.....	73
Contagem de <i>Salmonella</i> Heidelberg.....	77
CONCLUSÕES	81
REFERÊNCIAS.....	81

1. INTRODUÇÃO

O crescimento nas exportações brasileiras de carne de frango estimula as empresas a adequar-se às exigências requeridas pelos países importadores. Essas exigências são propostas por diversos órgãos de normatização internacional tais como a Organização Mundial do Comércio (OMC), *International Standardization Organization* (ISO), Organização Mundial da Saúde (OMS) e a Organização das Nações Unidas para a Agricultura e a Alimentação (FAO). Dentro dessas exigências, existe o *Codex Alimentarius* (expressão em latim que significa "código alimentar", ou "livro sobre alimentos") que tem a finalidade de proteger a saúde dos consumidores e assegurar práticas equitativas no comércio regional e internacional de alimentos, esse conjunto de padrões é estabelecido e mantido pela Organização das Nações Unidas (ONU), em conjunto com a FAO e OMS (BRASIL, 2012).

Um dos quesitos exigidos pelos órgãos normatizadores é a qualidade e segurança dos alimentos, que pode apresentar riscos para a saúde do consumidor e prejudicar as relações comerciais alimentares entre os países. Neste mesmo sentido, cabe salientar, que os surtos de doenças de origem alimentar causados por microrganismos podem gerar graves prejuízos, com aumento dos custos para a saúde pública (CAC, 2007).

A *Salmonella* destaca-se como um dos mais frequentes e importantes patógenos veiculados por alimentos devido ao fato de estar amplamente distribuída na natureza, possuir um grande número de reservatórios, apresentar sorotipos inespecíficos quanto aos hospedeiros e apresentar cepas multirresistentes aos antibacterianos (BERSOT, 2006).

O consumo de alimentos contaminados por *Salmonella* pode causar gastroenterite provocando dores abdominais, vômito, diarreia e é especialmente prejudicial aos grupos considerados de risco (crianças, idosos, grávidas e imunodeprimidos), podendo gerar quadros mais complicados e levar à morte do paciente. Segundo a OMS, o gênero *Salmonella* é o mais frequentemente isolado em casos de toxinfecções alimentares em humanos, e sempre esteve relacionada ao consumo de carne de frango, ovos e leite contaminados (ROSSI JR. et al., 2009).

Entretanto, nas últimas décadas vem ocorrendo muitos surtos relacionados ao consumo de frutas, legumes não cozidos e sucos naturais (SIVAPALSINGAN et al., 2004; BERGER et al., 2010).

Dentre os sorotipos de *Salmonella*, a Heidelberg é um agente de infecção alimentar em humanos cujos casos de isolamento em aves e derivados tem aumentado consideravelmente nos últimos anos, especialmente em lotes de frangos de corte e matrizes pesadas (RAGHIANTE, et al, 2010). As infecções por *Salmonella* Heidelberg têm provado ser mais graves e com complicações maiores, tais como septicemia, miocardite, infecções extra-intestinais, e morte, parecendo ser mais virulenta do que outros sorotipos que causam gastroenterite (DUTIL et al., 2010).

Segundo Mead et al. (2010), a carne de frango é o alimento de maior enfoque na aplicação de programas de prevenção e controle aplicados por governos em todo o mundo visando a redução de casos em humanos. No Brasil, em 1994, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) criou o Programa Nacional de Sanidade Avícola (PNSA), baseado na vigilância, controle e erradicação das principais doenças aviárias importantes para a saúde animal e humana. A adoção de práticas de controle sanitário e desenvolvimento técnico e científico objetivam reduzir a presença de patógenos na carne de frango e nas criações com intuito de fornecer produtos de excelente qualidade para os mercados nacional e internacional (FERREIRA et al., 2013).

A Instrução Normativa nº 78 aprova as Normas Técnicas para Controle e Certificação de Núcleos e Estabelecimentos Avícolas como livres de *Salmonella* Gallinarum e de *Salmonella* Pullorum e livres ou controlados para *Salmonella* Enteritidis e *Salmonella* Typhimurium (BRASIL, 2003). Para Sesti (2010), embora a *Salmonella* Heidelberg não esteja entre os sorotipos cujo controle é oficialmente preconizado pelo PNSA, ela deve, obrigatoriamente, ser controlada com a mesma atenção e esforço.

Nas últimas décadas, a principal forma de controle de enfermidades bacterianas foi o uso de antimicrobianos. No entanto, o uso destas drogas como medida preventiva tem sido questionada, uma vez, que diversos relatos surgiram sobre a resistência de bactérias patogênicas frente aos antimicrobianos (KELLEY et al., 1998; PARRY, 2003).

Vários países entraram em consenso que o uso indiscriminado de antibióticos e demais antimicrobianos na produção animal é uma das causas do aumento da resistência de microrganismos a esses medicamentos. Além de alterar o equilíbrio e a simbiose entre a biota desejável e o animal, os antibióticos podem se acumular nos tecidos dos animais que, ao serem ingeridos e/ou seus produtos, promovem resistência da biota humana ao antibiótico utilizado e resistência cruzada às terapias antibióticas, em humanos e outros animais (KELLEY et al., 1998). Por este motivo, muitos governos vêm limitando ou proibindo a utilização de antibióticos em doses subterapêuticas como promotores de crescimento (COSTA et al., 2009).

Com a proibição dos antimicrobianos promotores de crescimento pela União Europeia em 2006 um novo desafio se estabeleceu para a avicultura, vindo reforçar, a necessidade da busca de alternativas para estes produtos.

Entre estas alternativas, encontram-se os probióticos, que são definidos como aditivos compostos por microrganismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefício à saúde do hospedeiro, modulando o sistema imune e a microbiota intestinal e inibindo as bactérias patogênicas (KABIR, 2009; GAGGÍA et al., 2010). E os prebióticos, definidos como ingredientes alimentares não digeríveis, que beneficiam o animal por estimular seletivamente o crescimento e a atividade biológica de uma ou poucas espécies de bactérias benéficas não patogênicas no intestino, melhorando a saúde intestinal do hospedeiro (MENTEN e LODDI, 2003).

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o efeito de probióticos e prebiótico contra o desafio horizontal de *Salmonella* Heidelberg na produção de frangos de corte.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Avaliar o efeito do uso de dois probióticos e um prebiótico contra o desafio horizontal de *Salmonella* Heidelberg.

Determinar o efeito do uso de dois probióticos e um prebiótico sobre o peso médio, ganho de peso, consumo de ração e conversão alimentar de frangos de corte.

3. REVISÃO

3.1 CARACTERÍSTICAS DO GÊNERO *SALMONELLA*

Bactérias do gênero *Salmonella* pertencem à família Enterobacteriaceae, são bacilos mesófilos, gram-negativos, aeróbios ou anaeróbios facultativos, produzem H₂S (gás sulfídrico) por ação da enzima cisteína desulfidrase e na sua grande maioria produtoras de gás e ácido a partir da glicose (OIE, 2012). Os bacilos são normalmente móveis por meio de flagelos peritríquios, com exceção dos sorotipos Pullorum e Gallinarum que são imóveis (FRANCO e LANDGRAF, 2006).

De acordo com a mais recente nomenclatura, o gênero *Salmonella* é composto por apenas duas grandes espécies: *S. enterica* e *S. bongori*. Uma terceira espécie, *S. subterranea*, vem sendo estudada filogeneticamente (GRIMONT e WEILL, 2007).

De acordo com a Guibourdenche et al. (2010), a *Salmonella enterica* é dividida em seis subespécies: Subespécie I = *enterica* (1.547 sorotipos), Subespécie II = *salamae* (513 sorotipos), Subespécie IIIa = *arizonae* (100 sorotipos), Subespécie IIIb = *diarizonae* (341 sorotipos), Subespécie IV = *houtenae* (73 sorotipos), Subespécie VI = *indica* (13 sorotipos). Para os sorotipos de *S. bongori*, o símbolo V foi mantido para evitar confusão com os nomes dos sorotipos de *S. enterica* subespécie *enterica*.

De acordo com o esquema de Kauffmann-White as estirpes de *Salmonella* são classificadas em sorogrupos, sorovares ou sorotipos, com base na diversidade de lipopolissacarídeo (LPS), antígenos somáticos (O), antígenos flagelares (H) e ocasionalmente antígenos capsulares (Vi). Atualmente mais de 2500 sorotipos são reconhecidos. Os sorotipos mais comuns que causam infecções em humanos e

animais de produção pertencem à subespécie *enterica*. Os sorotipos das outras subespécies são mais encontrados em animais de sangue frio e no ambiente e, ocasionalmente podem estar associados à doença humana (GRIMONT e WEILL, 2007).

As salmonelas em sua maioria são capazes de se multiplicar em intervalos muito amplos de temperatura (5,2 a 46,2 °C), de pH (3,8 a 9,5) e de atividade de água (0,94 a >0,99). Quando outras condições estão perto do ideal, a *Salmonella* spp. pode sobreviver por meses ou mesmo anos em baixa umidade e até a -20°C. A *Salmonella* spp. é sensível às condições normais de cozimento, no entanto, alimentos que são ricos em gordura e com baixo teor de umidade podem ter uma proteção contra inativação térmica da célula fazendo com que permaneçam em estado dormente até que as condições estejam favoráveis para sua multiplicação (FSANZ, 2013). As estruturas como flagelos, fímbrias, ilhas de patogenicidade, plasmídeos, lipopolissacarídeos da membrana externa estão sendo caracterizados como importantes fatores de virulência (MCGHIE et al., 2009).

Por esses motivos, adaptam-se facilmente às condições ambientais extremas, podendo sobreviver tanto em pH ácido do estômago como no pH alcalino da albumina do ovo, são resistentes à desidratação e ao congelamento, porém são destruídas a 60°C por 5 minutos e pela maioria dos desinfetantes comumente utilizados, como compostos fenólicos, amônia quaternária e hipoclorito de sódio (D'AOUST et al., 2001). Sobrevivem por semanas ou meses em cama de aves, nos equipamentos, galpões vazios, no solo, e nas excretas de animais silvestres (DAVIES e WRAY, 1996).

O habitat natural das salmonelas pode ser dividido em três categorias com base na especificidade do hospedeiro e padrão clínico por ele determinado: altamente adaptadas ao homem incluindo *Salmonella* Typhi e *Salmonella* Paratyphi A, B e C, agentes da febre entérica; altamente adaptadas aos animais, *Salmonella* Dublin (bovinos), *Salmonella* Choleraesuis e *Salmonella* Typhisuis (suínos), *Salmonella* Pullorum e *Salmonella* Gallinarum (aves), responsáveis pelo paratifo animal. A terceira categoria inclui a maioria dos sorovares que atingem o homem e animais, designadas salmonelas zoonóticas, responsáveis por doenças de transmissão alimentar, de distribuição mundial (RODRIGUES, 2011).

A habilidade de a *Salmonella* resistir aos mecanismos de defesa do hospedeiro, como por exemplo: pH estomacal, aumento de temperatura, baixa tensão de oxigênio, alta osmolaridade, ação da bile, o peristaltismo, as lisozimas, as lactoferrinas, a microbiota local, baseia-se na sua capacidade de modular a expressão dos seus genes de virulência em resposta a estas condições (OCHOA e RODRÍGUEZ, 2005).

Para Vieira (2009), o mecanismo de patogenicidade da *Salmonella* spp. inclui inúmeros fatores de virulência, entre eles os mais importantes são as adesinas, as invasinas e os fatores que inibem as defesas do hospedeiro. A supressão de qualquer um dos fatores pode resultar em redução na virulência ou na sua perda. Alguns têm sido identificados nos sorotipos de *Salmonella* atuando em diferentes estágios da infecção (SUZUKI, 1994).

No Brasil, os sorotipos monitorados pelo Plano Nacional de Sanidade Avícola (PNSA), são as salmonelas imóveis Gallinarum e Pullorum, e duas móveis Enteritidis e Typhimurium, através da Instrução Normativa nº 78 de 03 de novembro de 2003, que evidencia o agente em matrizes de frango de corte. O Programa de Redução de Patógenos (PRP) da Instrução Normativa nº 70 de 06 de outubro de 2003 focaliza nos frigoríficos monitorando os sorotipos Enteritidis e Typhimurium que são os isolados relacionados com maior frequência em produtos avícolas e em surtos alimentares (BRASIL, 2003).

3.2 SALMONELLA HEIDELBERG

A *Salmonella* Heidelberg (SH) é um sorotipo pertencente à subespécie *Salmonella enterica enterica*, sorogrupo B e é altamente prevalente no Canadá e nos Estados Unidos, mas é raramente relatada em países europeus (CURY, 2013). É uma das cinco principais salmonelas associadas à toxinfecções em humanos e uma das mais comumente isoladas em galinhas, perus e suínos (FOLEY e LYNNE, 2008).

Segundo Menconi (2011), este sorotipo está entre os três principais isolados de pessoas com toxinfecções alimentares por *Salmonella* na América do Norte, maior que em outras regiões do mundo.

No Brasil, a SH foi isolada e é relatada desde 1962 em aves e produtos de origem avícola (BORSOI et al., 2011), sendo o 9º sorotipo de maior prevalência no país, ocorrendo principalmente nas regiões Centro Oeste, Sudeste e Sul. Entre estes, os estados do Sul aparecem com mais casos de isolamentos, sendo a SH, a 5ª *Salmonella* de maior prevalência na região (FREITAS e SANTOS, 2011).

A *Salmonella* Heidelberg tem sido detectada em aves comerciais como um dos mais prevalentes sorotipos de *Salmonella* paratífóide. Esta bactéria tem causado graves toxinfecções em seres humanos devido ao consumo de ovos e produtos cárneos provenientes de aves infectadas. Devido a diversos estudos de resistência aos antimicrobianos em seres humanos, sugere-se mais prudência no uso destes na avicultura (CURY, 2013).

Este sorotipo foi isolado em três matadouros no Sul do Brasil por Dickel (2004), antes e depois do *chiller*, onde respectivamente encontrou-se, 31,7% e 20% de positividade, sendo Heidelberg (63,9%) o sorotipo mais prevalente.

De acordo com dados da *Public Health Agency of Canada* (2007), a SH parece ser mais invasiva e causar doenças com maior gravidade que outros sorovares paratíficos. Isso tem levado também a estudos em razão da frequente resistência à droga ceftiofur e redução da suscetibilidade aos antimicrobianos relacionados à ceftriaxona (cefalosporina de terceira geração). Tais fatos podem limitar as opções de tratamento de gestantes e crianças que desenvolvem salmonelose extraintestinal por *Salmonella* Heidelberg e representar uma preocupação extra com relação à saúde pública.

Para Borsoi et al. (2011), as alterações na mucosa intestinal causadas por *S. Heidelberg* são semelhantes às causadas pela *S. Enteritidis*, e apesar de pintos desafiados com ambos sorotipos permanecerem excretando bactérias por mais de 20 dias, aves infectadas com *S. Heidelberg* excretam menor quantidade de bactérias que aves desafiadas com *S. Enteritidis*.

Entre o ano de 2004 e 2006 a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BRASIL, 2012) avaliou a SH resistente às cefalosporinas, incluindo aquelas de 3ª geração (Ceftriaxona e Ceftiofur), empregadas no tratamento da salmonelose invasiva no homem e de uso terapêutico e/ou profilático em animais, respectivamente. Este deve, portanto, ser considerado um alerta, em face às

dificuldades de seu uso terapêutico empírico, tendo em vista que este sorovar vem se apresentando emergente, a partir do ano de 2004, particularmente em países da América do Norte e leste europeu.

Dados do *National Antimicrobial Resistance Monitoring* (NARM) indicam que o percentual de SH isolados de fontes humana e aviária resistente as cefalosporinas aumentou a partir de 1997. Neste ano, SH de origem humana apresentavam sensibilidade, enquanto apenas 1,6% daquelas de origem aviária eram resistentes ao Ceftiofur. A partir de 2003, a resistência ao Ceftiofur aumentou para 5,2 e 7,4% entre cepas isoladas de origem humana e de aves respectivamente, além de reduzida suscetibilidade a Ceftriaxona (FDA, 2006; NARM, 2010).

Um estudo realizado por Hoffmann et al. (2014) sequenciou o genoma de SH isolada de humanos, animais e carnes, comprova que os elementos genéticos móveis são transmitidos durante a evolução da virulência e resistência de SH nesses três isolados. Os plasmídeos foram os principais fatores de disseminação de genes de virulência e resistência de SH provavelmente à sua capacidade de transmissão rápida e às condições do ambiente. Plasmídeos de SH sequenciados por Han et al. (2012) demonstraram algumas semelhanças com plasmídeos sequenciados a partir de SH enterica, apesar de semelhantes, em cada caso houve regiões únicas que contribuem para a diversidade plasmídeo. Essa diversidade pode conduzir a benefícios favoráveis às bactérias que ocupam diferentes nichos ecológicos. Isso prova que estudos para compreender a evolução e disseminação de plasmídeos são importantes para limitar a futura disseminação de maior virulência e resistência antimicrobiana em *Salmonella* e outros patógenos entéricos.

Dados ainda não publicados, do Laboratório de Microbiologia e Ornitopatologia da UFPR no ano de 2012 evidenciaram, por meio do antibiograma, a resistência de todas as dez amostras de SH isoladas a partir de suabes de cama de frangos para as tetraciclinas e em 20% dos casos para espectinomicina e 23% lincomicina. Nos testes de Concentração Inibitória Mínima (CIM), realizados a partir destas SH isoladas, verificou-se resistência aos níveis recomendados para tratamento das aves para fosfomicina, enrofloxacina, lincomicina, espectinomicina e gentamicina (CURY, 2013).

Além disso, Colla et al. (2012), demonstraram que SH isoladas em abatedouros e que eram sensíveis a Clorexidina e a Amônia Quaternária no ano de 2005, foram resistentes quatro anos após, frente aos mesmos desinfetantes. Estes resultados indicam progressão da resistência bacteriana a estes sanitizantes e a necessidade de testes periódicos e alternância de princípios ativos nos programas de higienização dos frigoríficos.

Portanto, o aumento da resistência de *Salmonella* Heidelberg serve de alerta para a progressão da resistência bacteriana aos sanitizantes e antimicrobianos usados na produção avícola e para a necessidade de se documentar e inibir esta progressão (COLLA et al., 2012).

3.3 SALMONELLA NA SAÚDE PÚBLICA

Doenças infecciosas de origem alimentar ocorrem quando bactérias patogênicas do hospedeiro ou bactérias oportunistas são ingeridas e, posteriormente, superam barreiras orgânicas como, por exemplo, o pH e as enzimas gástricas, o muco, a microbiota normal do trato gastrointestinal (TGI) e a ação de leucócitos do sistema imune, podendo, assim, causar intoxicação ou infecção (BRASIL, 2008).

Os sintomas da infecção por *Salmonella* são os mesmos de outras gastroenterites, incluem cólicas abdominais, náuseas, diarreia, febre, vômitos, desidratação, dor de cabeça e/ou prostração. O início da doença é tipicamente de 24 a 48 horas após a infecção, e os sintomas geralmente duram 2 a 7 dias. A taxa de mortalidade para a salmonelose é geralmente inferior a 1% (FDA 2012). Pessoas de todas as idades são suscetíveis a salmonelose, no entanto, os idosos, as crianças e os indivíduos imunodeprimidos correm um maior risco de infecção e geralmente têm sintomas mais graves (FSANZ, 2013).

A via de infecção em humanos é oral, invadem a mucosa intestinal, com disseminação para a submucosa, resultando em enterocolite aguda. Normalmente o quadro diarreico é moderado, sem a presença de sangue, entretanto, em alguns quadros clínicos, pode ocorrer perda de pequeno volume de fezes associado a tenesmo e sangue. Seu transporte, através do sistema retículo-endotelial e a

capacidade de multiplicação no interior dos macrófagos, possibilita sua manutenção e disseminação no organismo. Indivíduos subnutridos ou com deficiências do sistema imune podem apresentar infecções de extrema gravidade, como por exemplo, a incidência de bacteremia em pacientes com HIV/AIDS, dos quais 20 a 60% relatam infecção gastrointestinal prévia (BRASIL, 2011).

A matriz de determinado alimento e o sorotipo de *Salmonella* influenciam na quantidade de *Salmonella* necessária para doença ocorrer. Em alguns casos a quantidade de 100 células causou a doença, no entanto, na maioria dos outros casos significativamente mais células foram necessárias para a ocorrência de doença (ICMSF, 2002; FDA 2012). A dose infectante varia de 10^5 a 10^8 células, porém em pacientes imunocomprometidos têm sido observadas doses $\leq 10^3$ células para alguns sorovares envolvidos em surtos de doenças transmitidas por alimentos (BRASIL, 2012).

A falta de higiene e cuidado no preparo dos alimentos ainda é considerada a maior causa da toxinfecção por *Salmonella* (HENNESSY et al., 2004; CURRIE et al., 2005).

A *Salmonella* continua sendo a bactéria mais registrada em casos e toxinfecções alimentares nos Estados Unidos e em diversos países europeus. No Brasil, há uma preocupação crescente sobre outros sorovares como Infantis, Agona, Hadar, Heidelberg e Virchow, como causadores de infecções em humanos (FREITAS NETO et al., 2010). Os sorotipos mais frequentemente isolados de fontes humanas nos Estados Unidos são *S. Typhimurium*, *Enteritidis*, *Newport*, *Heidelberg* e *Javiana* (CDC, 2011). Para a União Europeia, os sorotipos de salmonelas controlados na produção de alimentos são, *S. Enteritidis*, *Typhimurium*, *Virchow*, *Hadar* e *Infantis* (HERMANN, 2012).

Para Vaz et al. (2010), a epidemiologia da *Salmonella* é bastante complexa e por isso o controle da bactéria envolve iniciativas em todos os pontos da cadeia produtiva, desde a granja, passando pelo abate, processamento da carne, e manipulação do alimento pelos consumidores. No campo, as frequentes discussões sobre o uso de antimicrobianos para tratamento de animais de produção infectados, assim como as questões do constante surgimento de bactérias resistentes e a baixa taxa de desenvolvimento de novos antimicrobianos fomentam a busca por

alternativas para o controle de bactérias de importância para a saúde animal e para a segurança dos alimentos.

3.4 SALMONELLA NA AVICULTURA

As Salmonelas podem atingir um lote de aves através de várias maneiras, incluindo a transmissão vertical. A contaminação de aves no início da vida é mais difícil de controlar porque pintinhos recém-nascidos são muito sensíveis e podem excretar o microrganismo em grande quantidade e por longos períodos. Além disso, vários fatores ambientais, incluindo roedores, desempenham um papel importante em manter lotes infectados por tempo indeterminado (BARROW et al., 1988; SMITH e TUCKER, 1980).

Os sorotipos específicos das aves, chamadas de salmonelas tíficas são a *S. Gallinarum* e a *S. Pullorum* causadoras do tifo aviário e a pulorose respectivamente. São imóveis, altamente patogênicas e quando ocorrem, causam grandes prejuízos econômicos na avicultura. Os vários outros sorotipos de salmonelas, as móveis, chamadas de paratíficas ocorrem nas aves sem causar problemas clínicos, porém, podem ocasionar sérios problemas de saúde pública através do consumo de ovos e carnes contaminadas (HERMANN, 2012).

Em geral, as aves contaminam-se por via oral quando a bactéria está presente no ambiente (cama, ração e nas granjas). A transmissão vertical se dá no início do lote sendo progressiva em toda a cadeia produtiva até o produto final no frigorífico, e a transmissão horizontal se estabelece através do consumo de rações contaminadas, água e ambiente (HERMANN, 2012; MUNIZ, 2012). Após a salmonela ser ingerida ela se localiza no papo e no intestino (BACK et al., 2006).

Segundo Muniz (2012), a maioria das salmonelas paratíficas instala-se na parede intestinal, principalmente dos cecos, onde se multiplicam e são eliminadas pelas fezes de forma constante ou intermitente. As salmonelas tíficas são mais invasivas causando infecções septicêmicas contaminando vários órgãos. Podem ser transmitidas através do aparelho reprodutor contaminado. O ovo também pode ser contaminado pela cloaca através da penetração da salmonela pela casca.

3.4.1 FONTES DE CONTAMINAÇÃO

O ovo apresenta várias barreiras físicas que dificultam a invasão de microrganismos. Mesmo que consigam penetrar na casca com sucesso, sua sobrevivência e multiplicação dentro do ovo podem ser prejudicadas. A viscosidade da albumina garante que o microrganismo permaneça localizado, e juntamente com a chalaza e saco albuminoso, evitam o seu contato com a gema. Além disso, a presença de lisozimas na albumina hidrolisa os peptídeos presentes na parede celular bacteriana (SESTI e ITO, 2009).

Segundo Cox et al. (2010), a introdução da *Salmonella* spp. em ovos para incubação ocorre por transmissão vertical, em que a bactéria tem origem a partir de uma galinha infectada ou pela transmissão horizontal onde, o patógeno invade o ovo transpassando sua casca logo após a postura. Os dois mecanismos estão possivelmente envolvidos.

Para Andreatti Filho (2007), quando os ovos que estão contaminados, seja na casca ou no seu interior, a transmissão da bactéria é favorecida. Fragmentos desses ovos, como casca e gema, os próprios pintinhos, suas penas e mecônio, são fontes altamente contaminantes. A partir das incubadoras contaminadas, a *Salmonella* consegue se propagar pelo ar, contaminando vários setores do incubatório.

Segundo a OIE (2012) rações contaminadas com *Salmonella* tem sido a fonte mais comum de introdução de novas variedades da bactéria na cadeia de produção animal e a partir de onde é posteriormente distribuída para outros setores, por meio da movimentação dos animais.

A ração pode conter uma microbiota diversificada que é adquirida a partir de múltiplas fontes ambientais, como poeira, solo, água, plantas e insetos. As matérias-primas também podem ser contaminadas em qualquer momento durante o processamento, armazenamento e fornecimento. A diversidade microbiológica encontrada nos alimentos depende da atividade de água, tensão de oxigênio, pH, composição dos nutrientes e teor de umidade. Alguns microrganismos podem se adaptar a escassez de água livre, podendo crescer ativamente nos grãos. No entanto, a maioria deve possuir estratégias para sobreviver na ração até que haja condições favoráveis ao seu desenvolvimento (MACIOROWSKI et al., 2007).

Para Ratcliff (2006), a contaminação das matérias primas é resultado de falta de boas práticas de fabricação e no contato com as fezes de roedores, insetos e aves. Algumas cepas ocasionalmente isoladas das fábricas de rações podem sobreviver nas indústrias durante vários anos. Uma hipótese para essa persistência seria a formação de biofilmes nas máquinas, que protegeriam as bactérias de estresses, como por exemplo, a desinfecção (VESTBY et al., 2009).

Do alojamento das aves ao abate são muitos os fatores que influenciam a contaminação e manutenção da *Salmonella* na cadeia de produção. A cama, o jejum pré-abate e o transporte das aves, estão entre os principais envolvidos que devem ser monitorados (MENDONÇA, 2011).

A microbiologia da cama é bastante diversificada devido à constante deposição de matéria fecal, secreções e descamações das aves, além de fungos e bactérias presentes no ambiente. Além disso, a cama reutilizada pode ser uma fonte residual de *Salmonella* podendo transferir a bactéria para os próximos ciclos de produção se não for bem fermentada (CHINIVASAGAM et al., 2012; VIEIRA, 2011).

Existem também diversos disseminadores mecânicos importantes na transmissão de *Salmonella* spp. para as aves. Os animais domésticos e selvagens, incluindo aves, roedores, insetos e o próprio homem podem propagar e manter a bactéria durante longos períodos no ambiente de criação (ANDREATTI FILHO, 2007). Um deles é o cascudinho (*Alphitobius diaperinus*) que se alimenta de fezes, carcaças, fungos, grãos e farinhas armazenadas configurando-o como um veiculador de agentes patogênicos podendo infectar lotes sucessivos e ainda carrear o patógeno para a água e o solo independente da fase de alojamento das aves (PAIVA, 2000; RODRIGUES, 2011).

O jejum pré-abate é outro principal fator de contaminação, segundo Cardoso e Tessari (2008), com a retirada da alimentação das aves antes do abate, as aves tornam-se estressadas e isso promove o aumento da população de *Salmonella* no papo de animais que por ventura já estejam contaminados, facilitando a colonização. Estudos demonstram que o papo, mesmo antes do jejum, pode abrigar um número significativo destas bactérias. *Lactobacillus* sp. presentes no papo das aves, regulam o pH em torno de 3,6, dificultando a proliferação de *Salmonella* spp., no entanto,

com o jejum prolongado, o pH do papo aumenta, favorecendo a multiplicação de *Salmonella* spp.

Para Hermann (2012) o tempo de jejum dos frangos não deve ser maior que dez horas, tempo este que inclui o transporte e a espera na plataforma do abatedouro. Um período maior que este, faz com que a ave fique estressada e elimine uma quantidade maior de *Salmonella*, aumentando a contaminação cruzada entre aves. O consumo de cama também pode ser intensificado pela ave enquanto no aviário pela procura de alimento, o que aumenta a ingestão da bactéria. Ainda, o jejum, quando muito prolongado torna a parede intestinal mais frágil, o que leva a um maior número de rompimentos durante o processo de abate.

As caixas de carregamento das aves do campo até o abatedouro também merecem atenção e controle rigoroso, devem ser lavadas com desinfetante de elevado poder para eliminar o microrganismo com excelente ação residual sobre matéria orgânica. Quando isso não ocorre de maneira correta levam contaminação de uma granja para outra. O ato de molhar as aves após o carregamento também aumenta a contaminação cruzada, pois, esse procedimento faz com que os excretas acumulados nas caixas de transporte sejam espalhados por todas as aves da carga (HERMANN, 2012).

Dessa forma, por estar amplamente distribuída e de difícil controle, as salmonelas prevalecem no meio em decorrência da condição de criação dos animais, padrões de higiene e biossegurança, nível de contaminação do alimento, fatores socioeconômicos e ambientais. Por isso, o controle representa um grande desafio ao setor avícola, principalmente pela diversidade e emergência de novos sorotipos e pela sua relação com a saúde pública (MUNIZ, 2012).

3.4.2 CONTROLE DE SALMONELLA

Como o controle de *Salmonella* é complexo, todas as fontes possíveis de contaminação são potencialmente importantes. Em um sistema de produção de aves deve-se levar em consideração o monitoramento da granja de matrizes, incubatório, alimento, roedores, insetos, aves silvestres, transporte, meio ambiente da criação das aves, processo de abate e instalações do frigorífico (BAILEY et al., 2001).

Os programas de monitoria são uma ferramenta importante para o delineamento de uma estratégia de controle, mas antes, é necessário saber se a *Salmonella* está presente na granja, em qual local, qual é a sua frequência, o tipo e de onde veio. Desta forma, um programa de monitoria bem administrado e avaliado adequadamente é eficiente. A frequência em que as monitorias devem ser realizadas é variável e depende de três pontos: importância do plantel, condições de biossegurança e histórico (BACK et al., 2006).

As ferramentas mais utilizadas para o controle e manejo do ciclo da *Salmonella* são: vacinas, probióticos, prebióticos, antibióticos, ácidos orgânicos, inseticidas, raticidas, formaldeídos, cloro na água, desinfetantes, tratamentos térmicos (HERMANN, 2012).

Para acompanhar a crescente demanda de produção avícola, o uso de técnicas e ações que diminuam a incidência de doenças no plantel avícola se faz necessária. Por muitas décadas, promotores de crescimento como alguns antibióticos, tiveram e ainda tem importância na produção de proteína animal dadas às vantagens que oferecem, neutralizando ou amenizando os efeitos prejudiciais nesses produtos (BRASIL, 2008).

Os antibióticos além de curativos possuem também a função de estimular o crescimento, pois atuam no intestino selecionando a microbiota e eliminando microrganismos produtores de toxinas, além de melhorar o aproveitamento dos alimentos. A partir da década de 40 com os trabalhos de Moore et al. (1946), Stockstand et al. (1949 e 1951) e de Jukes (1949), é comum o fornecimento na alimentação animal contendo promotores de crescimento, para melhorar a conversão alimentar e diminuir o desperdício na produção, além de auxiliar na terapêutica e profilaxia de infecções bacterianas, pois resultados positivos têm sido demonstrados ao longo do tempo (LOPES et al., 2006; BOTTEZINI et al., 2005).

Entretanto, muitas vezes seu uso é feito de forma desordenada no setor agrícola, fazendo com que sob a pressão seletiva imposta pelo uso de antimicrobianos, os microrganismos desenvolvem e/ou adquirem uma variedade de genes ou sofrem mutações que conferem resistência aos antimicrobianos. Vários destes genes conhecidos estão localizados em elementos genéticos móveis, tais como plasmídeos, transposons, sequências de inserção e nas ilhas de

patogenicidade. Como consequência os genes são facilmente trocados entre bactérias que vivem no mesmo habitat, por exemplo, as enterobactérias no trato gastrointestinal de seres humanos e animais (SCHWARZ e CHASLUS-DANCLA, 2001).

A resistência antimicrobiana usualmente é extracromossômica, cuja disseminação pode ocorrer em nível clonal, associada à replicação cromossômica. Esta pode ocorrer através de diferentes mecanismos como, por exemplo, transferência de plasmídeos, de replicons ou migração de genes com replicação de transposons, os quais coexistem na natureza e se multiplicam de forma exponencial, tendo em vista que estão associados com a duplicação do DNA. Resistência a 12 drogas foi observada em um simples plasmídeo de uma enterobactéria (RODRIGUES, 2001).

Entretanto as populações bacterianas sensíveis à ação de drogas podem se tornar resistentes basicamente por dois processos. Primeiro, por mutação espontânea e seleção, em que as bactérias que transportam mutação no material genético que confere resistência sobrevivem ao uso da droga e as sensíveis são eliminadas. Assim, as células resistentes transferem essa característica as células-filhas, caracterizando a evolução ou transmissão vertical (TENOVER, 2006).

Algumas bactérias Gram-negativas podem estar associadas a metais pesados, portanto a presença de mercúrio, cádmio ou outros metais pesados no ambiente, pode estimular a proliferação de microrganismos que contém genes de resistência antimicrobiana. Se por um lado estas características vêm evoluindo significativamente durante as duas últimas décadas, o impacto econômico na comunidade, somente está começando (BRASIL, 2012).

Através da Instrução Normativa nº 65, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, o governo brasileiro regulamentou o procedimento para o uso destes metais nas rações e restringiu a utilização de alguns antimicrobianos na produção de frangos de corte. Com essa proibição e a crescente preocupação com resíduos de medicamentos nas carcaças, que possam causar danos à saúde humana, os probióticos, prebióticos, ácidos orgânicos e óleos essenciais de plantas estão sendo pesquisados mais intensamente nos últimos anos (CURY, 2013).

3.5 MICROBIOTA INTESTINAL

Para Thompson e Applegate (2006) a habilidade de o intestino defender-se e prevenir-se da colonização de agentes patogênicos, é conhecida como homeostase intestinal. É um equilíbrio dinâmico entre a mucosa intestinal e o conteúdo luminal e preservação das características estruturais e funcionais da mucosa dentro dos padrões esperados para o tipo, espécie e linhagem de ave, para uma determinada fase de seu ciclo de vida.

A mucosa e os enterócitos constituem uma barreira dinâmica e metabolicamente ativa que apresenta permeabilidade seletiva. Esta barreira possui função múltipla, que envolve a digestão, a captação seletiva e o transporte de substâncias específicas e de nutrientes e a exclusão de toxinas e de microrganismos através da imunidade inata e adquirida. A barreira da mucosa é capaz de responder rapidamente e extensivamente através de adaptações morfológicas e funcionais em resposta às demandas do desenvolvimento ontogenético e desafios ambientais e nutricionais (ITO et al., 2007).

O trato gastrointestinal das aves ao nascer é praticamente isento de microrganismos patogênicos e a microbiota é formada por meio da ingestão, ou por contato com ambiente que contenha microrganismos. O intestino delgado é colonizado na segunda semana de vida (MAIORKA et al., 2006).

O estudo da microbiota intestinal evoluiu com o avanço das técnicas moleculares. Técnicas baseadas na similaridade do DNA ou RNA de selecionados genes na comunidade microbiana têm sido utilizados com sucesso para caracterizar o ecossistema intestinal, inclusive o dogma da ave neonata isenta de microbiota foi quebrado quando se estudou a composição da comunidade bacteriana de aves através de técnicas moleculares (PEDROSO et al., 2005).

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

A microbiota intestinal das aves é composta de inúmeras espécies bacterianas, formando um sistema complexo e dinâmico. Aquelas que colonizam o trato intestinal no início, tendem a persistir ao longo da vida da ave, passando a compor a microbiota intestinal. A formação desta microbiota se dá imediatamente após o nascimento das aves e aumenta durante as primeiras semanas de vida, até se tornar uma população predominantemente de bactérias anaeróbias (PALERMO-NETO et al., 2005).

O pH das diferentes partes do intestino (duodeno, jejuno, íleo e cecos) se define em aproximadamente uma semana de vida, e a microbiota de cada segmento intestinal terá uma colonização diferenciada. A inoculação precoce de espécies bacterianas benéficas, como os *Lactobacillus* spp. e demais bactérias ácido lácticas, podem interferir neste processo, pois quando fornecidas e estabelecidas no intestino no início da vida das aves, tornam o microambiente intestinal mais resistente aos desafios por enterobactérias, além de favorecer o sistema imune inato e melhorar o desempenho produtivo das aves (FULLER, 1989).

Para Pluske Jr. et al. (1997), a microbiota, em equilíbrio, atua como uma barreira de defesa, impedindo a fixação de patógenos no trato gastrointestinal. Ao contrário, condições de desequilíbrio microbiano como estresse e troca de alimentação podem criar um ambiente favorável à fixação de microrganismos patogênicos. Em resposta a essas modificações, ocorre redução no desempenho, normalmente associada a alterações histológicas e bioquímicas no intestino delgado, como atrofia das vilosidades e hiperplasia das criptas e, conseqüentemente, redução na capacidade de digerir e absorver nutrientes da dieta.

Para Tellez (2014) hoje em dia, as áreas da imunologia, microbiologia e nutrição, convergem de forma impressionante, e o equilíbrio da microbiota intestinal e a imuno-estimulação são importantes funções atribuídas às bactérias benéficas. Uma colonização microbiana retardada da mucosa intestinal, que é o maior órgão imune do corpo humano ou animal, pode causar mudanças significativas no sistema imune, podendo proporcionar impactos de longo prazo na imunidade sistêmica.

3.6 ADITIVOS NA AVICULTURA

A tecnologia empregada no setor avícola tem procurado aperfeiçoar sua produção, com o objetivo de buscar melhores resultados econômicos e produzir alimentos mais seguros e saudáveis para o consumidor. A avicultura nos últimos anos tem se desenvolvido nas áreas de genética, nutrição, manejo e sanidade. No entanto, é constante a busca por alternativas que aumentem a produtividade animal, melhore a qualidade dos produtos finais e reduzam os custos de produção, sem prejudicar o desempenho zootécnico das aves (SANTOS et al., 2002).

De acordo com a Instrução Normativa Nº 13 de novembro de 2004 do MAPA, aditivos são produtos destinados à alimentação animal como substância, microrganismo ou produto formulado, que não é utilizada normalmente como ingrediente, que tenha ou não valor nutritivo e que melhore as características dos produtos destinados à alimentação animal ou dos produtos animais, melhore o desempenho dos animais sadios e atenda às necessidades nutricionais ou tenha efeito anticoccidiano (BRASIL, 2004).

Para assegurar que os nutrientes sejam ingeridos, digeridos, protegidos da destruição, absorvidos e transportados até às células do organismo, são incluídos aditivos na alimentação das aves de produção industrial (LANCINI, 1994). Estes aditivos adicionados em dietas nutricionalmente equilibradas devem proporcionar uma melhor resposta do potencial genético das aves, em termos de crescimento e eficiência da conversão alimentar (DHAMA et al., 2014).

Desde 1950 vários aditivos vem sendo utilizados nas rações animais como alternativa para melhorar os resultados de desempenho zootécnico e reduzir os custos de produção. Entre os aditivos mais utilizados nas rações de aves destacam-se os ácidos orgânicos, os antioxidantes, os anticoccidianos, as enzimas, os flavorizantes, os pigmentantes e os antimicrobianos, sendo este último grupo utilizado para fins terapêuticos ou como melhorador de desempenho (TOLEDO et al., 2009).

3.6.1 ÁCIDOS ORGÂNICOS

De acordo com Lehninger et al. (1993), ácidos orgânicos são constituintes naturais de plantas e animais, que podem ser formados através da fermentação microbiana no intestino ou nas rotas metabólicas intermediárias.

Os ácidos orgânicos por serem um grupo químico, são considerados como sendo qualquer substância de estrutura geral R-COOH, gerando grupos de compostos relacionados, conhecidos como derivados dos ácidos carboxílicos, como os aminoácidos, ácidos graxos, coenzimas e metabolitos intermediários (SOLOMONS e FRYHLE, 2002).

Aqueles associados com atividade antimicrobiana são os ácidos graxos de cadeia curta, tanto monocarboxílicos, como fórmico, acético, propiônico e o butírico ou carboxilados com o grupo hidroxila como láctico, málico, tartárico e o cítrico. O principal mecanismo de ação dos ácidos refere-se à Teoria dos Ácidos Fracos, exercendo atividade antimicrobiana devido a redução do pH no interior da célula microbiana (CHERRINGTON et al., 1991; ROTH e KIRCHGESSNER, 1998).

A forma não dissociada do ácido é lipossolúvel e dessa forma tem capacidade de atravessar de forma passiva a membrana celular. No interior da célula, o ácido se dissocia alterando o pH citoplasmático, afetando o metabolismo, alterando o gradiente de prótons e a carga com o exterior, pode também interferir no sistema de transporte de aminoácidos e fosfatos, além disso, enzimas são inativadas (RUSSEL, 1992).

3.6.2 ANTICOCIDIANOS

Os aditivos anticoccidianos podem ser empregados para tratamento preventivo ou curativo da coccidiose, sendo comumente referidos na prática aviária como divididos em sintéticos ou ionóforos (antibióticos poliésteres). Existem no mercado medicamentos compostos por misturas de ionóforos com compostos obtidos por síntese química, como nicarbazina com narasiana (PALERMO-NETO, 2005).

Em 1967, a estrutura do primeiro anticoccidiano ionóforos foi descrita, relatado como monensina, especificando seu largo espectro de ação sobre as coccidioses. A partir da descoberta da monensina, teve-se início a introdução de

outros compostos anticoccidianos com modo de ação semelhante (CHAPMAN et al., 2010).

Os ionóforos são anticoccidianos com boa palatabilidade, compatíveis com outros aditivos e possuem estabilidade química e física em todos os tipos de rações, suplementos e alimentos líquidos (ZANINE et al., 2006). Possuem este nome devido à propriedade transportadora de íons, com capacidade de formar complexos lipossolúveis com cátions, e mediar seu transporte através das membranas lipídicas (PRESSMAN, 1968). Em virtude dessa capacidade de transporte, os ionóforos afetam o balanço iônico intracelular, exercendo seu efeito coccidiostático (BORGES et al., 2001).

3.6.3 ENZIMAS EXÓGENAS

Para Nelson e Cox (2002), enzimas são proteínas especializadas, catalisadoras de reações que ocorrem nos sistemas biológicos. As enzimas digestivas fazem parte desse grupo, e tem como finalidade tornar alguns nutrientes disponíveis para absorção. Algumas destas enzimas não são sintetizadas pelo organismo ou são sintetizadas em quantidades insuficientes para o bom aproveitamento das dietas.

Desta forma, o uso de enzimas exógenas tem como objetivo melhorar a eficiência produtiva na avicultura industrial, demonstrando benefícios como: a melhora da digestibilidade dos ingredientes, a possibilidade de utilização de ingredientes alternativos, a redução da excreção de nutrientes e da contaminação do meio ambiente por estes nutrientes. Entre as enzimas atualmente utilizadas em rações estão as carboidrases, proteases e fitases (MARCHINI et al., 2015).

As carboidrases podem atuar na degradação de polissacarídeos não amiláceos que podem estar associados à lignina formando o complexo total dietético de fibra, responsável por aumentar a viscosidade do quimo, dificultando a digestão e absorção de proteínas, lipídios e vitaminas lipossolúveis (FIREMAN, 2013).

As fitases estão sendo usadas por sua capacidade de catalisar a degradação de fitato, liberando o ortofosfato e fosfatos de inositol inferiores para serem absorvidos (KESHAVARZ e AUSTIC, 2004). De acordo com Ravidran et al. (2006) e

Fukayama et al. (2008), ao hidrolisar o fitato, a enzima libera o fósforo, melhorando a assimilação pela ave e reduz os impactos negativos da excreção de fósforo inorgânico no meio ambiente.

3.6.4 ADITIVOS AUXILIARES

São substâncias que podem ser dispensáveis nas rações, porém, são importantes na conservação, na melhoria da palatabilidade e como fonte de pigmentos. Os pigmentantes sintéticos amarelos são produtos com alta concentração de pigmentos amarelo que ocorrem na natureza como produto metabólico do apocaroteno, sua forma comercial é o etil-éster-beta-apo-8-caroteno. Já, o pigmento vermelho sintético é a cantaxantina, comercializado como 4,4'-diceto-â-caroteno. Ambos são utilizados na alimentação de poedeiras para aumentar a coloração da gema de ovos em atendimento a exigências de mercado (GARCIA et al., 2002). Os pigmentos carotenoides normalmente encontrados em vegetais, são responsáveis pela coloração das penas, pele e gema dos ovos (BERTECHINI, 2006).

Para estabilização dos pigmentantes aos processos de oxidação, é necessária a utilização de antioxidantes nas rações. O selênio-orgânico (selenometionina) tem se mostrado um efetivo antioxidante e potencializador de pigmentação (GONÇALVES et al., 2006).

Os produtos com função palatilizante e aromatizante, conferem ou intensificam o aroma e o sabor dos alimentos e são responsáveis por melhorar a aceitação e estimular a ingestão de alimentos. Esses aditivos são classificados como flavorizantes, visto que, "flavor" é o termo designado para o complexo olfativo e gustativo do alimento. Portanto, "flavor" é uma combinação de sabor e odor, que estimula os receptores da cavidade oral e nasal dos animais (NUNES, 1998; CANTARELLI et al., 2005).

Os aromatizantes conferem aroma ao produto destinado à alimentação, com melhorias na aceitação dos alimentos e, conseqüentemente, estimulam o consumo pelo animal, mediante a ativação das glândulas de secreção, além de favorecerem o aproveitamento do alimento pelo organismo. Já os palatilizantes, têm a função de

melhorar o paladar dos produtos, estimular o consumo e manter a uniformidade de aroma e gosto das rações (CAVALCANTI, 1987; BELLAVER, 2000; BUTOLLO, 2002).

Os galináceos em especial, apresentam uma grande tolerância em relação aos vários palatáveis. Apesar de seus pré-requisitos anatômicos não muito desenvolvidos, todas as espécies de aves manifestam preferências em seu comportamento alimentar, o qual, também, é afetado pelo *feedback* decorrente da deglutição do alimento (VIEIRA, 2010).

3.6.5 ANTIMICROBIANOS

A utilização de antimicrobianos constitui uma tecnologia eficiente aplicada na indústria avícola, porém nos últimos anos, o papel dos antimicrobianos utilizados como melhoradores de desempenho vem sendo discutido juntamente com a emergência de bactérias resistentes em humanos. Em função destas discussões, e com base no “princípio da precaução”, diversos países determinaram a proibição desta forma de utilização dos antimicrobianos na produção animal. Precaução, pois sua utilização ainda não indicou evidências concretas comprovadas por estudos epidemiológicos da associação da utilização de antimicrobianos na produção animal e aumento do risco de infecções por bactérias resistentes em humanos (MARCHINI et al., 2015; ROSTAGNO, 2011).

Com a retirada de uma ferramenta tecnológica amplamente utilizada é de se esperar que apareçam consequências também amplas quanto ao desempenho produtivo na indústria avícola. Alguns dos efeitos potenciais da restrição ou proibição do uso de antimicrobianos na produção animal pode estar relacionado a redução da produtividade, aumento da incidência de doenças entéricas nas aves como a enterite necrótica e o aumento dos riscos de infecções alimentares em humanos (ROSTAGNO, 2011; VIDANARACHCHI et al., 2005).

A busca por alternativas aos aditivos antimicrobianos na alimentação de aves é uma realidade e estudos são necessários para que se possa afirmar até que ponto eles podem ou não ser utilizados, e em que condições e dimensões são realmente viáveis (ARAUJO et al., 2007).

Dessa forma, ingredientes de origem microbiana como probióticos e prebióticos tem merecido especial atenção como uma alternativa ao uso dos tradicionais antibióticos, embora haja necessidade de mais pesquisas, a utilização dessas alternativas representa um avanço tecnológico, aplicando os efeitos benéficos proporcionados por esses aditivos naturais às criações industriais (FURLAN et al., 2007).

3.7 ADITIVOS EUBIÓTICOS

Os aditivos alternativos têm sido descritos como 'Eubióticos', relacionado ao termo grego 'Eubiosis', referindo-se a um equilíbrio ideal de microbiota gastrointestinal. A finalidade principal de usar tais eubióticos é manter o equilíbrio da microbiota intestinal, o que resultará em melhor estado de saúde e consequentemente, em melhor desempenho dos animais (PAULUS, 2014).

Alimentos probióticos e prebióticos foram consumidos durante séculos, como componentes naturais dos alimentos, ou como alimentos fermentados. Mas o grande interesse pela microbiologia intestinal e o uso de dietas com prebióticos e probióticos, teve grande desenvolvimento no final dos anos de 1800 e início de 1900, motivado pelo isolamento da *Escherichia coli* por Theodor Escherich em 1885, bem como a investigação ativa sobre os benefícios da alimentação com bactérias lácticas e lactose perto da virada do século 20 (HUME, 2011).

As bactérias lácticas estão no centro histórico dos suplementos probióticos de uso terapêutico. Os conceitos mais modernos de probióticos têm o seu início nas obras de Ilya Mechnikov (também conhecido como Elie Metchnikoff). Mechnikov recebeu o Prêmio Nobel em 1908 por seu trabalho no estudo da fagocitose, e considerado o pai dos probióticos modernos (FULLER, 1992). Seus estudos sobre probióticos foram baseados nas observações de Stamen Grigorov, um microbiologista búlgaro, que documentou os benefícios para a saúde do iogurte búlgaro e identificou o organismo ativo nesse alimento, como o *Lactobacillus bulgaricus*, antes conhecido como *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. Mechnikov promoveu a idéia de que o iogurte e os seus constituintes bacterianos foram os ingredientes essenciais que contribuíram para a longevidade dos

camponeses búlgaros. No entanto, a produção, o consumo, e os benefícios a saúde, proporcionados pelo iogurte já eram conhecidos pelos povos do Oriente Médio e Ásia aproximadamente há uns 5.000 anos atrás (HUME, 2011).

Desde então, numerosos estudos *in vivo* e *in vitro*, têm mostrado que a microbiota intestinal comensal tem capacidade de inibir agentes patogênicos, que provocam distúrbios e podem aumentar a susceptibilidade a infecções. Com o uso de prebióticos e probióticos consegue-se modular a microbiota e aumentar a resistência às infecções (STAVRIC e KORNEGAY, 1995; ROLFE, 2000).

Para Taverniti e Guglielmetti (2011), os probióticos são uma alternativa eficaz na prevenção e tratamento de doenças inflamatórias do sistema digestivo, e possuem capacidade de exercer uma modulação da microbiota, influenciando nas respostas imunes. Contudo, existe uma preocupação emergente principalmente na linha de produtos destinados ao consumo humano, relacionado a problemas de segurança alimentar decorrente ao uso extensivo de células microbianas vivas, principalmente relacionadas com problemas de translocação microbiana e infecção.

Besselink et al. (2008), relataram que células bacterianas vivas, mesmo as reconhecidas pelo *Generally Recognised As Safe* (GRAS), quando administradas em indivíduos com sistema imune deprimido, resposta inflamatória exacerbada e já com comprometimento da mucosa intestinal, poderia transformar os efeitos benéficos dessas bactérias em efeitos prejudiciais.

A partir disso, começaram os estudos para obter maiores informações a respeito de células bacterianas não viáveis, mortas e também de fragmentos destas células, focando principalmente na capacidade da modulação da resposta imune e seus benefícios para a saúde intestinal. Em contrapartida, a FAO/OMS restringe a palavra probiótico a produtos que contém microrganismos vivos, neste caso, foi proposto um novo termo, paraprobióticos que indicam a presença de células microbianas inativadas ou de fragmentos de células que oferecem benefícios à saúde dos consumidores (TAVERNITI e GUGLIELMETTI, 2011).

3.7.1 PROBIÓTICOS

Os probióticos são definidos como suplementos alimentares à base de microrganismos vivos, que proporcionam um equilíbrio na microbiota intestinal do hospedeiro (FULLER, 1989). A definição de probióticos aceita internacionalmente os descrevem como microrganismos vivos que quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde (FDA e WHO, 2001).

Os microrganismos probióticos aumentam a capacidade de colonização do trato intestinal inferior por bactérias comensais e inibem o crescimento de microrganismos potencialmente patogênicos, por exclusão competitiva (NURMI e RANTALA, 1973).

A exclusão competitiva da microbiota comensal contra agentes patogênicos inclui a capacidade de: baixar o pH através da produção de lactato, ácido lático e ácidos graxos de cadeia curta (AGCC); competir pela fixação nos enterócitos e pelos nutrientes disponíveis; produzir bacteriocinas; estimular o tecido linfóide associado ao intestino (GALT) através de componentes da parede celular; aumentar a produção de AGCC, que têm propriedades bacteriostáticas e bactericidas e estimular os linfócitos intra-epiteliais, e as células natural killers (ISHIZUKA e TANAKA, 2002; ISHIZUKA et al., 2004).

Uma variedade de espécies microbianas tem sido utilizadas como probióticos, incluindo espécies de *Bacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus*, *E. coli*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, além de espécies de leveduras e culturas mistas indefinidas. As espécies de *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* foram utilizados mais extensivamente em seres humanos, ao passo que as espécies de *Bacillus*, *Enterococcus*, e a levedura *Saccharomyces* tem sido utilizadas mais frequentemente na produção animal (SIMON et al., 2001).

Muitos probióticos são utilizados na produção de aves, entre eles se destacam os constituídos por *Lactobacillus* ssp. e outras espécies de bactérias ácido lácticas em estado vegetativo que são geralmente utilizados via água de bebida. Outros constituídos por esporos (ex. *Bacillus subtilis*) usados diretamente na ração, denominados, *direct-fed-microbial* estes sendo estáveis e resistentes ao calor durante o processo de peletização de ração (WOLFENDEN et al., 2007).

Em 1989, nos Estados Unidos, a *Food and Drug Administration* (FDA) exigiu dos fabricantes de alimentos o uso do termo Microrganismos Alimentares de Adição

Direta (*Direct Feed Microbial – DFM*) em substituição ao termo Probiótico. A definição da nova sigla (DFM) pela FDA que descreve como uma fonte de microrganismos vivos, viáveis e que ocorrem naturalmente gerou uma outra categoria ou classificação de microrganismos que recebeu a denominação de germes geralmente reconhecidos como seguros (GRAS). No Brasil, desde 1986, é usado o nome probiótico, conforme normas da Secretaria da Defesa Agropecuária e Defesa Sanitária Animal do Ministério da Agricultura. (FLEMMING, 2005).

3.7.1.1 *Bacillus subtilis*

O *Bacillus subtilis* (BS) é um bastonete Gram positivo, aeróbio facultativo, não patogênico, produtor de ácido acético, formador de esporos e pode ser isolado do solo (MAZZA, 1994). Segundo Teo et al. (2006), as células de *Bacillus subtilis* podem suportar o aquecimento até 100°C durante vários minutos, e os esporos podem sobreviver em 0,5% de sais biliares e germinar como células vegetativas novamente. Além disso, esporulam logo que as condições não são favoráveis (um só esporo por célula vegetativa), sendo muito resistentes no meio ambiente.

O principal modo de ação do BS é que seus esporos tem a capacidade de criar um ambiente anaeróbico dentro do intestino após a germinação, dessa forma, favorece o crescimento e proliferação dos lactobacilos microflora nativa, o que pode levar à exclusão competitiva a colonização de bactérias patogênicas e produção de ácido lático para controlar e limitar as bactérias patogênicas no intestino (LATORRE et al., 2014).

A vantagem dos *Bacillus* sobre as bactérias ácido lácticas reside na sua capacidade de esporular, o que lhes confere maior sobrevivência durante o trânsito estomacal e na elaboração, transporte e armazenamento das rações (HOA et al., 2000; GIL TURNES et al., 1999). Além disso, o pH favorável para esporulação fica dentro da faixa de 6,0 a 9,0 (MONTEIRO et al., 2005).

Dessa forma, o BS por serem resistentes e estáveis ao calor, seus esporos são ideais para fornecimento em rações peletizadas. Apesar de ser considerada uma espécie saprófita, que vive no solo, se têm evidências recentes que germina no

interior do trato gastrointestinal de frangos de corte e que podem adaptar-se a microbiota normal destas aves (WOLFENDEN et al., 2007).

De acordo com Nandy et al. (2008), o BS ainda tem o recurso do canibalismo para atrasar sua esporulação quando em limitação nutricional grave. A estratégia do canibalismo oferece um recurso valioso para os microrganismos que são limitados por nutrientes. No entanto, a esporulação, é um processo que consome muita energia e requer uma quantidade mínima de nutrientes para ocorrer, dessa forma, apenas iniciam a esporulação quando certos de estar sobre o *stress* iminente.

Algumas espécies de *Bacillus* são produtoras de substâncias estruturalmente semelhantes aos antibióticos, conhecidas como bacteriocinas, que são capazes de inibir ou matar uma grande variedade de outros microrganismos. A subtilina, uma das bacteriocinas produzidas pelo *Bacillus subtilis* e descoberta por Dirmick et al., (1947), é estável em ambientes ácidos e possui resistência térmica suficiente para suportar a tratamentos de 121°C, durante 30 a 60 minutos.

Possuem ainda, a capacidade de produzir diferentes enzimas exógenas, como a protease, lipase, celulase, xilanase, fitase e queratinase (LATORRE et al., 2014). Estas enzimas ajudam a melhorar a absorção de nutrientes, diminuem a viscosidade dos polissacarídeos não amiláceos no intestino, e diminuem a quantidade de substratos disponíveis para o crescimento de bactérias patogênicas. Além disso, tem sido mostrado que a presença de *Bacillus* isolados, tais como *Bacillus subtilis*, aumentam o crescimento de outros microrganismos benéficos, tais como *Lactobacillus* pela produção de subtilisina e catalase diminuindo pH intestinal (HOSOI et al., 2000).

Em seu experimento, Latorre et al. (2014), avaliaram germinação, distribuição e persistência de esporos de *Bacillus subtilis* no trato gastrointestinal de frangos, concluíram que a taxa de germinação após inclusão via ração é de 90%. Os esporos avaliados foram transitórios, e a persistência das células vegetativas no intestino continua desconhecida. Desta forma, para se obter os benefícios esperados pelo probiótico o fornecimento deve ser contínuo e via ração.

3.7.1.2 *Lactobacillus* sp.

Os *Lactobacillus* são bactérias lácticas Gram positivas, não esporuladas, catalase negativas, desprovidos de citocromos, anaeróbios, mas aerotolerantes, ácido tolerantes e estritamente fermentativos (HOLZAPFEL et. al., 2001). Dentro do gênero dos *Lactobacillus* estão cerca de 80 espécies reconhecidas, embora cinco espécies heterofermentativas de *Lactobacillus* tenham sido transferidas para o gênero *Weissella* (VÁSQUEZ et. al., 2005).

As primeiras definições de bactérias lácticas baseavam-se na capacidade de fermentação e coagulação do leite por esse grupo de microrganismos, incluindo também os coliformes. A descrição de *Lactobacillus* por Beijerinck em 1901 como bactérias Gram positivas separou os coliformes das bactérias lácticas (STILES e HOLZAPFEL, 1997).

De acordo com Patterson e Burkholder (2003) microrganismos como os *Lactobacillus* podem agir inibindo patógenos através de mecanismos como a competição por sítios de ligação, competição por nutrientes, produção de compostos tóxicos, assim como a estimulação do sistema imunológico. Estes mecanismos podem ser chamados de antagonismo bacteriano, interferência bacteriana, efeitos de barreira, resistência à colonização ou exclusão competitiva.

Shirota, por volta de 1930 no Japão, concentrou sua pesquisa na seleção de cepas de bactérias intestinais humanas que pudessem sobreviver à passagem através do intestino, e no uso dessas cepas para desenvolver leites fermentados para distribuição em sua clínica médica. Seu primeiro produto contendo *Lactobacillus casei* Shirota (naquela época denominado *Lactobacillus acidophilus*) foi a base para o estabelecimento da empresa Yakult no País (SHORTT, 1999).

A utilização dos *Lactobacillus* pode auxiliar na digestão e na absorção de nutrientes, quando agem sobre os sais biliares; produzem vitaminas do complexo B (Silva, 2000); produzem ácido láctico e acético que reduzem o pH do trato gastrointestinal, exercem efeito antimicrobiano e incrementam a absorção de ácidos graxos de cadeia curta (Leedle, 2000); melhoram a resposta imune específica e não específica mediante estimulação da produção de anticorpos, ativação de macrófagos, proliferação de células T e produção de interferon (Menten, 2001).

No trato intestinal das aves, o gênero *Lactobacillus* predomina, e há três espécies que se destacam o *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus salivarius*, e

Lactobacillus animalis (MARCHINI et al., 2015). Destes, somente o *Lactobacillus reuteri* tem capacidade de produzir a reuterina, uma substância antimicrobiana que é um metabólito intermediário do glicerol. Estes *Lactobacillus* podem ser administrados diretamente em embriões de perus e frangos por terem capacidade de exclusão competitiva de microrganismos presente no intestino das aves, como *Salmonella*, *Campylobacter*, *Listeria*, *Enterococci* e *E.coli* (EDENS, 2003).

Em seu experimento, Medeiros et al. (2012), avaliaram 96 cepas de *Lactobacillus* isolados a partir de fezes de aves, concluíram com base nos resultados *in vitro* que as cepas de *Lactobacillus acidophilus* e *Lactobacillus crispatus* foram as mais adequadas para uso na preparação de probiótico para frangos de corte, pois foram as mais tolerantes frente as barreiras do trato gastrointestinal (sais biliares e ácido clorídrico) e tiveram capacidade de inibição da *Salmonella* Enteritidis e *E. coli* após 24 horas de incubação.

Em aves, as bactérias patogênicas atingem o trato digestivo após vencerem a barreira do papo (inglúvio). A existência de pH baixo no papo é muito importante para impedir ou diminuir a colonização de patógenos no trato digestivo, associado à isso, a quantidade alta de *Lactobacillus* têm mostrado reduzir a ocorrência de *Salmonella* (HINTON et al., 2000).

Da mesma forma, Fuller (1984) demonstrou que o pH ácido, favorece a fixação de bactérias produtoras de ácido láctico como os *Lactobacillus* e desta forma um grande número destes se fixam aos sítios de ligação impedindo a colonização por bactérias dos gêneros *Clostridium*, *Salmonella* e *Escherichia coli*.

Mead (2000) propôs quatro métodos pelos quais a exclusão competitiva por bactérias ácido lácticas atuam nos patógenos entéricos: concorrência por receptores locais; produção de ácidos graxos voláteis; produção de bacteriocinas (peptídeos antimicrobianos) e competição por nutrientes.

Durante quatro anos, Tellez et al. (2006), trabalharam para identificar probióticos com capacidade de atuar no controle de *Salmonella* e outras enterobactérias patogênicas que colonizam o trato gastrointestinal de pintos e perus. Após mais de 8 milhões de bactérias probióticas selecionadas *in vitro*, 36 cepas foram identificadas com capacidade de inativar a *Salmonella* em frangos de corte no

período neonatal. Sendo os *Lactobacillus* os mais eficazes no tratamento dos pintos desafiados, com redução na taxa de recuperação de 80 a 90%.

Em lotes de frangos de corte infectados com *Salmonella* ambiental no período pré-abate e com tratamento duas semanas antes do abate com probiótico constituído por *Lactobacillus*, conseguiu-se reduzir significativamente a recuperação de *Salmonella* de perus e frangos de corte (VICENTE et al., 2005).

Os *Lactobacillus* assim como a maioria dos microrganismos são sensíveis às altas temperaturas e podem ser destruídos pela peletização das rações (EYNG et al., 2006). Desse modo, a administração dos *Lactobacillus* e demais probióticos constituídos por bactérias ácido lácticas são variados, podendo ser adicionados na água de bebida, pulverização sobre as aves e inoculados em ovos embrionados. (MARCHINI et al., 2015).

Com o uso de probiótico constituído por 11 cepas de *Lactobacillus*, Wolfenden et al. (2007), demonstraram a eficiência do uso *spray* deste produto após o nascimento das aves na planta do incubatório. Esta forma da aplicação diminui as variáveis que podem ocorrer quando administrado através da água de bebida (temperatura da água, medicamentos antimicrobianos, desinfetantes, etc.). Além disso, a administração no incubatório é importante, pois as aves estão recebendo bactérias benéficas logo após o nascimento, colonizando precocemente o trato digestivo, diminuindo os desafios por patógenos e incrementando o desempenho produtivo (FLEMMING, 2005). Para que ocorra a modulação da microbiota intestinal, Bertechini e Hossain (1993) recomendam que os probióticos sejam fornecidos precocemente às aves, pois as primeiras bactérias a chegarem ao trato gastrointestinal tenderão a colonizá-lo.

Dessa forma, na produção avícola, a suplementação com probióticos, em especial os *Lactobacillus*, tem se mostrado eficiente no ganho de peso, na conversão alimentar e na diminuição da mortalidade (HUANG et al., 2004).

3.7.2 PREBIÓTICOS

Prebióticos são definidos como ingredientes alimentares não digeríveis, que beneficiam o animal por estimular seletivamente o crescimento e a atividade

biológica de uma ou poucas espécies de bactérias benéficas não patogênicas no intestino, melhorando a saúde intestinal do hospedeiro (MENTEN e LODDI, 2003).

A maioria dos prebióticos é utilizada por populações microbianas endógenas, tais como *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*, que os usam como fonte de energia, proporcionando alterações na composição e atividade da microbiota intestinal, favorecendo a saúde intestinal do hospedeiro (PALERMO-NETO et al., 2005).

Para Gibson e Roberfroid (1995) e Palermo-Neto et al. (2005), as características para que um produto ou substância seja denominada prebiótico são: não ser hidrolisado e absorvido na porção superior do trato gastrointestinal; servir como substrato para uma ou mais bactérias intestinais benéficas, e estimular as bactérias probióticas a crescerem e tornarem-se metabolicamente ativas; ser capaz de alterar a microbiota intestinal de maneira favorável ao hospedeiro; induzir efeitos benéficos sistêmicos ou apenas no lúmen intestinal do hospedeiro. Os prebióticos proporcionam uma simbiose quando associados aos probióticos, pois atuam como beneficiadores das bactérias intestinais presentes nos probióticos.

Os prebióticos mais usados atualmente são os produtos à base de frutoligossacarídeos (FOS, oligofrutose, inulina). Os mananoligossacarídeos (MOS) e os frutoligossacarídeos (FOS) têm sido os oligossacarídeos mais indicados para a suplementação de rações e vem sendo usados em grande escala na produção de aves (NEWMAN, 1995). Além disso, de acordo com Seifert e Watzl (2007) os prebióticos modulam os processos imunológicos no nível do tecido linfóide associado ao intestino (GALT), favorecendo a saúde intestinal.

3.7.2.1 MANANOLIGOSSACARÍDEOS (MOS)

Os mananoligossacarídeo (MOS) são carboidratos extraídos da parede celular de leveduras (*Saccharomyces cerevisiae*). A parede celular é separada do conteúdo intracelular e o líquido contendo MOS é evaporado à baixa temperatura (*spray dry*) para evitar a destruição da parte funcional da molécula do prebiótico (SPRING et al., 2000).

Segundo Swennen et al. (2006), o percentual de oligossacarídeos na parede celular da levedura é de 85-90%, como glucanos e mananos, em proporções

similares, e o restante é composto de 5-10% de proteínas, podendo conter até 1% de quitina e 1% de lipídios. Porém, a composição da parede celular, sua estrutura e espessura, dependente do ciclo de vida da levedura e da origem da estirpe utilizada. Sendo a parede celular da levedura resistente à degradação das enzimas e bactérias do trato digestivo (MARTÍNEZ et al., 2010; ALVAREZ, 1996, CASSONE et al., 1994; MURAKAMI et al., 1996).

Os MOS atuam bloqueando a adesão e fixação de enterobactérias nos enterócitos. Em vez de aderir aos receptores presentes nas células do trato gastrointestinal, essas bactérias se aderem aos receptores de MOS presentes no conteúdo intestinal sendo eliminadas por peristaltismo (HEINRICHS et al., 2003; MIGUEL et al., 2004). A presença da manose que se liga a lecitina das fímbrias tipo 1 presente nas enterobactérias patogênicas, faz com que os MOS ocupem os sítios de aderência evitando de forma competitiva que essas bactérias se liguem aos enterócitos intestinais (KELLY et al., 1994; LUCI, 1989).

Além disso, podem estimular respostas imunes específicas e não específicas e aumentar o desempenho animal, influenciar a ecologia microbiana, dificultando a adesão bacteriana e diminuindo a concentração de patógenos. Podem também neutralizar micotoxinas e manter a integridade da mucosa intestinal (PETTIGREW, 2000; SPRING, 2000).

A modulação da microbiota intestinal e a redução da taxa de renovação celular (*turnover*) são propriedades específicas atribuídas ao MOS, pois melhora a digestibilidade e a capacidade de absorção dos nutrientes ao proporcionar um adequado equilíbrio da população microbiana (MAIORKA e DAHLKE, 2008).

O estudo de Santin et al. (2001) demonstrou os efeitos do MOS fornecido na ração sobre o desenvolvimento da mucosa intestinal de frangos de corte. Os melhores resultados, quando avaliado a altura das vilosidades intestinais, foram na primeira semana de vida das aves, tendo como consequência um pronunciado aumento no ganho de peso aos 42 dias de idade.

Dessa forma, a suplementação do alimento de pintainhos com MOS favorece o desenvolvimento intestinal inicial, com diferenças nos comprimentos de vilosidades, profundidade de criptas e quantidade de células caliciformes, além de

reduzir a aderência e inibir cepas de Salmonelas em células epiteliais do sistema digestivo das aves (SAVAGE et al., 1997; SHANE, 2001; OYOFO et al., 1989).

3.7.3 PARAPROBIÓTICOS (*BACTERIAL GHOST*)

A maioria dos trabalhos científicos definem probióticos de acordo com a definição recomendada pela FAO/WHO, que os descreve como “microrganismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas conferem benefícios à saúde do hospedeiro” (FAO / WHO, 2002). Esta definição deixa claro, que para ser probiótico, deve ser constituído por microrganismos “vivos”. Porém, estudos científicos indicam que os microrganismos inativados afetam positivamente a saúde intestinal. Alguns produtos constituídos de células microbianas não viáveis já estão presentes no mercado farmacêutico humano como o *Lacteól Fort* da *PUMC Pharmaceutical Co. Ltd.*

Muitos estudos têm focado na modulação da resposta imune que as células inativadas ou seus fragmentos podem exercer sobre o hospedeiro, já que é o principal meio pelo qual podem atuar (TAVERNITI e GUGLIELMETTI, 2011). Segundo Kataria et al. (2009) uma vantagem das bactérias inativadas é o tempo de prateleira, pois as bactérias ácido lácticas inativadas por calor tem a vantagem de poder ter um longo prazo de validade, uma facilidade de armazenamento e poucas exigências durante o transporte.

As *Bacterial Ghost* (BG) são envelopes celulares derivados de bactérias Gram negativas, desprovidas de todo o conteúdo citoplasmático, mas preservam sua morfologia, incluindo todas as estruturas da superfície celular. As BG estão sendo estudadas em função da sua capacidade em estimular o sistema imune contra as bactérias Gram negativas patogênicas em vários modelos de experimentos animais (LANGEMANN et al., 2010).

Durante o processo de produção das BG, após sua inativação, a morfologia da bactéria não sofre desnaturação, todos os elementos estimulantes principais do sistema imune, permanecem preservados. Esses elementos são designados como Padrões Associados a Patógenos, os PAMPs (*Pathogen- Associated Molecular Patterns*) que estão incluídos os lipopolissacarídeos (LPS), monofosforil lipídeo A

(MPL), peptidoglicanos, flagelos, as mananas, o DNA bacteriano entre outros. Os PAMPs são reconhecidos pelos receptores *Toll-Like* (TLR's), estes, classificados como Receptores de Reconhecimento de Padrões (PRR) que desencadeiam uma resposta imune inata quando reconhecidos (LANGEMANN et al., 2010).

Os TLR's são um tipo de glicoproteína transmembrana, que agem como sentinelas do sistema imune inato, reconhecidos como o principal tipo de PRR deste sistema. Eles estão presentes na membrana celular ou membrana de organelas celulares internas, de células dendríticas, macrófagos e neutrófilos.

Para Caron (2013) a grande vantagem em utilizar o sistema imune inato é a capacidade que ele tem de reagir precocemente a um desafio, minimizando os danos da inflamação específicos da infecção, diminuindo drasticamente a quantidade de patógenos invasores e de fazer a comunicação com o sistema imune adaptativo proporcionando mais vantagens frente ao desafio.

Essa ação sobre a resposta imune é atribuída a capacidade imunomodulação que essas células inativadas proporcionam. Imunomoduladores são descritos por Palermo-Neto et al. (2005), como substâncias capazes de alterar a intensidade das respostas imunes frente a patógenos como também de alterar o tipo de resposta, por exemplo, predominantemente celular ou humoral. Imunoestimulantes inespecíficos são substâncias que estimulam o sistema imune como um todo e podem tanto reduzir a imunodepressão ocasionada por algumas situações, como o estresse, e aumentar a resistência às doenças. Porém, esta imuno-estimulação inespecífica é geralmente de curta duração e deve ser utilizada em situações em que seus benefícios foram comprovados.

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

O desafio de uma ave com uma *Salmonella* spp, ou *Escherichia coli*, onde há presença do Lipopolissacarídeo (LPS-endotoxina) representa um importante fator gerador de febre, pode-se observar um dispêndio de energia que aumenta em 80 minutos após o desafio e atinge um pico em 3 horas, declinando na sequência. Este seria o resultado quando se considera quando não ocorre a multiplicação bacteriana,

o que não ocorre, e sim a persistência do desafio nos primeiros dias enquanto o sistema imune monta uma resposta eficaz. Nas primeiras 72 horas após o desafio pode haver um aumento de 33% no dispêndio de energia metabólica para cada 1,4° C de aumento da temperatura corporal, isto pode significar perdas produtivas a médio prazo (CARON, 2013).

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

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

4. REFERÊNCIAS

ALVAREZ, P. Los probióticos como complemento alimenticio. **Mundo Ganadero**, nº 11, p. 38-50, 1996.

ANDREATTI FILHO, R.L. Alimentos funcionais na produção avícola. **Saúde aviária e doenças**. São Paulo: Rocca, Cap. 6, p. 41-51. 2007.

APPLEY, M. D., et al. Role of veterinary therapeutics in bacterial resistance development: animal and public health perspectives. **American Veterinary Medicine Association**, v.212, n. 8, p 1209-1213, 2001.

ARAÚJO, J. A., et al. Uso de aditivos na alimentação de aves. **Acta Veterinaria Brasileira**, v.1, n.3, p.69-77, 2007.

BACK, A.; BELTRÃO, N.; LEÃO, J. A. Monitoria e controle de *Salmonella*: aspectos práticos. In: SIMPÓSIO BRASIL SUL DE AVICULTURA, 7, 2006, Chapecó. **Anais...** Chapecó, p. 95-103, 2006.

BAILEY, L. B.; MOYERS, S.; GREGORY, J. F. Folate. In: PRESENT KNOWLEDGE IN NUTRITION, Bowman, B.A. and R.M. Russel (Eds.). **International Life Sciences Institute**, Washington, DC, p. 214-229, 2001.

BARROW, P. A.; SIMPSON, J. M.; LOVELL, M. A. Intestinal colonisation in the chicken by food-poisoning *Salmonella* serovars, microbial characteristics associated with faecal excretion. **Avian Pathology**, 17, 571-588, 1988.

BARTON, M.D. Does the use of antibiotics in animals affect human health? **Australian Veterinary**, v. 3, p. 177-180, 1998.

BELLAVER, C. O uso de microingredientes (aditivos) na formulação de dietas para suínos e suas implicações na produção e na segurança alimentar. In: CONGRESSO MERCOSUR DE PRODUCCIÓN PORCINA, 1, 2000, Buenos Aires. **Memorias...** [online]. Buenos Aires: Universidade de Buenos Aires, p.93-108, 2000. Disponível em: www.cnpsa.embrapa.br/abraves-sc/pdf. Acesso em: 12 abr. 2015.

BERGER, C. N. et al. Fresh fruit and vegetables as vehicles for the transmission of human pathogens. **Environmental Microbiology**, 12(9), 2385–2397, 2010.

BERTEQUINI, A. G.; HOSSAN, S. M. Utilização de um tipo de probiótico como promotor de crescimento em rações de frangos de corte. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLA, 1993, Santos. **Anais...** Campinas: Fundação APINCO de Ciência e Tecnologia Avícolas, p.1, 1993.

BESSELINK, M. G., et al. Probiotic prophylaxis in predicted severe acute pancreatitis: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. **Lancet**, 12; 371(9620): 1246, 2008. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18438065>. Acesso em: 10 fev. 2015.

BERSOT, L. S. *Salmonella* no Brasil: sua importância no abate de aves. In: SIMPÓSIO DE SANIDADE AVÍCOLA DA UFSM, 5, 2006, Santa Maria. **Anais...** Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, 2006.

BERTECHINI, G. A. **Nutrição de monogástricos**. Lavras: UFLA, 301 p. 2006.
BORGES, A. S. Ionophores and horses: fatal association. **Continuous Educational Journal CRMVSP**, v.4, n.2, p.33-40, 2001.

BORSOI, A. Behaviour 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**. 42, p. 266-273. 2011.

BOTTEZINI, I. M. P.; CORSO, M. P.; VEIT, V. M. **Uso de Antibióticos na produção de Frango**. CEFET/PR. 2005. Disponível em: www.dipemar.com.br/carne/materia_arttec_carne.htm. Acesso em: 20 jul. 2014.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA. **Codex Alimentarius [online]**. Disponível em: http://www.agricultura.gov.br/internacional/negociacoes/multilaterais/codex_alimentarius. Acesso: 25 nov. 2012.

_____. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA. **Programa Nacional de Sanidade Avícola - PNSA**. Instrução Normativa nº 78. Diário oficial da União, República Federativa do Brasil, Brasília, 5 nov. 2003.

_____. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA. **Regulamento técnico sobre aditivos para produtos destinados à alimentação animal**. Instrução Normativa nº 13. Diário Oficial da União, República Federativa do Brasil, Brasília, 30 nov. 2004.

_____. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. **Perspectiva sobre a análise de risco e segurança dos alimentos**. Curso de sensibilização. OPAS/OMS, 160p. 2008.

_____. Secretaria de Vigilância em Saúde - SVS. **Manual técnico de diagnóstico laboratorial de *Salmonella* spp.: diagnóstico laboratorial do gênero *Salmonella***. Fundação Oswaldo Cruz. Laboratório de Referência Nacional de Enteroinfecções Bacterianas, Instituto Adolfo Lutz. Brasília, 60 p. (Série A. Normas e manuais técnicos), 2011.

_____. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. **Programa Nacional de Monitoramento da Prevalência e da Resistência Bacteriana em Frango – PREBAF**. 1ª ed. rev., Brasília, 2012. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/Prebaf>. Acesso em: 01 nov. 2014.

BROOKS, G. F. et al. Jawetz, Melnick e Adelberg: **Microbiologia Médica**. 24 ed. Rio de Janeiro: McGraw Hill, 820p, 2009.

BUTOLO, J. E. **Qualidade de ingredientes na alimentação animal**. Campinas: Colégio Brasileiro de Alimentação Animal, 430 p. 2002.

CANTARELLI, V. S. et al. **Aditivos e coadjuvantes biológicos na alimentação de suínos**. 1. ed., Lavras: UFLA, 95p. 2005.

CARDOSO, A. L. S. P.; TESSARI, E. N. C. **Salmonela na Segurança dos Alimentos e na Avicultura**. Centro Avançado de Pesquisa Tecnológica do Agronegócio Avícola. São Paulo, n. 80. 2008. Disponível em: <http://www.biologico.sp.gov.br/artigos>. Acesso em: 23 set. 2014.

_____; _____. *Salmonella* Enteritidis em aves e na saúde pública: revisão de literatura. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, n. 21, 2013. Disponível em: <http://faef.revista.inf.br>. Acesso em: 12 fev. 2015.

CARON, L. F. A resposta imune inata. **Avisite [online]**. 2013. Disponível em: <http://www.avisite.com.br/revista/materias/sistemaimune.html>. Acesso em: 12 fev. 2015.

CASSONE, A. et al. **Glucans wit immunostimulant activity**. Patent PCT/EP93/02063, 1994.

CAVALCANTI, S. de S. **Produção de Suínos**. Campinas: Instituto Campineiro de Ensino Agrícola, 453p. 1987.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION - CDC. **National Salmonella Surveillance Overview**. Atlanta, Georgia: US Department of Health and Human Services, CDC [online], 2011a. Disponível em: <http://www.cdc.gov/nationalsurveillance>. Acesso em: 23 set. 2014.

_____. **Investigation Update: Multistate Outbreak of Human Salmonella Heidelberg Infections Linked to Ground Turkey**. Atlanta, Georgia: US Department of Health and Human Services, CDC [online], 2011b. Disponível em: http://www.cdc.gov/salmonella/heidelberg/080111/index.html?s_cid=tw_cdc745. Acesso em: 12 nov. 2012.

_____. **Estimates of foodborne illness in the United States**. Atlanta, Georgia: US Department of Health and Human Services, CDC [online], 2011c. Disponível em: <http://www.cdc.gov/foodborneburden>. Acesso em: 12 nov. 2012.

CHAPMAN, H.D.; JEFFERS, T.K.; WILLIAMS, R.B. Forty years of monensin for the control of coccidiosis in poultry. **Poultry Science**, 89:1788–1801. 2010.

CHERRINGTON, C.A.; HINTON, M.; CHOPRA, I. Organic Acids: Chemistry antibacterial activity and practical application. **Advances in Microbiological Physiology**, v. 32, p.87-108, 1991.

CHINIVASAGAM, H. N.; TRAN, T.; BLACKALL, P. J. Impact of the Australian litter reuse practice on Salmonella in the broiler farming environment. **Food Research International**, Barking, v. 45, p. 891-896, 2012.

CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION - CAC. **Principles and Guidelines for the Conduct of Microbiological Risk Management (MRM) CAC/GL 63-2007**. Joint FAO/WHO food standards programme codex committee on food hygiene. 2007.

COLLINS, M. D.; GIBSON G. R. Probiotics, prebiotics, and synbiotics: approaches for modulating the microbial ecology of the gut. **American Journal of Clinical Nutrition** 69 (Suppl. 1):1042S–1057S.1999.

COSTA, André C.R. et al. **Utilização de probióticos em perus (*Meleagris gallopavo*) como promotores de crescimento**. 2009. 85p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária), Faculdade de Medicina Veterinária: Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, 2009.

COLLA, F. L. et al. 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. 4, n. 32, p. 289-292, 2012. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/pvb/v32n4/03.pdf>. Acesso em: 28 nov. 2014.

COX, J.M.; PAVIC, A. Advances in enteropathogen control in poultry production. **Journal of Applied Microbiology**. v.108, p. 745-755. 2010.

CURRIE, A. et al. Frozen chicken nuggets and strips and eggs are leading risk factors for *Salmonella* Heidelberg infections in Canada. **Epidemiology and Infection**, n. 133, p. 809-816, 2005.

CURY, Humberto A. **Avaliação de aditivos na água de bebida para controle de *Salmonella enterica* subespécie *enterica* sorovar Heidelberg em frangos de corte**. 2013. 60p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias), Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2013.

D'AOUST, J.Y.; MAURER, J.; BAILEY, J.S. *Salmonella* Species. In: DOYLO, M.P.; BEUCHAT, L.R.; MONTVILLE, I.J. (Eds). **Food Microbiology: fundamentals and frontiers**, 2 ed. Washinton: ASM Pressn, n.8, p. 141 -178, 2001.

DARWIN, K.H.; MILLER, V.L. Molecular Basis of the Interation of *Salmonella* with the Intestinal mucosa. **Clinical and Microbiology Revision**. 12: 405-428. 1999.

DAVIES, R.H.; WRAY, C. Persistence of *Salmonella* Enteritidis in poultry units and poultry food. **British Poultry Science**. v. 37, p. 589-596, 1996.

DHAMA, K. et al. Growth Promoters and Novel Feed Additives Improving Poultry Production and Health, Bioactive Principles and Beneficial Applications: The Trends and Advances-A Review. **International Journal of Pharmacology** 10 (3): 129-159, 2014.

DICKEL, Elci L. **Utilização da técnica microbiológica convencional, reação em cadeia da polimerase (PCR) e ensaio imunoenzimático (ELISA) no monitoramento de *Salmonella* em carcaças de frango para o controle higiênico-sanitário do processo de abate**. 2004, 127p. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2004.

DIRMICK, K. P. et al. Purification and properties of subtilin. **Archive Biochemistry**, v.51, p.1-11, 1947.

DUTIL, L. et al. Ceftiofur Resistance in *Salmonella enterica* Serovar Heidelberg from Chicken Meat and Humans, Canada. **Emerging Infectious Diseases**, v. 16, n. 1, p. 48-54, 2010.

EDENS F.W. An alternative for antibiotic use in poultry: probiotics. **Revista Brasileira Ciência Avícola**. Campinas, SP, v.5, nº 2, 2003.

ERF, G.F. Cell-mediated immunity in poultry. **Poultry Science**, v. 83, n. 4, p.580-590, 2004.

EUZÉBY, J.P. “List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature”: Genus *Bacillus*. [online]. Disponível em: www.bacterio.cict.fr/b/bacillus.html. Acesso em: 21 jan. 2015.

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

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION - FDA. **National Antimicrobial Resistance Monitoring System-Enteric Bacteria (NARMS): 2003 Executive report**. US Department of Health and Human Services, US Food and Drug Administration, Rockville, MD. 2006.

_____. **Guidance for industry, consumer-directed broadcast advertisements**. U.S. Food and Drug Administration, U.S. Department of Health and Human Services. 2012. Disponível em: <http://www.fda.gov/cder>. Acesso em: 30 set. 2014.

FERREIRA, A.J.P. et al. Alternativas para o controle de *Salmonella* em aves. **FACTA [online]**. 2014. Disponível em: http://www.facta.org.br/site/index.php/portal/alternativas_para_o_controle_de_Salmonella_em_aves. Acesso em: 28 nov. 2014.

FERREIRA, L.L. et al. Salmonelose em sanidade avícola e saúde pública. **Revista Eletrônica Nutridime**, Artigo 213, v. 10, nº 05, p. 2716 – 2751, 2013. Disponível em: http://www.nutritime.com.br/arquivos_internos/artigos/artigo_213.pdf Acesso em: 15 jul. 2014.

FIREMAM F. **Enzimas na nutrição animal**. [online]. 2013. Disponível em: <http://pt.engormix.com/MA-avicultura/nutrição/artigos/enzimas-nutrição-animal-t1645/141-p0.htm> Acesso em: 20 jan. 2015.

FLEMNIG, JS. **Utilização de leveduras, probióticos e mananoligossacarídeos (MOS) na alimentação de frangos de corte**. 2005, 111p. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2005.

FOLEY, S.L.; LYNNE, A. M. Food animal-associated *Salmonella* challenges, pathogenicity and antimicrobial resistance. **Journal of Animal Science**, Champaign,

v. 86, p. 173–187, 2008.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS - FAO. **Health and Nutritional Properties of Probiotics in Food including Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria.** [online], 2001. Disponível em: http://www.who.int/foodsafety/publications/fs_management/en/probiotics.pdf Acesso em: 13 abr. 2015.

_____. **Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food.** [online], 2002. Disponível em: <ftp://ftp.fao.org/es/esn/food/wgreport2.pdf> Acesso em: 13 abr. 2015.

FRANCO, B.D.G.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos.** São Paulo: Atheneu, 182 p. 2006.

FREITAS, J. B.; SANTOS, A. Evolução de sorovares modelo de banco de cepas. SEMINÁRIO INTERNACIONAL SOBRE SALMONELOSE AVIÁRIA. **Anais...** MAPA, 2011.

FREITAS NETO, O.C. et al. Sources of human non-typhoid salmonellosis: a review. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, vol.12, n.1, p.01-11. 2010.

FSANZ. **Microbiological risk assessment of raw cow milk.** Food Standards Australia New Zealand, Canberra. 2013a. Disponível em: [http://www.foodstandards.gov.au/publications/Documents/Salmonella%20\(non-typhoidal\).pdf](http://www.foodstandards.gov.au/publications/Documents/Salmonella%20(non-typhoidal).pdf) Acesso em: 26 jul. 2014.

_____. **Risk assessment of eggs and egg products.** Food Standards Australia New Zealand, Canberra. 2013b. Disponível em: <http://www.foodstandards.gov.au/code/proposals/documents/P301%20Eggs%20PPPS%20DAR%20SD1%20Risk%20Assessment.pdf>. Acesso em: 26 jul. 2014.

FUKAYAMA, E. H. et al. Efeito da suplementação de fitase e a digestibilidade dos nutrientes em frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.37, n.4, p.629-635, 2008.

FULLER, R. Microbial activity in the alimentary tract of birds. **Proceedings of Nutrition Society**, London, n 43, p 55-61, 1984.

_____. The importance of Lactobacilli in maintaining normal microbial balance in the crop. **British Poultry Science**, 18:85-94.1977.

_____. Probiotics in man and animals. **Journal of Applied Microbiology**. Oxford, v. 66, p. 365-378. 1989.

_____. **History and development of probiotics.** Pages 1–8 in Probiotics—The Scientific Basis. R. Fuller, ed. Chapman and Hall, London, UK Historic perspective: Prebiotics, probiotics, and other alternatives to antibiotics 1,2. 1992.

- FURLAN, R.L.; MACARI, M.; LUQUETTI, B.C. Como avaliar os efeitos do uso de prebióticos e probióticos e flora de exclusão competitiva. In: SIMPÓSIO TÉCNICO DE INCUBAÇÃO, MATRIZES DE CORTE E NUTRIÇÃO, 5. **Anais...** Balneário Camboriú, SC. 2004.
- GAGGIA, F.; MATTARELLI, P.; BIAVATI, B. Probiotics and prebiotics in animal feeding for safe food production. **Internacional Journal of Food Microbiology**. v. 141, p. 515-528. 2010.
- GARCIA, E.A. et al. Efeito dos níveis de cantaxantina na dieta sobre o desempenho e qualidade dos ovos de poedeiras comerciais. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, Campinas, v.4, n.1, p.1-7, 2002.
- GIBSON, G. R.; FULLER R. Aspects of in vitro and in vivo research approaches directed toward identifying probiotics and prebiotics for human use. **Journal of Nutrition**. 130:391S–395S. 2000.
- GIBSON, G. R.; ROBERFROID M. B. Dietary modulation of the human colonic microbiota: Introducing the concept of prebiotics. **Journal of Nutrition**. 125:1401-1412. 1995.
- GIL-TURNES, C. et al. Properties of the *Bacillus cereus* strain used in probiotic CenBiot. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v.30, n.1, p.11-14, 1999.
- GONÇALVES, F.M.; RECH, J.L.; RUTZ, F. Influência da fonte de selênio na coloração da gema do ovo. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFPel, 14., 2006, Pelotas. **Anais...** Pelotas: UFPEL, 2006.
- GRIMONT, P.A.D.; WEILL, F.X. **Antigenic Formulae of the Salmonella Serovars**. WHO Collaborating Center for Reference and Research on *Salmonella*. France: Institute Pasteur. 2007.
- GUIBOURDENCHE, M. et al. Supplement 2003 – 2007 (Nº 47) to the White-Kauffmann – Le Minor Scheme. **Research in Microbiology**. V. 161, p. 26-29, 2010.
- HAN, J. et al. DNA Sequence Analysis of Plasmids from Multidrug Resistant *Salmonella enterica* Serotype Heidelberg Isolates. **PLOS ONE** 7(12): e51160. 2012.
- HARGIS B. M. Evaluation of selected direct-fed microbial candidates on live performance and *Salmonella* reduction in commercial turkey brooding houses. **Poultry Science** 90 :2627–2631, 2011.
- HASMAN, H. et al. β lactamases among extended-spectrum β -lactamase (ESBL)-resistant *Salmonella* from poultry, poultry products and human patients in the Netherlands. **Journal Antimicrobial Chemother.** v.56, p.115-21. 2005.

HEINRICHS, A.J.; JONES, C.M.; HEINRICHS, B.S. Effects of mannan oligosaccharide or antibiotics in neonatal diets on health and growth of dairy calves. **Journal Dairy Science**, Lancaster, v. 86, p. 4064-4069, 2003.

HENNESSY, T. W. et al. Egg Consumption is the Principal Risk Factor for Sporadic Salmonella Serotype Heidelberg Infections: A Case-Control Study in FoodNet Sites. **Clinical Infectious Diseases**, v. 38, n. 3, p. 237-243, 2004.

HENSEL, M. Evolution of pathogenicity islands of Salmonella enterica. **International Journal Medical Microbiology**, v.294, p.95-102, 2004.

HERMANN, S. Principais pontos críticos de controle de ciclo da Salmonella na cadeia de produção avícola. In: SIMPÓSIO BRASIL SUL DE AVICULTURA. **Anais...** Chapecó, p. 13-26, 2012.

HINTON, A. Jr.; BUHR, R.J.; INGRAN, K.D. Physical, chemical, and microbiological changes in the crop of broiler chickens subjected to incremental feed withdrawal. **Poultry Science**, v. 79, p.212-218, 2000.

HOA, N.T. et al. Characterization of *Bacillus* species used for oral bacteriotherapy and bacterioprophyllaxis of gastrointestinal disorders. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.66, n.12, p.5241-5247, 2000.

HOFFMANN, M. et al. Comparative Genomic Analysis and Virulence Differences in Closely Related Salmonella enterica Serotype Heidelberg Isolates from Humans, Retail Meats, and Animals. **Genome Biology and Evolution**. 6 (5): 1046–1068. 2014.

HOFFMANN, T. et al. The anaerobic life of *Bacillus subtilis*: cloning of the genes encoding the respiratory nitrate reductase system. **FEMS Microbiology Letters**. 131, 219–225, 1995.

HOLZAPFEL, W. H. et al. Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food and nutrition. **American Journal Clinical Nutrition**. 73 (2) Suppl: 365S-373S. 2001.

HOSOI, T. et al. Improved growth and viability of lactobacilli in the presence of *Bacillus subtilis* (natto), catalase, or subtilisin. **Canadian Journal of Microbiology**. 46:892–897. 2000.

HUANG, M. K. et al. Effects of Lactobacilli and an acidophilic fungus on the production performance and immune responses in broiler chickens. **Poultry Science**. 83:788–795.2004.

HUME. M. E. Historic perspective: Prebiotics, probiotics, and other alternatives to antibiotics. **Poultry Science** 90 :2663–2669, 2011.

ICMSF [online]. **Microorganisms in Foods 7. Microbiological testing in food safety management**. Kluwer Academic / Plenum Publishers, New York, USA. 2002.

_____. Salmonellae. Ch 14 In: **Microorganisms in food 5: Microbiological specifications of food pathogens**. Blackie Academic and Professional, London, p. 217–264. 1996.

ITO, N.M.K.; MIYAJI, C.L.; OKABAYASHI, S.M. **Saúde intestinal em frangos de corte**. Produção e Saúde Animal Ltda. Circular técnica, Aviagen. 2007.

ISHIZUKA, S.; TANAKA S. Modulation of CD8+ intraepithelial lymphocyte distribution by dietary fiber in the rat large intestine. **Experimental Biology and Medicine**, Maywood, 227:1017-1021. 2002.

ISHIZUKA, S.; TANAKA S.; XU H.; HARA H. Fermentable dietary fiber potentiates the localization of immune cells in the rat large intestinal crypts. **Experimental Biology and Medicine**, Maywood, 229:876-884.2004.

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

JUKES, T. H. et al. Growth-promoting effect of aureomycin on pigs. **Archives. Biochemistry and Biophysics**. 26:324–325.1950.

KABIR, S.M.L. The Role of Probiotics in the Poultry Industry. **International Journal of Molecular Sciences**, V.10, p. 3531-3546. 2009.

KATARIA, J.; LI. N.; WYNN, J.L.; NEU, J. Probiotic microbes: do they need to be alive to be beneficial? **Nutrition Reviews**, v. 67, p.546-50, 2009.

KELLEY, T. R. et al. Antibiotic resistance of bacterial litter isolates. **Poultry Science**, Amsterdam, v. 77, n. 2, p. 243-247, 1998.

KELLY, D.; BEGBIE R.; KING P. T. Nutritional influences on interactions between bacteria and the small intestinal mucosa. **Nutrition Research Reviews**. 7:233–257.1994.

KESHAVARZ, K; AUSTIC, RE. The use of low-protein, low phosphorous, amino acid and phytase supplemented diets on laying hen performance and nitrogen and phosphorous excretion. **Poultry Science**, v.83, n.01, p.75-83, 2004.

KNAP, I. et al. *Bacillus subtilis* (DSM17299) significantly reduces *Salmonella* in broilers. **Poultry Science**, v. 90, p. 1690-1694, 2011.

KORVER, D. R. Overview of the immune dynamics of the digestive system. **Journal of Applied Poultry Research**, v.15, n. 1, p.123-135, 2006.

LANCINI, J.B. Fatores exógenos na função gastrointestinal – aditivos. In.: Fundação Apinco de Ciência e Tecnologia Avícola – **Fisiologia da digestão e absorção das aves**. Campinas, SP, p. 10-15. 1994.

LANGEMANN, T. et al. The Bacterial Ghost platform system: production and applications. **Bioengineered Bugs**, 1(5): 326-336. 2010. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21326832> Acesso em: 10 fev. 2015.

LATORRE, J. D. et al. Evaluation of germination, distribution, and persistence of *Bacillus subtilis* spores through the gastrointestinal tract of chickens. **Poultry Science** 93 :1793–1800, 2014.

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

LEHNINGER, A.L.; NELSON, D.A.; COX, M.M. Principles of Biochemistry. New York. **Worth Publishers**, 576p.1993.

LOPES, V.C. et al. Preliminary evaluation of the use of the *sefA* fimbrial gene to elicit immune response against *Salmonella enterica* serotype Enteritidis in chickens. **Avian Diseases**. V 50, n. 2, p. 185-190. 2006.

LOURENÇO, Mariana C. **Efeito dos mananoligossacarídeos sobre a resposta imunológica de frangos de corte**. 2011, 55p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias), Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2011.

LUCCI, C.S. **Bovinos leiteiros jovens: nutrição, manejo e doenças**. São Paulo: Nobel/EDUSP, 371p. 1989.

MACIOROWSKI, K. G. et al. Effects on poultry and livestock of feed contamination with bacteria and fungi. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam v. 133, p. 109-136, 2007.

MAIORKA, A. et al. Broiler adaptation to post-hatching period. **Ciência Rural**. Santa Maria, v. 36, n. 2, 2006.

MAIORKA, A.; DAHLKE, F. **Avaliação de diferentes aditivos para dietas de frangos de corte**. Relatório final de investigação, Ministério de Educação, Universidade Federal do Paraná, Curitiba. 2008.

MARCHINI P. F. C. et al. Aditivos Alimentares para a produção de frangos: Aplicações recentes e tendências. In: SIMPÓSIO BRASIL SUL DE AVICULTURA, **Anais...** Chapecó, 2015.

MARTÍNEZ, B.F.; CONTRERAS, A.A.; GONZÁLEZ, E.A. Use of *Saccharomyces cerevisiae* cell walls in diets for two genetic strains of laying hens reared in floor and cages. **International Journal of Poultry Science**, v.9, n.2, p.105-108, 2010.

- MAZZA, P. The use of *Bacillus subtilis* as an antidiarrhoeal microorganism. **Bollettino Chimico Farmaceutico**, n.133, p.3–18, 1994.
- MCGHIE, E.J. et al. *Salmonella* takes control: effector-driven manipulation of the host. **Current Opinion Microbiology**. V.12, p. 117-124. 2009.
- MEAD, G. et al. The *Salmonella* on Raw Poultry Writing Committee. Scientific and Technical Factors Affeting the setting of *Salmonella* Criteria for Raw Poultry: A Global Perspective. **Journal of Food Protection**. 73 (8): 1566-1590. 2010.
- MEAD, G. C. Prospects for competitive exclusion treatment to control Salmonellas and other foodborne pathogens in poultry. **Veterinary Journal**. 159:111–123. 2000.
- MEDEIROS, A. A.; SCHOCKEN-ITURRINO, R.P.; MASSOLI, M.C.B. Use of *Lactobacillus* sp strains as probiotic for poultry. **World's Poultry Congress**, Salvador, Bahia, Brazil, 2012.
- MENCONI, A. et al. Effect of lactic acid bacteria probiotic culture for the treatment of *Salmonella enterica* serovar Heidelberg in neonatal broiler chickens and turkey poults. **Poultry Science**, n. 90, p. 561-565, 2011.
- MENDONÇA, Eliane P. **Disseminação de Salmonella sp na cadeia produtiva do frango de corte**. 2011. Dissertação (Mestrado em Saúde Animal), Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2011.
- MENTEN, J.F.M. Aditivos alternativos são opções na nutrição de aves. **Revista Agropecuária Hoje** – Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz, n 38, p. 15, 2001.
- MENTEN, J. F. M.; LODDI, M. M. Probióticos, prebióticos e aditivos fitogênicos na nutrição de aves. In: SIMPÓSIO SOBRE NUTRIÇÃO DE AVES E SUÍNOS. **Anais...** Colégio Brasileiro de Nutrição Animal, CBNA, p. 107-138, 2003.
- MIGUEL, J.C.; RODRIGUEZ-ZAS, S.L.; PETTIGREW, J.E. Efficacy of mannan oligosaccharide (Bio-MOS®) for improving nurse pig performance. **Journal of Swine Health and Production**, Guelph, v.12, p. 296-307, 2004.
- MONSAN, P.; PAUL F. Oligosaccharide feed additives. Pages 233–245 in **Biotechnology in Animal Feeds and Animal Feeding**. R. J. Wallace and A. Chesson, ed. VCH, New York.1995.
- MONTEIRO, S. M. et al. A Procedure for High-Yield Spore Production by *Bacillus subtilis*. **Biotechnology Progress**. 21, 1026-1031. 2005.
- MOORE, P. R. et al. Use of sulfasuxidine, streptothricin and streptomycin in nutritional studies with the chick. **Journal Añiol**, 165: 437, 1946.

- MUIR, W. I. Avian intestinal immunity: Basic mechanisms and vaccine design. **Poultry Avian Biological Reviews**, v. 3, p. 87–106, 1998.
- MUNIZ, E.C. Atualidades no estudo das salmoneloses aviárias. In: SIMPÓSIO BRASIL SUL DE AVICULTURA. **Anais...** Chapecó, p.13-26, 2012.
- MURAKAMI, Y. et al. Lipid composition of commercial bakers' yeast having different freeze-tolerance in frozen dough. **Bioscience Biotechnology and Biochemistry**. 60(11): 1874-1876, 1996.
- NARM -. **National Antimicrobial Resistance Monitoring System- Enteric Bacteria (NARMS)**. Bethesda (MD): Executive Report FDA. 2010.
- NASCIMENTO, V. P. et al. Identificação de sorovares de *Salmonella* em cortes e carcaças de frangos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA. **Anais...** Rio de Janeiro, 1997.
- NASCIMENTO, V. P. et al. Exigências internacionais na qualidade microbiológica da carne de frangos para exportação. In: SIMPÓSIO BRASIL SUL DE AVICULTURA. **Anais...** Chapecó, 2012.
- NELSON, D. L.; COX, M. M. **Lehninger: Princípios de Bioquímica**. 3. Ed. São Paulo: Sarvier; 2002.
- NEWMAN, K. Mannan oligosaccharides: Immune modulator or rumen efficiency potentiator. In: MINNESOTA NUTRITION CONFERENCE ALLTECH TECH SYMPOSIUM, 56. **Anais...** Minnesota, p. 37-42, 1995.
- NICHOLS, D. S.; NICHOLS, P. D.; MCMEEKIN, T. A. Ecology and physiology of psychrophilic bacteria from Antarctic saline lakes and ice-sea. **Science Progress**. 78, 311–348, 1995.
- NOUSIAINEN, J.; SENTALA, J. Lactic acid bacteria as animal probiotics. In: Lactic acid bacteria. SALIMEN, S.; WRIGTH, V.A. (Eds.), New York, **Food Science Technology**. 58:315-356, 1993.
- NUNES, I. J. **Nutrição animal básica**. 2.ed. Belo Horizonte: FEP-MVZ Editora, 333p. 1998.
- NURMI, E.; RANTALA, M. New aspects of Salmonella infection in broiler production. **Nature**, 241:210-211.1973.
- OCHOA, I.M.F.; RODRIGUEZ, A.V. Mecanismos moleculares de patogenicidad de Salmonella sp. **Article online**, v.47, n.1-2, p.25-42, 2005. Disponível em: http://www.medigraphic.com/pdfs/lamicro/mi-2005/mi05-1_2e.pdf. Acesso em: 12 set. 2014.

OHL, M.E.; MILLER, S.I. *Salmonella*: a model for bacterial pathogenesis. **Annual Review Medical online**, v.52, p.259-274, 2001. Disponível em: http://www.vmf.unileipzig.de/ik/wimmunologie/Lehre/SS06/SS06-1-10-Salmonella_Bacterial_pathogenesis.pdf. Acesso em: 13 set. 2014.

ORBAN, J. I. et al. Effect of sucrose thermal oligosaccharide caramel, dietary vitamin-mineral level, and brooding temperature on growth and intestinal bacterial populations in broiler chickens. **Poultry Science**. 76:482–490.1997.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE ANIMAL - OIE. **Bioseguridad y resistencia a los antimicrobianos**. 2012. Disponível em: <http://www.oie.int/es/para-los-periodistas/comunicados-de-prensa>. Acesso em: 11 set. 2014.

ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD - OMS. **Control de la salmonelosis: importancia de la hygiene veterinária y de los productos de origen animal**. Série de Informes Técnicos n. 774. 1988.

OYOFO, B. A. et al. Effect of carbohydrates on *Salmonella* Typhimurium colonization in broiler chickens. **Avian Diseases**. 33:531–534, 1989.

PAIVA, D.P. Cascudinhos: biologia. In: SIMPÓSIO BRASIL SUL DE AVICULTURA, 1. **Anais...** Chapecó, p. 135-139, 2000.

PALERMO-NETO, J.; SPINOSA, H.S.; GÓRNIK, S.L. **Farmacologia aplicada à avicultura: Boas Práticas no Manejo de Medicamentos**. Editora Roca Ltda, 2005

PARRY, C.M. Antimicrobial drug resistance in *Salmonella enterica*. **Opinion in Infectious Diseases**. V. 16, p. 467-472. 2003.

PATTERSON, J.Á.; BURKHOLDER, K.M. Application of Prebiotics and Probiotics in Poultry Production. **Poultry Science** 82: 627–631, 2003.

PATTERSON, J. A. et al. Selective enrichment of bifidobacteria in the intestinal tract of broilers by thermally produced kestoses and effect on broiler performance. **Poultry Science**. 76:497–500.1997.

PAULUS, C. Aditivos Alternativos e restrição a utilização de antibióticos na suinocultura. In: SIMPÓSIO BRASIL SUL DE SUINOCULTURA, **Anais...** Chapecó, 2014.

PEDROSO A. A.; MENTEN, J. F. M.; LAMBAIS, M. R. The structure of bacterial community in the intestines of newly hatched chicks. **Journal Of Applied Poultry Research**. Piracicaba, v. 14, p.232–237, 2005.

PETTIGREW, J. E. Bio-Mos effects on pig performance: a review. In: BIOTECHNOLOGY IN FEED INDUSTRY OF ANNUAL SYMPOSIUM, 16, Nottingham. **Proceedings of Alltech**. . . Nottingham, UK: Nottingham University Press, p. 31-44, 2000.

PIVA, A. Non-conventional feed additives. **Journal Animal Feed Science**. 7:143–154.1998.

PLUSKE, JR. et al. Factors influencing the structure and function of the small intestine in the weaned pig: a review. **Livestock Production Science**. V.51, Pág 215-236, 1997.

PRESSMAN, B.C. Biological application of ionophores. **Annals Revision Biochemicals**, V.45, p.501-513, 1968.

PUBLIC HEALTH AGENCY OF CANADA. **Salmonella Heidelberg - Ceftiofur-related resistance in human and retail chicken isolates**. 2007. Disponível em: <http://www.phac-aspc.gc.ca/cipars-picra/heidelberg/heidelberg-eng.php>. Acesso em: 20 nov. 2014.

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

RAGHIANTE, F. et al. Tempo de penetração da Salmonella Heidelberg através da casca de ovos comerciais brancos e vermelhos. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**. V.12, n.4, p.215-219. 2010.

RATCLIFF, J. Pathogen control in feedmills. **Feed Process and Quality Control**, p.45-49, 2006.

RAVINDRAN, V. et al. Influence of na Escherichia coli-derived phytase on nutriente utilization in broiler starters fed diets containing varying concentrations of phytic acid. **Poultry Science**, v.85, n.01, p. 82-89, 2006.

RETTGER, L. F.; CHEPLIN H. A. **A Treatise on the Transformation of the Intestinal Flora, with Special Reference to the Implantation of Bacillus acidophilus**. Yale University Press, New Haven, CT. 1921.

RODRIGUES, D.P. **Bacterial Resistance to Antimicrobial Drugs. Surveillance and the example of national programs: Brazil**. In: Antimicrobial resistance in the Americas: magnitude and containment of the problem. Ed. Roxane Salvatierra-González and Yehuda Benguigui. Washington DC. PAHO/HCP/HCT/163/2001. p. 184-192. 2001.

RODRIGUES, D.P. Perspectivas atuais e falhas no diagnóstico antigênico de *Salmonella* spp.: importância no reconhecimento dos sorovares circulantes, emergentes e exóticos. In: SEMINÁRIO INTERNACIONAL SOBRE SALMONELOSES AVIARIAS. **Anais...** Rio de Janeiro, 2011.

RODRIGUES, L. B. et al. Avaliação da hidrofobicidade e da formação de biofilme em poliestireno por *Salmonella Heidelberg* isoladas de abatedouro avícola. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 37, n. 3, p. 225- 230, 2009.

ROLFE, R. D. The role of probiotic cultures in the control of gastrointestinal health. **Journal Nutrition**. 130:396S–402S, 2000.

ROSSI, A.A. **Biossegurança em frangos de corte e saúde pública: limitações, alternativas e subsídios na prevenção de salmoneloses**. Florianópolis, 111f, 2005.

ROSSI JUNIOR, O. D.; BERCHIERI JÚNIOR, A.; FELIPE, L. M. Agentes de interesse em saúde pública associados a produtos de origem avícola. p.1039-1053. In: **Doenças das Aves**. BERCHIERI JÚNIOR, A., SILVA, E.N.; DI FÁBIO, J., SESTI, L.; ZUANAZE, M.A.F. 2ª ed., Ed. FACTA. Campinas, SP, Brasil. 2009.

ROSTAGNO, H.S. et al. **Tabelas brasileiras para aves e suínos. Composição de alimentos e exigências nutricionais**. UFV: Viçosa. 2005.

ROSTAGNO, M.H. Impacto da restrição de antimicrobianos na indústria avícola. In: SIMPÓSIO BRASIL SUL DE AVICULTURA. **Anais...** Chapecó, 2011.

ROTH, F. X.; KIRCHGESSNER, M. Organic acids as feed additives for Young pigs: nutritional and gastrointestinal effects. **Journal of Animal and Feed Science**, n. 8, p. 25-33, 1998.

RUSSEL, J. B. Another Explanation for the toxicity of fermentation acids at low pH: anion accumulation versus uncoupling. **Journal of Applied Bacteriology**, v.73, p.363-370, 1992.

SANTIN, E. et al. Performance and intestinal mucosa development of broiler chickens fed diets containing *Saccharomyces cerevisiae* cell wall. **Journal of Applied Poultry Research**,10: 236-244, 2001.

SANTOS, E. C. et al. Uso de aditivos beneficiadores de crescimento sobre o desempenho de frangos de corte. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA. **Anais...** Recife, 2002.

SAVAGE, T. F.; ZAKRZEWSKA E. I.; ANDREASEN JR J. R. The effects of feeding mannan oligosaccharide supplemented diets to poults on performance and the morphology of the small intestine. **Poultry Science**. 76(Suppl. 1):139. (Abstr.)1997.

SCHWARZ, S.; CHASLUS-DANCLA, E. Use of antimicrobials in veterinary medicine and mechanisms of resistance. **Veterinary Research**. v.32, p. 201-225. 2001.

SEIFERT, S.; WATZL, B. Inulin and oligofructose: Review of experimental data on immune modulation. **Journal Nutrition**. 137:2563S–2567S. 2007.

SESTI, L. Tempo de penetração da Salmonella Heidelberg através da casca de ovos comerciais brancos e vermelhos. **Caderno Saúde Avícola**. 2010. Disponível em: http://www.uniquimica.com/intranet/arg_dept/dept_arg_23022011-120116.pdf.

Acesso em: 01 dez. 2012.

SESTI, L.; ITO, N. M. K. Fisiopatologia do sistema reprodutor. In: BERCHIERI JÚNIOR, A.; SILVA, E. N.; DI FÁBIO, J.; SESTI, L.; ZUANAZE, M. A. F. **Doenças das aves**, 2ª edição, Ed. FACTA, Campinas, 2009.

SHANE, M. S. **Mannan oligosaccharides in poultry nutrition: Mechanism and benefits**. Pages 65–77. In: SCIENCE AND TECHNOLOGY IN THE FEED INDUSTRY. Proc. Alltech's 17th Annu. Symp. T.P. Lyons and K. A. Jacques, ed. Nottingham Univ. Press, Nottingham, UK. 2001.

SHORTT, C. The probiotic century: historical and current perspectives. **Trends in Food Science Technology**; 10 (12): 411-417,1999.

SILVA, E.M. Probióticos e prebióticos na alimentação de aves. In: CONFERENCIA APINCO DE CIENCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, Campinas, São Paulo. **Anais...** Campinas, V.2, p 241-251, 2000.

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

SIMON, O.; JADAMUS, A.; VAHJEN, W. Probiotic feed additives effectiveness and expected modes of action. **Journal Animal Feed Science**. 10:51–67.2001.

SIVAPALASINGAM, S. et al. Fresh Produce: A Growing Cause of Outbreaks of Foodborne Illness in the United States, 1973 through 1997. **Journal of Food Protection**, Number 10, p. 2092-2353, 2004.

SMITH, H.W.; TUCKER, J.F. The virulence of Salmonella strains for chickens: their excretion by infected chickens. **Journal of Hygiene**, 84(3):479-488, 1980.

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

SOLOMONS, G.; FRYHLE, C. **Química Orgânica**, 7 ed.. Rio de Janeiro: LTC Livros Técnicos e Científicos, v.1 e 2, 2002.

STAVRIC, S.; KORNEGAY, E. T. **Microbial probiotics for pigs and poultry**. Pages 205–231 In: BIOTECHNOLOGY IN ANIMAL FEEDS AND ANIMAL FEEDING. R. J. Wallace, and A. Chesson, ed. VCH, New York. 1995.

STILES, M. E.; HOLZAPFEL, W. H. Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. In: J Food Microbiol. 1997; 36 (1): 1-29. 5. Hammes WP, Hertel C.

Research approaches for pre- and probiotics: challenges and outlook. **Food Research International**.; 35 (2-3): 165-170. 2002.

STOKSTAD, E. L. R. et al. The multiple nature of the animal protein factor. **Journal Biological Chemistry**. 180:647–654. 1949.

STOKSTAD, E. L. R.; JITKES, T. H. Further observations on the animal protein factor. **Proceedings Of the Society Experimental Biology and Medicine**, 73: 523. 1949.

STOKSTAD, E. L. R.; JITKES, T. H. Effect of various levels of vitamin B₁₂ upon growth response produced by aureomycin in chicks. **Ibid Journal**, 76: 73. 1951.

SUZUKI, S. Patogenicity of Salmonella Enteritidis in poultry. **International Journal of Microbiology**, Holanda, v. 21, p.89-105, 1994.

SWENNEN, K.; COURTIN, M.C.; DELCOUR, J.A. Nondigestible oligosaccharides with probiotic properties. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.46, p.459- 469, 2006.

TAVERTINI, V.; GUGLIELMETTI, S. The immunomodulatory properties of probiotic microorganisms beyond their viability (ghost probiotics: proposal of paraprobiotic concept). **Genes Nutrition Journal**, 6: 261–27. 2011.

TELLEZ, G. et al. Digestive Physiology and the Role of Microorganisms. **Journal Applied Poultry Research**. 15:136–144, 2006.

TELLEZ, G. **Prokaryotes versus eukaryotes: who is hosting whom?** Frontiers in Veterinary Science, Hypothesis and Theory Article. 2014.

TENOVER, F.C. Mechanisms of antimicrobial resistance in bacteria. **The American Journal of Medicine**, Nova lorque, v. 119, p. 3-10, 2006.

TEO, A. Y. L.; TAN H. M. Effect of *Bacillus subtilis* PB6 (CloSTAT) on Broilers Infected with a Pathogenic Strain of *Escherichia coli*. **Journal Applied Poultry Research**. 15:229–235, 2006.

THOMPSON, K. L.; APPLGATE, T.J. Feed withdrawal alters small-intestinal morphology and mucus of broiler. **Poultry Science**, v.85, p.1535-1540. 2006.

TIZARD, I. R. **Imunologia Veterinária**. Editora Elsevier Ltda, 2009.

TOLEDO, R.S.; ROCHA, A.G.; FARIAS, L.C. Uso de aditivos na produção avícola da teoria à prática. In: SIMPÓSIO BRASIL SUL DE AVICULTURA. **Anais...** Chapecó, 2009.

VAN ASTEN, A.J.A.M.; VAN DIJK, J.E. Distribution of classic virulence factors among *Salmonella* spp. **Fems Immunology and Medical Microbiology**. V. 44, N. 3, p. 251-259. 2005.

VAZ, C. S. L. et al. Bacteriófagos líticos controle biológico *Salmonella* Enteritidis avicultura. Embrapa. Artigo técnico: **Engormix Revista Avicultura** – Nutrição. 2010. Disponível em: <http://pt.engormix.com/MA-avicultura/nutricao/artigos/bacteriofagos-liticos-controle-biologico-t264/p0.htm>. Acesso em: 12 set. 2014.

VÁSQUEZ, A. et al. DNA-based classification and sequence heterogeneities in the 16S rRNA genes of *Lactobacillus casei/paracasei* and related species. **Systematic Applied Microbiology**. 28 (5): 430-441. 2005.

VESTBY, L. K. et al. Biofilm forming abilities of *Salmonella* are correlated with persistence in fish meal and feed factories. **BMC Veterinary Research**, v. 5, n. 20, 2009.

VICENTE, J. L. et al. Effect of a probiotic culture on horizontal transmission of *Salmonella enteritidis* in turkey poults. **Poultry Science**. 84(Suppl. 1):101. (Abstr.), 2005.

VICENTE, J. L. et al. Effect of a *Lactobacillus Spp*-Based Probiotic Culture Product on Broiler Chicks Performance under Commercial Conditions. **International Journal of Poultry Science** 6 (3): 154-156, 2007.

VIDANARACHCHI, J. K. et al. Phytobiotics: alternatives to antibiotic growth promoters in monogastric animal feeds. Recent Advances, **Animal Nutrition in Australia**, Volume 15, p 131-144, 2005.

VIEIRA, M.A.M. Ilhas de patogenicidade. **O mundo da saúde**. V. 33, N.4, p. 406-414. 2009.

VIEIRA, L. S. **Consumo e preferência alimentar dos animais domésticos**. 1 ed. Londrina: Phytobiotics Brasil, 315p. 2010.

VIEIRA, Maria de F.A. **Caracterização e análise da qualidade sanitária de camas de frangos de diferentes materiais reutilizados sequencialmente**. 2011, 81p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola), Universidade Federal de Viçosa Viçosa, 2011.

WESTPHAL, P. et al. **Utilização de produto probiótico à base de *Lactobacillus* adicionado na água para o controle de *Salmonella* Minnesota em frangos de corte**. In: CONGRESSO LATINO AMERICANO DE AVICULTURA, Argentina, 2011.

WOLFENDEN, R. E. et al. *Salmonella* spp. investigation in transport boxes of day-old birds. **Brazilian of Journal Microbiology**, 2000.

WOLFENDEN, A. D. et al. Evaluation of spray application of a *Lactobacillus*-based probiotic on *Salmonella* Enteritidis colonization in broiler chickens. **International Journal of Poultry Science**. 6 (7):493-496. 2007.

ZANINE, A.M.; OLIVEIRA, J.S.; SANTOS, E.M. Importância, uso, mecanismo de ação e retorno econômico dos ionóforos na Nutrição de ruminantes. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, V.3, N.6, 2006.

DETERMINAÇÃO DA EFICÁCIA DE PROBIÓTICOS E PREBIÓTICOS CONTRA O DESAFIO HORIZONTAL DE *Salmonella* Heidelberg EM FRANGOS DE CORTE

Fabrizio Matté, Sabrina Takahashi, Patrícia Rossi
E-mail correspondente: fabrizio@vetanco.com.br

Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Campus Dois Vizinhos, Paraná,
Brasil.

RESUMO

A *Salmonella* é um dos mais importantes patógenos veiculados por alimentos. Dentre os sorotipos, a *Salmonella* Heidelberg (SH) vem se destacando nas monitorias dos plantéis avícolas devido ao fato de possuir um grande número de reservatórios, apresentar sorotipos inespecíficos quanto aos hospedeiros e possuir cepas multirresistentes aos antibacterianos. Aditivos Eubióticos, como probióticos e prebióticos vem sendo avaliados, não para substituir totalmente os antimicrobianos, mas para ser uma ferramenta estratégica para diminuir seu uso. O presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito de dois probióticos e um prebiótico contra um desafio horizontal de *Salmonella* Heidelberg em frangos de corte, através da contagem de UFC/g de conteúdo cecal e sob os parâmetros zootécnicos. Foram utilizadas 224 aves, distribuídas em 16 boxes de 2m² cada. As aves foram agrupadas em 4 tratamentos com 4 repetições de 14 aves por boxe, um total de 56 aves por grupo em um delineamento em blocos casualizado (DBC). Foi testado um prebiótico constituído por Mananoligossacarídeos (MOS) associado a um fermentado de *Bacillus subtilis* (Pre¹) fornecido no 2º e 14º dias de idade, por gavagem oral, e mais dois probióticos, um constituído por 11 cepas de *Lactobacillus* (Pro¹) fornecido no 1º, 17º e 18º dias, na água de bebida, e outro constituído de esporos de *Bacillus subtilis* (Pro²) fornecido na ração durante todo período experimental. A inoculação de SH foi aos 2 dias de idade usando (1,0x10⁶ UFC/ave) por gavagem oral em 4 aves denominadas contaminadas por boxe, as demais 10 aves foram denominadas não contaminadas para avaliar a contaminação horizontal. Semanalmente as aves foram pesadas e calculado seu consumo de ração em cada grupo. Aos 28 dias de idade, 40 aves não contaminadas por grupo foram sacrificadas e avaliado a contagem de UFC/g do conteúdo cecal. Os resultados obtidos na contagem de UFC/g de conteúdo cecal em cada tratamento Pre¹, Pro¹ e Pro² não apresentaram diferenças significativas (P>0.05) em relação ao grupo controle. O resultado zootécnico apresentou apenas diferenças significativas (P<0.05) na conversão alimentar, com resultados favoráveis ao uso dos probióticos e prebiótico nos períodos finais de desenvolvimento das aves 14 a 21 e 21 a 28 dias de idade.

Palavras-chave: Avicultura. Aditivos. Agentes patogênicos.

INTRODUÇÃO

A alta taxa no crescimento de exportações da carne de frango estimula as empresas brasileiras a adequar-se às exigências requeridas pelos países consumidores.

Apesar dos cuidadosos programas de biossegurança atuais com foco em prevenir e controlar a entrada de enterobactérias nos plantéis avícolas, alguns agentes infecciosos conseguem ultrapassar essas barreiras provocando prejuízos sanitários e econômicos às empresas. Esses mesmos agentes podem representar um grande problema de segurança dos alimentos, com riscos para a saúde do consumidor e danos às relações comerciais entre os países importadores e exportadores.

A *Salmonella* destaca-se como um dos mais importantes patógenos veiculados por alimentos devido ao fato de estar amplamente distribuída na natureza, possuir um grande número de reservatórios, apresentar sorotipos inespecíficos quanto aos hospedeiros e apresentar cepas multirresistentes aos antibacterianos (BERSOT, 2006).

Considerando que a principal via de transmissão de *Salmonella* spp. está na cadeia alimentar, a presença em animais, criados com objetivo comercial, mostra que esse microrganismo é considerado como o mais incidente e relevante agente causal de enfermidade entérica. Contudo, a salmonelose é uma zoonose e seu controle é um trabalho árduo, tendo em vista a emergência de novos sorovares e a reemergência de outros em determinadas áreas, tanto nos países emergentes quanto naqueles industrializados (BRASIL, 2012).

Dentre os sorotipos, a *Salmonella* Heidelberg é um agente de infecção alimentar em humanos, cujos casos de isolamento em aves e derivados têm aumentando consideravelmente nos últimos anos, especialmente em lotes de frangos de corte e matrizes (RAGHIANTE et al., 2010). A *Salmonella* Heidelberg parece ser mais invasiva que os outros sorotipos paratíficos, pois é um sorotipo resistente à vários antimicrobianos, dessa forma, limita o tratamento de gestantes e crianças que desenvolvem salmonelose extra-intestinal por *Salmonella* Heidelberg.

Além disso, a presença de salmonelas paratíficas em frangos de corte, não deve ser reconhecida somente como barreira à exportação, mas também, por seu poder de provocar danos à saúde humana e deve ser considerada por sua patogenicidade à saúde animal, especialmente no início do ciclo de produção de aves (ITO et al., 2007).

A proibição dos antimicrobianos melhoradores de desempenho na União Europeia em 2006 (Regulamento CE Nº 1831/2003) e o aumento de cepas bacterianas resistentes aos antimicrobianos, colocou um novo desafio à avicultura, a necessidade da busca por alternativas para substituir ou diminuir estes produtos.

Probióticos, prebióticos, extratos herbais, óleos essenciais, ácidos orgânicos e outros produtos que se enquadram como alternativos, entraram na linha de estudos de diversos pesquisadores em todo o mundo, não para substituir totalmente os antimicrobianos, mas para ser uma ferramenta estratégica para diminuir seu uso, e eles serem utilizados quando forem realmente necessários.

O objetivo geral deste trabalho foi avaliar o efeito de probióticos e um prebiótico para o controle de *Salmonella* Heidelberg na produção de frangos de corte.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no aviário experimental da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Campus Dois Vizinhos, Paraná, Brasil.

Todos os procedimentos realizados com as aves foram submetidos e aprovados pelo Comitê de Ética e Pesquisa Animal da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, seguindo as determinações do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

Animais e Dieta

Foram alojados 224 pintainhos de corte, machos, da linhagem Cobb 500[®] vacinados no incubatório contra doença de Marek, Boubá Aviária e Bronquite

Infeciosa. Aviário com estrutura de alvenaria, bebedouros pendulares e comedouros tubulares.

As aves foram mantidas do 1º aos 28º dias de idade, com fornecimento de água e ração *ad libitum* durante todo período experimental.

Foi utilizado alimento formulado com dieta de fase inicial, desde o recebimento das aves até o final do experimento (1º ao 28º dia). A dieta foi formulada a base de milho e farelo de soja seguindo as exigências nutricionais indicadas por Rostagno et al. (2005). A dieta formulada apresentava composição básica com os níveis de garantia apresentados nas Tabelas 1 e 2.

Tabela 1 – Composição básica da dieta de frangos de corte de 1 a 28 dias de idade

Ingredientes	Quantidade na ração
Milho 7,5%	52,44
Soja 46%	38,00
Óleo de soja	4,00
Sal comum	0,20
Fosfato bicálcico 18	0,80
DL-Metionina	0,30
L-Lisina 78	0,15
L-Treonina 98	0,11
*Suplemento vitamínico e mineral	4,00
Total em kg	100,00

Fonte: Agroceres Multimix

*Níveis de garantia do suplemento vitamínico e mineral por kg: Ácido Fólico (mín) 7,5 mg, Ácido Pantotênico (mín) 100 mg, Biotina (mín) 0,5 mg, Cálcio (mín) 200g, Cálcio (máx) 300g, Cobre (mín) 165 mg, Colina (mín) 3750 mg, Ferro (mín) 1375 mg, Fósforo (mín) 58 g, Flúor (máx) 580 mg, Iodo (mín) 33 mg, Manganês (mín) 1650 mg, Metionina (mín) 18,2 g, Niacina (mín) 300g, Selênio (mín) 5 mg, Sódio 37,1 g, Vitamina A (mín) 97,500 UI, Vitamina B1 (mín) 10 mg, Vitamina B12 (mín) 125 mcg, Vitamina B2 (mín) 50 mg, Vitamina B6 (mín) 15 mg, Vitamina D3 (mín) 30.000 UI, Vitamina E (mín) 162,5 UI, Vitamina K3 (mín) 25 mg, Zinco (mín) 1650 mg.

Tabela 2 – Composição básica da dieta de frangos de corte de 1 a 28 dias de idade

Composição nutricional calculada	Quantidade na ração
Proteína Bruta, %	21,6231
Cálcio, %	1,1299
Fósforo Total, %	0,6941
Fósforo Disponível, %	0,4582
Sódio, %	0,2144
Energia Metabolizável Ap., Kcal/kg	3003,1944
Lisina, %	1,2881
Lisina Digestível, %	1,1696
Metionina,	0,6475
Metionina Digestível, %	0,6384
Metionina + Cistina Digestível, %	0,9087
Triptofano Digestível, %	0,2476
Treonina Digestível, %	0,8281

Fonte: Agrocerec Multimix

Delineamento Experimental

Foi usado o delineamento em blocos casualizados (DBC). No total, foram utilizados 16 boxes de 2m² cada (1,3 m² de área útil por boxe, desconsiderando a área dos bebedouros e comedouros), sendo agrupados em 4 tratamentos com 4 repetições cada.

Em cada grupo foram alojadas 56 aves (14 aves/boxe), onde, aos 2 dias de idade, 16 aves (4 aves/boxe) foram inoculadas com *Salmonella* Heidelberg (SH) e classificadas como aves contaminadas, as demais, 40 aves (10 aves/boxe) não receberam o inóculo sendo então denominadas como aves não contaminadas.

No recebimento dos pintainhos foram coletados os papéis das caixas de transporte, para confirmar a ausência de contaminação por *Salmonella* spp. no mecônio. Nos boxes, foi utilizado cama de maravalha nova, tratada com formol pelo fabricante. Todas as aves foram identificadas individualmente.

Os produtos usados para os tratamentos foram dois probióticos e um prebiótico. Um probiótico constituído por 11 cepas de *Lactobacillus* (Pro¹), e outro constituído por uma cepa de *Bacillus subtilis* (Pro²). O terceiro produto foi um prebiótico constituído por um fermentado de *Bacillus subtilis* inativado associado à Mananoligossacarídeo-MOS (Pre¹). O grupo Controle, não recebeu tratamento, apenas as 16 aves contaminadas, como em todos os demais grupos. Os tratamentos foram realizados conforme a Tabela 3.

Tabela 3 – Resumo dos tratamentos experimentais

GRUPO	Produtos	Inoculação de SH Idade/Dias	Tratamentos Idade/Dias	Fornecimento
A	Pro ¹	2	1 17 e 18	Apenas Spray Apenas água de bebida
B	Controle	2	-	-
C	Pro ²	2	1 ao 28	Ração
D	Pre ¹	2	1 e 14	Gavagem oral

Pro¹ – Probiótico composto por 11 cepas de *Lactobacillus*

Pro² – Probiótico composto por *Bacillus subtilis*

Pre¹ – Prebióticos composto por fermentado de *Bacillus subtilis* e MOS

Controle – Sem tratamentos

Grupo A – aves que receberam três doses do probiótico composto por 11 cepas de *Lactobacillus* (Pro¹). No 1º dia de idade das aves, no momento do recebimento foi aplicado como *spray*, utilizando equipamento borrifador; no 17º e 18º dias de idade, foi fornecido através da água de bebida, uma dose de 5g de probiótico diluído em 5 litros de água.

Grupo B (Controle) - não recebeu tratamento com produtos, apenas receberam o inóculo de SH nas 16 aves.

Grupo C – aves que receberam um probiótico composto por *Bacillus subtilis* (Pro²) durante todo o período experimental na dose de 50g para cada 100 kg de ração.

Grupo D – aves que receberam um prebiótico fermentado de *Bacillus subtilis* inativado com MOS (Pre¹) no 1º e 14º dias de idade na dose de 0,2 ml/ave por gavagem oral.

Inóculo de *Salmonella*

O desafio foi realizado com uma cepa de *Salmonella* Heidelberg isolada de campo. Esta amostra foi tornada resistente aos antibióticos ácido nalidíxico e novobiocina, os quais foram incorporados em ágar verde brilhante para inibir outras bactérias da microbiota intestinal e facilitar a contagem. A SH foi multiplicada em caldo BHI (*Brain Heart Infusion*) por 18-24 horas a 37°C, posteriormente foram realizadas diluições para atingir a concentração de 1,0x10⁶ UFC/ml.

Foi inoculado 1 ml desta cultura (1,0x10⁶ UFC/ave) via oral no 2º dia de idade em 16 aves (aves contaminadas) de todos os grupos, as demais 40 aves de cada grupo, não receberam inoculação (aves não contaminadas).

Foram mantidos 25 pintainhos em uma gaiola extra para possível substituição durante os cinco primeiros dias de idade.

Desempenho Zootécnico

Para análise do desempenho zootécnico foram consideradas as 56 aves de cada grupo. Os índices de desempenho zootécnico foram avaliados no 1º, 7º, 14º, 21º e 28º dias de idade, considerando-se os parâmetros de peso médio (PM), ganho de peso (GP), consumo de ração (CR) e conversão alimentar (CA), seguindo cálculos adaptados de Sakomura e Rostagno (2007):

$$CR = \frac{(\text{Ração fornecida}) - (\text{Sobra de ração final})}{(\text{Número de aves})}$$

$$GP = \frac{(\text{Peso médio final}) - (\text{Peso médio inicial})}{(\text{Número de aves})}$$

$$CA = \frac{(\text{Consumo de ração})}{(\text{Ganho de peso})}$$

Análises Microbiológicas

As análises microbiológicas foram realizadas em um laboratório de Saúde Animal, credenciado no MAPA e acreditado pelo Inmetro, situado na cidade de Cascavel, PR.

Para quantificação de *Salmonella* Heidelberg do conteúdo cecal aos 28 dias de idade foram sacrificadas 42 aves por grupo. Os cecos foram acondicionados individualmente em frascos estéreis, macerados, identificados e entregues ao laboratório refrigerados.

Para o isolamento e contagem de SH foi adaptado o protocolo recomendado pelo Manual de Métodos de Análises Microbiológica de Alimentos e Água, Capítulo 3 – Técnicas básicas de contagem de microrganismos em placas (SILVA et al., 2010).

Análise estatística dos dados

As contagens das colônias de *Salmonella* Heidelberg foram transformadas em Log_{10} para a análise estatística e expressas como UFC/g (Unidade Formadora de Colônia/grama de conteúdo cecal).

Os resultados de desempenho zootécnico, assim como, os resultados de UFC/g de conteúdo cecal, foram avaliados pela análise de variância (ANOVA) e teste de Duncan com nível de significância de 5% de probabilidade, utilizando o programa estatístico *R Development Core Team*, versão 2.15.0.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Desempenho Zootécnico

Os resultados de peso médio, nos períodos de 1, 7, 14, 21 e 28 dias de idade não apresentaram diferenças significativas conforme a Tabela 4. Esses resultados seguem os mesmos encontrados por Rossi et al. (2007), com o uso de probióticos em aves desafiadas com *Salmonella* patogênica, não encontrou diferenças nos resultados de desempenho produtivo. Já foi constatado por Silva (1994), que a

produtividade de frangos de corte não sofre interferência significativa com a presença de *Salmonella*.

Tabela 4 – Peso médio (g) dos frangos de corte nas diferentes idades avaliadas

Grupo	1 dia	7 dias	14 dias	21 dias	28 dias
Pro¹	46.25 ± 1.24	169.25 ± 1.60	434.48 ± 15.29	851.88 ± 20.50	1494.82 ± 44.79
Controle	48.12 ± 0.99	172.86 ± 7.88	441.31 ± 14.84	870.97 ± 44.98	1459.04 ± 37.76
Pro²	46.25 ± 0.95	169.11 ± 2.28	434.44 ± 12.80	871.49 ± 35.26	1517.10 ± 18.09
Pre¹	47.86 ± 0.67	176.86 ± 0.67	444.20 ± 8.38	862.43 ± 10.96	1526.18 ± 51.81

Valores nas colunas não foram estatisticamente diferentes ($P > 0.05$) no teste de Duncan em nível de significância de 5%.

Pro¹ – Probiótico composto por 11 cepas de *Lactobacillus*

Pro² – Probiótico composto por *Bacillus subtilis*

Pre¹ – Prebióticos composto por fermentado de *Bacillus subtilis* e MOS

Controle – Sem tratamentos

O consumo de ração e ganho de peso apresentados na Tabela 5 e 6, também não demonstraram diferenças significativas entre os tratamentos. Da mesma forma, Shivaramaiah et al. (2011) em busca de melhorias produtivas com avaliação de cepas de *Bacillus subtilis* em frangos de corte, desafiados com *Salmonella*, não encontraram efeitos significativos sobre o ganho de peso em algumas de suas cepas avaliadas. Knap et al. (2011), chegaram a mesma conclusão, relatando diferenças não significativas em ganho de peso e conversão alimentar em aves desafiadas com *Salmonella* Heidelberg e suplementadas com *Bacillus subtilis*.

No estudo de Teixeira et al. (2003), com a utilização de probióticos composto de *Lactobacillus*, tanto no fornecimento na água de bebida como na ração, não obtiveram melhorias no desempenho produtivo das aves, sobre ganho de peso, consumo de ração e conversão alimentar. No presente trabalho também não foi encontrada diferenças estatísticas no peso médio, consumo de ração e ganho de peso.

Tabela 5 – Média de consumo de ração (g) de frangos de corte nos diferentes períodos avaliados

Grupo	1-7 dias	7-14 dias	14-21 dias	21-28 dias	1 -28 dias
Pro¹	119.00 ± 14.62	386.50 ± 16.29	633.25 ± 74.23	875.75 ± 113.21	2014.50 ± 124.78
Controle	126.50 ± 12.15	366.75 ± 24.86	659.50 ± 28.90	944.25 ± 44.39	2097.00 ± 97.51
Pro²	182.75 ± 10.90	441.25 ± 11.87	584.25 ± 50.65	935.25 ± 30.93	2143.50 ± 86.16
Pre¹	121.25 ± 5.90	372.50 ± 32.57	612.00 ± 58.94	918.00 ± 28.74	2023.50 ± 90.08

Valores nas colunas não foram estatisticamente diferentes ($P>0.05$) no teste de Duncan em nível de significância de 5%.

Pro¹ – Probiótico composto por 11 cepas de *Lactobacillus*

Pro² – Probiótico composto por *Bacillus subtilis*

Pre¹ – Prebióticos composto por fermentado de *Bacillus subtilis* e MOS

Controle – Sem tratamentos

Tabela 6 – Média do ganho de peso (g) de frangos de corte nos diferentes períodos avaliados

Grupo	1-7 dias	7-14 dias	14-21 dias	21-28 dias	1-28 dias
Pro¹	123.00 ± 2.21	264.32 ± 14.52	418.41 ± 9.32	642.95 ± 29.59	1448.57 ± 44,97
Controle	124.87 ± 6.67	268.38 ± 8.51	433.09 ± 30.84	587.39 ± 14.55	1413.81± 30.97
Pro²	122.94 ± 2.12	265.34 ± 12.17	437.04 ± 23.16	645.61 ± 42.93	1470.80 ± 17.79
Pre¹	126.00 ± 1.87	270.59 ± 8.34	418.23 ± 13.13	644.13 ± 44.99	1458.95 ± 37.76

Valores nas colunas não foram estatisticamente diferentes ($P>0.05$) no teste de Duncan em nível de significância de 5%.

Pro¹ – Probiótico composto por 11 cepas de *Lactobacillus*

Pro² – Probiótico composto por *Bacillus subtilis*

Pre¹ – Prebióticos composto por fermentado de *Bacillus subtilis* e MOS

Controle – Sem tratamentos

Porém, a conversão alimentar (Tabela 7), com o uso dos probióticos (Pro¹ e Pro²) e o prebiótico (Pre¹), apresentou resultados com diferenças significativas ($P>0.05$) quando comparados ao grupo Controle.

No período de 1 a 7 dias de idade, o probiótico Pro², constituído por *Bacillus subtilis*, apresentou a pior conversão alimentar entre os 4 grupos, com diferença significativa (P<0.05). No período de 7 a 14 dias os piores resultados na conversão alimentar se mantiveram no tratamento com *Bacillus subtilis*, porém a partir dos 14 dias até o final do experimento este grupo melhorou os resultados, e o grupo controle (sem tratamento) ficou com o pior resultado na conversão alimentar até a conclusão do experimento.

Tabela 7 – Média da conversão alimentar de frangos de corte nos diferentes períodos avaliados

Grupo	1-7 dias	7-14 dias	14-21 dias	21-28 dias	1-28 dias
Pro ¹	0.977 ± 0.03 ^b	1.489 ± 0.03 ^b	1.550 ± 0.21 ^a	1.404 ± 0.06 ^b	1.402 ± 0.07 ^a
Controle	1.020 ± 0.05 ^b	1.379 ± 0.05 ^b	1.620 ± 0.07 ^a	1.659 ± 0.11 ^a	1.501 ± 0.04 ^a
Pro ²	1.502 ± 0.06 ^a	1.689 ± 0.06 ^a	1.360 ± 0.09 ^b	1.465 ± 0.12 ^b	1.464 ± 0.06 ^a
Pre ¹	0.967 ± 0.10 ^b	1.386 ± 0.10 ^b	1.496 ± 0.17 ^{ab}	1.471 ± 0.12 ^b	1.401 ± 0.01 ^a

Letras diferentes nas colunas indicam valores (P<0.05) no teste de Duncan em nível de significância de 5%.

Pro¹ – Probiótico composto por 11 cepas de *Lactobacillus*

Pro² – Probiótico composto por *Bacillus subtilis*

Pre¹ – Probióticos composto por fermentado de *Bacillus subtilis* e MOS

Controle – Sem tratamentos

Os resultados encontrados por Jeong e Kim (2014) ao avaliar o desempenho produtivo de aves em relação ao uso de *Bacillus subtilis*, concluíram que conversão alimentar melhorou apenas a partir do período de crescimento (22 aos 35 dias) semelhante ao encontrado no presente trabalho.

Com o uso de Manonoligossacarídeos provenientes de cepas de *Saccharomyces cerevisiae*, Barbosa et al. (2011), especificamente, também na fase final do experimento observaram uma melhor conversão alimentar das aves em relação aos demais tratamentos avaliados. No estudo conduzido por Santin et al. (2001), ao avaliar a performance em frangos de corte com o uso de parede celular de levedura *Saccharomyces cerevisiae*, encontraram resultados significativos com melhoria na conversão alimentar aos 21 dias de idade, informações que podem ser correlacionadas com este trabalho, que obteve resultados significativos de

conversão alimentar com o produto constituído de Manonoligossacarídeos (Pre¹), a partir dos 21 dias de idade, concordando com Parks et al. (2001) e Hooge (2004), que a suplementação de aves com MOS pode melhorar a conversão alimentar.

O fermentado de *Bacillus subtilis* inativado associado ao MOS usado no tratamento Pre¹, é descrito pelo fabricante que foi desenvolvido por meio uma seleção das cepas bacterianas, melhoramento, fermentação e lise destas cepas. Estas cepas após a formulação do produto, mesmo mortas, têm capacidade de atuar como um imunomodulador no nível de mucosa intestinal, associado aos efeitos imunomoduladores e de inibir bactérias patogênicas, proporcionaria melhorias de desempenho (SEIFERT e WATZL 2007; KELLY et al., 1994).

Assim como já descreveu Qureshi (2002), a exposição da ave a um antígeno, resulta em aumento da taxa metabólica, diminuição do apetite e redimensionamento dos nutrientes para atender às necessidades energéticas da resposta imune prejudicando o desempenho zootécnico. Apesar de tudo, não foi encontrado diferenças significativas no tratamento Pre¹ em relação ao grupo Controle, que comprove as referências descritas.

Observa-se nos resultados, que os dois produtos Pro² e Pre¹ mostraram resultado notório referente ao desempenho zootécnico apenas na variável conversão alimentar ($P < 0.05$), a partir dos 21 dias de idade, sempre correlacionando ao grupo Controle onde, as aves foram expostas apenas ao desafio de SH. O produto Pro¹ constituído por 11 cepas de *Lactobacillus* apresentou diferenças na conversão alimentar, apenas no período de 21 a 28 dias de idade. Os benefícios dos *Lactobacillus* relacionados ao auxílio na digestão, absorção de nutrientes e na produção de vitaminas do complexo B citados por Silva e Andreatti-Filho (2000) não demonstraram melhorias de desempenho nos períodos de 7, 14 e 21 dias de idade.

Durante o experimento, obteve-se a perda de uma ave aos 6 dias de idade, conforme Back (2010), demonstrando que a *Salmonella* Heidelberg assim como a maioria das salmonelas móveis ou paratíficas não provocam sinais clínicos e lesões nas aves, tendo um baixo índice de mortalidade.

Contagem de *Salmonella* Heidelberg

Nos resultados avaliados, não foi encontrado efeito significativo ($P>0.05$) na contagem de *Salmonella* Heidelberg em UFC/g de conteúdo cecal nas aves não contaminadas, que receberam os tratamentos Pro1, Pro2 e Pre1 em relação ao grupo controle (Tabela 8).

Tabela 8 – Média da contagem de UFC/g do conteúdo cecal aos 28 dias de idade das aves não contaminadas (não inoculadas)

Grupo	Log ₁₀ UFC/g de <i>S. Heidelberg</i>
Pro ¹	1.42 ± 0.46
Controle	1.83 ± 0.61
Pro ²	1.09 ± 0.20
Pre ¹	1.03 ± 0.20

Valores não diferem estatisticamente ($P>0.05$) no teste de Duncan em nível de significância de 5%.

Pro¹ – Probiótico composto por 11 cepas de *Lactobacillus*

Pro² – Probiótico composto por *Bacillus subtilis*

Pre¹ – Prebióticos composto por fermentado de *Bacillus subtilis* e MOS

Controle – Sem tratamentos

Os estudos desenvolvidos por Carrier et al. (1998), com *Salmonella*, em pintainhos de 1 dia de idade, demonstraram que o uso de 5 pintainhos contaminados (inoculados), em boxes com 95 pintainhos não contaminados, ocasionou uma transmissão horizontal em 50% das aves não contaminadas até os 17 dias de idade. No presente trabalho, foi observado nos resultados aos 28 dias de idade, que todas as aves não contaminadas já estavam contaminadas.

Na avaliação de Chambers e Lu (2002), testando um probiótico em pintainhos de corte, com desafio de aves contaminadas sobre aves não contaminadas aos 3 dias de idade, observou-se uma redução de 1,5 UFC/g de *Salmonella* em conteúdo cecal. No atual trabalho, os pintainhos contaminados receberam a inoculação aos 2 dias de idade, e não foi observado efeito significativo ($P>0.05$) na avaliação das aves não contaminadas nos três tratamentos fornecidos (Pro¹, Pro², Pre¹) em comparação com o grupo controle.

Em outra citação, Carrier et al. (1998), usando um produto de exclusão competitiva (probióticos de flora indefinida) frente ao desafio de *Salmonella* em

pintainhos, observou que os resultados mais eficazes foi quando o probiótico foi fornecido para as aves não contaminadas, simultaneamente ao desafio das aves a serem contaminadas. Porém, quando o produto foi fornecido 24 horas após o desafio, não se observou eficiência significativa. No presente trabalho os resultados foram semelhantes, os dois probióticos (Pro¹ e Pro²) e o prebiótico (Pre¹) foram fornecidos no recebimento das aves, no primeiro dia de idade, e o desafio ocorreu 24 horas após, não apresentando resultados significativos na redução de *Salmonella* em relação ao grupo controle.

Levando em consideração o intervalo de tempo da inoculação e o tratamento, Higgins et al. (2008) em sua avaliação com um probiótico comercial constituído por 11 cepas de *Lactobacillus* em pintainhos de um dia de idade, concluíram que o fornecimento do produto 1 hora após o desafio de *Salmonella* Enteritidis, foi eficiente para reduzir significativamente a recuperação da bactéria nas aves.

E seu trabalho com *Salmonella* Enteritidis Wolfenden et al. (2007), com o mesmo probiótico com 11 cepas de *Lactobacillus* fornecido à pintainhos de um dia de vida em duas formas de aplicação, Spray e gavagem oral. Chegou a conclusão que as aves que receberam o probiótico simultaneamente ao desafio tiveram uma diminuição na recuperação de *Salmonella* em 15% em ambos os tratamentos, enquanto o grupo controle, sem tratamentos, obteve 85% de recuperação. Esta constatação demonstra a eficiência do tratamento simultâneo ao desafio, mesmo em formas de aplicação diferentes. No presente experimento, o tratamento (Pro¹) foi fornecido usando duas formas de aplicação no mesmo grupo de aves, no primeiro dia de idade com fornecimento spray e no 17 e 18 dias, com aplicação através de água de bebida, porém, os resultados aos 28 dias de idade das aves não contaminadas, não tiveram diferenças significativas ($P > 0.05$) em relação ao grupo controle.

Resultados diferentes foram encontrados por Matté et al. (2014), avaliando o probiótico com 11 cepas de *Lactobacillus*. Neste experimento todas as aves foram desafiadas no terceiro dia de idade, com uma cepa de *Salmonella* Heidelberg (SH) isolada de campo. O produto demonstrou eficácia quando administrado com uma dose no primeiro dia de idade, antes do desafio, com mais duas doses aos 9 e 10

dias de idade, resultando em uma diminuição de 85% no número de SH no conteúdo cecal das aves aos 14 dias de idade.

Correlacionando o presente trabalho com o anterior citado, a idade de abate e a forma de transmissão horizontal usando aves contaminadas e aves não contaminadas pode ter sido o motivo das diferenças nos resultados. Além disso, a excreção fecal de *Salmonella* Heidelberg pode ser influenciada por diversos fatores, entre eles, imunidade individual de cada ave e a capacidade de adesão das bactérias ao epitélio intestinal, o que pode interferir no número de bactérias encontradas nas técnicas laboratoriais em alguns casos (GAST et al., 2005).

No experimento conduzido por Menconi et al. (2011), os resultados também foram diferentes, onde, o tratamento com probiótico a base de *Lactobacillus* spp. na água de bebida, reduziu significativamente a presença de SH em tonsilas e conteúdo cecal em 24 e 72 horas após o desafio em frangos de corte.

O tratamento (Pro²) com *Bacillus subtilis*, mesmo com fornecimento na ração em todo período experimental não apresentou diferenças significativas em relação ao grupo controle. Resultados diferentes foram encontrados por Bamp et al. (2009), avaliando o *Bacillus subtilis* em ração em frangos de corte desafiados com *Salmonella* Heidelberg na cama de maravalha das aves, onde obteve uma redução de 7% no número de UFC em relação ao controle positivo até os 14 dias de vida das aves.

No estudo de Knap et al. (2011) o avaliando o *Bacillus subtilis* em 30 aves controles (não inoculadas) frente ao desafio de *Salmonella* Heidelberg de 30 aves contaminadas, concluiu que o uso do probiótico na ração reduziu significativamente a SH de suabes em 58%, nas coletas realizadas nas gaiolas durante o alojamento, aos 7 e aos 42 dias de idade, Jeong e Kim (2014) também testando *Bacillus subtilis* com fornecimento em ração citam que a capacidade dessas bactérias de modular a microbiota intestinal das aves, proporcionam uma diminuição da contagem de *Salmonella* no intestino grosso, íleo, ceco e fezes. No tratamento (Pro²) deste trabalho, ocorreu uma diminuição na contagem de *Salmonella* Heidelberg em relação ao grupo controle, porém não é possível afirmar que o produto foi capaz de modular a microbiota intestinal com eficácia, pois não ocorreu diferenças significativas ($P>0.05$).

O tratamento (Pre¹), com o uso do prebiótico constituído por MOS com associação de fermentado de *Bacillus subtilis*, também foi apresentado uma redução na contagem de *Salmonella* Heidelberg, mas não foi significativa ($P>0.05$) em relação ao grupo controle.

Resultados similares foram encontrados por Spring et al. (2000), demonstrando que o uso Mananoligossacarídeos não apresentou uma redução significativa nas concentrações de *Salmonella* no conteúdo cecal de frangos de corte, embora, os resultados encontrados foram numericamente inferiores em comparação com os lotes não tratados.

Considerando o intervalo de tempo entre o tratamento e o desafio Lourenço et al. (2015) ao avaliar a suplementação de MOS em frangos desafiados com *Salmonella* Enteritidis concluíram que o uso do produto com intervalos de 2 e 7 dias, não expressa diferenças significativas na contagem das bactérias em suabes de cloaca.

Atualmente os Mananoligossacarídeos (MOS) já se apresentam associados a outros componentes para o controle de *Salmonella* spp. através de tratamentos em ração, como já descrito por Bassan et al. (2008), que avaliaram os MOS associados a dois ácidos orgânicos, e o produto contribuiu para o controle da infecção por *Salmonella* Enteritidis.

CONCLUSÕES

Os tratamentos com os probióticos e o prebiótico não foram eficazes contra o desafio Horizontal de *Salmonella* Heidelberg na contagem de UFC/g de conteúdo cecal, porém, demonstraram melhores resultados na conversão alimentar em diferentes períodos de desenvolvimento dos frangos de corte.

REFERÊNCIAS

BACK, A. **Manual de Doenças de Aves**. 2^o edição. Cascavel, PR. 2010.

BAMP, R.A. et al. Avaliação da eficiência do *Bacillus subtilis* para o controle de *Salmonella* Heidelberg em frangos de corte. **ANAIS DO PRÊMIO LAMAS**, 2009.

BARBOSA, N. A. A. et al. Mananoligossacarídeos em dietas para frangos de corte. **Ciência Rural**, v. 41, n.12, p. 2171-2176, 2011.

BASSAN, J. D. L. et al. Controle da infecção por *Salmonella* Enteritidis em frangos de corte com ácidos orgânicos e mananoligossacarídeo. **Ciência Rural**, v.38, n.7, p.1961-1965, 2008.

BERSOT, L.S. *Salmonella* no Brasil: sua importância no abate de aves. In: Anais do Simpósio de Sanidade Avícola da UFSM, 5, Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, **Anais...** 2006.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. **Programa Nacional de Monitoramento da Prevalência e da Resistência Bacteriana em Frango – PREBAF**. 1ª ed. rev., Brasília, 2012. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/Prebaf>. Acesso em: 01 nov. 2014.

CHAMBERS, J. R.; LU, X. Probiotics and Maternal Vaccination for *Salmonella* Control in Broiler Chickens. **Journal Applied Poultry Research**. 11:320–327, 2002.

CORRIER, D. E.; et al. Effect of simultaneous or delayed competitive exclusion treatment on the spread of salmonella in chicks. **Journal Applied Poultry Research**. 7:132-137, 1998.

GAST, R.; GUARD-BOULDIN J.; HOLT, P.S. The relationship between the duration of fecalshedding and the production of contaminated eggs by laying hens infected with strain *Salmonella* Enteritidis and *Salmonella* Heidelberg. **Avian Diseases**, v.49, p382-386. 2005.

HIGGINS, S. E. et al. Evaluation of a *Lactobacillus*-based probiotic culture for the reduction of *Salmonella* Enteritidis in neonatal broiler chicks. **Poultry Science**, 87:27–31, 2008.

HOOGE, D.M. Meta-analysis of broiler chicken pen trials evaluating dietary mannanoligosaccharides, 1993-2003. **International Journal of Poultry Science**, v.3, p.163-174, 2004.

ITO, N.M.K., MIYAJI, C.L., OKABAYASHI, S.M. **Saúde intestinal em frangos de corte**. Produção e Saúde Animal Ltda. Circular técnica, Aviagen. 2007.

JEONG, J.S., KIM, I.H. Effect of *Bacillus subtilis* C-3102 spores as a probiotic feed supplement on growth performance, noxious gas emission and intestinal microflora in broilers. **Poultry Science**, 93:3097–3103, 2014. Disponível em: <http://ps.oxfordjournals.org/>. Acesso em: 10 dez. 2014.

KELLY, D.; BEGBIE R.; KING P. T. Nutritional influences on interactions between bacteria and the small intestinal mucosa. **Nutrition Research Reviews**. 7:233–257.1994.

KNAP, I. et al. *Bacillus subtilis* (DSM17299) significantly reduces *Salmonella* in broilers. **Poultry Science**, 90 :1690–1694, 2011.

LOURENÇO, M.C. et al. Effect of a mannanoligosaccharide-supplemented diet on intestinal mucosa T lymphocyte populations in chickens challenged with *Salmonella* Enteritidis. **Journal Applied Poultry Research**. 24:15–22, 2015.

MATTÉ. F.; DALMAGRO. M.; GAZONI. F. L.; PILTZ. S. Eficácia de um probiótico composto por 11 cepas de *Lactobacillus* no controle da *Salmonella* Heidelberg em frangos de corte. **Anais Conferência Apinco FACTA**. Atibaia, SP. 2014.

MENCONI, A.; et al. Effect of lactic acid bacteria probiotic culture for the treatment of *Salmonella enterica* serovar Heidelberg in neonatal broiler chickens and turkey poults. **Poultry Science**, n. 90, p. 561-565, 2011.

PARKS, C. W. et al. The effect of mannan oligosaccharides, bambarmycins, and virginiamycin on performance of large white male market turkeys. **Poultry Science**, v.80, p.718–723, 2001.

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

RAGHIANTE, F. et al. **Tempo de penetração da Salmonella Heidelberg através da casca de ovos comerciais brancos e vermelhos**. Revista Brasileira de Ciência Avícola. V.12, n.4, p.215-219. 2010.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. R: A Language and Environment for Statistical Computing. Vienna, Austria: **The R Foundation for Statistical Computing**. Versão 2.15.0. 2012. Disponível em: <http://www.R-project.org>. Acesso em: 24 abr. 2015.

ROSSI, A. A., M. T. S. PADILHA, I. I. SANTOS, AND J. C. F. PADILHA. **Uso de Probiótico na prevenção de salmoneloses em Frangos de Corte**. Ciência Agrotécnica, Lavras. 31(4): 1207-1211. 2007.

ROSTAGNO, H.S, et al. **Tabelas brasileiras para aves e suínos. Composição de alimentos e exigências nutricionais**. UFV: Viçosa. 2005.

SAKOMURA, N.K.; ROSTAGNO, H.S. **Métodos de pesquisa em nutrição de monogástricos**. Jaboticabal: Funep, 283p, 2007.

SANTIN, E. et al. Performance and intestinal mucosa development of broiler chickens fed diets containing *Saccharomyces cerevisiae* cell wall. **Journal of Applied Poultry Research**,10: 236-244, 2001.

SEIFERT, S.; WATZL, B. Inulin and oligofructose: Review of experimental data on immune modulation. **Journal Nutrition**. 137:2563S–2567S. 2007.

SHIVARAMAIAH, S., et al. Evaluation of *Bacillus* species as potential candidates for direct-fed microbials in commercial poultry. **Poultry Science**, 90(7):1574-80, 2011.

SILVA, E. N. **Salmoneloses em galinhas**. In **Curso de Sanidade**. Campinas. Fundação Apinco de Ciência e Tecnologia, 1994.

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

SILVA, N. et al. Manual de Métodos de Análises Microbiológica de Alimentos e Água, Capítulo 3 - **Técnicas básicas de contagem de microrganismos em placas**. 4^o edição. 2010.

SPRING, P. et al. The Effects of Dietary Mannanligosaccharides on Cecal Parameters and the Concentrations of Enteric Bacteria in the Ceca of Salmonella-Challenged Broiler Chicks. **Poultry Science** 79:205–211, 2000.

TEIXEIRA. A. S. et al. Probióticos em rações para frangos de corte utilizando farinha de carne e ossos com diferentes níveis de contaminação bacteriana. **Ciência e Agrotecnologia**, 27(4):927-933, 2003.

WOLFENDEN A.D.et al. Evaluation of spray application of a *Lactobacillus*-based probiotic on *Salmonella* Enteritidis colonization in broiler chickens. **Journal of Poultry Science**, 6 (7): 493-496, 2007.